

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
Запорізький державний медичний університет

О.М. Разнатовська

ФТИЗИАТРІЯ

Навчальний посібник для самостійної позааудиторної роботи студентів вищих медичних закладів освіти зі спеціальності «Технології медичної діагностики», спеціалізації «Лабораторна діагностика» («Бакалавр») при підготовці до практичних занять

Запоріжжя
2016

УДК:616-002.5(076)

ББК 55.4я73

P17

Рекомендовано Міністерством охорони здоров'я України як навчальний посібник для самостійної позааудиторної роботи студентів вищих медичних закладів освіти зі спеціальності «Технології медичної діагностики», спеціалізації «Лабораторна діагностика» («Бакалавр») при підготовці до практичних занять (лист № 04 від 04.01.2017).

Рецензенти:

Тодоріко Л.Д., доктор медичних наук, професор, завідувачка кафедри фтизіатрії та пульмонології Вищого навчального державного закладу «Буковинський державний медичний університет».

Шевченко О.С., доктор медичних наук, професор, завідувачка кафедри фтизіатрії та пульмонології Харківського Національного медичного університету.

Гріцова Н.А., кандидат медичних наук, доцент кафедри фтизіатрії та пульмонології Національної медичної академії післядипломної освіти ім. П.Л. Шупика.

Кулик Л.Г., кандидат медичних наук, доцент, в.о. завідувача кафедри фтизіатрії з курсом клінічної імунології Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова.

Автор:

Разнатовська О.М.

Разнатовська О.М.

P17

Фтизіатрія : навчальний посібник для самостійної позааудиторної роботи студентів вищих навчальних медичних закладів освіти IV рівня акредитації зі спеціальності «6.120102 – Лабораторна діагностика» підготовки «Бакалавр» при підготовці до практичних занять / О.М. Разнатовська. – Запоріжжя [ЗДМУ], 2016. – 149 с.

Навчальний посібник підготовлено для самостійної позааудиторної роботи студентів вищих медичних закладів освіти зі спеціальності «Технології медичної діагностики», спеціалізації «Лабораторна діагностика» («Бакалавр») при підготовці до практичних занять. У навчальному посібнику викладено матеріал для позааудиторної роботи, який повністю відповідає вимогам Робочої програми з «Фтизіатрії» зі спеціальності «6.120102 – Лабораторна діагностика» підготовки «Бакалавр».

УДК: 616-002.5(076)

ББК 55.4я73

ЗМІСТ

	С.
Перелік умовних скорочень	4
Вступ	5
Тема 1 Молекулярно-генетичні методи діагностики і їх використання у фтизіатрії	7
Тема 2 Бактеріологічні методи дослідження у фтизіатрії	31
Порівняння методів дослідження на туберкульоз	62
Тема 3 Інфекційний контроль в лабораторіях протитуберкульозної служби	64
Тема 4 Клінічні форми туберкульозу	94
Основні законодавчі документи щодо роботи бактеріологічної лабораторії протитуберкульозної служби України	140
Список рекомендованої літератури	143

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

ВООЗ	Всесвітня організація охорони здоров'я
ХРТБ	Хіміорезистентний туберкульоз
МБТ	Мікобактерія туберкульозу
ПЛР	Полімеразно-ланцюгова реакція
ДНК	Дезоксирибонуклеїнова кислота
МГ	Молекулярно-генетичні методи
РНК	Рибонуклеїнова кислота
LPA	Лінійний зонд-аналіз
КСБ	Кислотостійка бацила
КУО	колоній-утворююча одиниця
ТМЧ	Тест медикаментозної чутливосі
ІК	Інфекційний контроль
ВІЛ	Вірус імунодефіциту людини
РББ	Рівні біологічної безпеки
ШББ	Шафи біологічної безпеки
HEPA-фільтр	High Efficiency Particulate Air – високоефективний фільтр тонкого очищення повітря

ВСТУП

Туберкульоз на сьогодні у всьому світі є однією з головних загроз для здоров'я людства серед інфекційних хвороб, і є другою за значимістю причиною смерті від них [7, 23, 25, 48]. З часу проголошення в Україні епідемії туберкульозу у 1995 р, яка є одним з руйнівних для людини природних явищ, всупереч всім старанням її подолати, кількість хворих продовжує збільшуватися [15, 22]. Україна віднесена до групи країн з високим рівнем захворюваності на туберкульоз і посідає друге місце після Російської Федерації серед країн Центральної та Східної Європи за темпами зростання хіміорезистентного туберкульозу (ХРТБ) і четверте місце в світі за його поширеністю серед хворих з новими випадками захворювання [21, 29].

Одними з причин високого рівня захворюваності туберкульозу, як чутливими формами, так і хіміорезистентними [7, 14, 23], є несвоєчасне та пізнє виявлення хворих на активний специфічний процес, що призводить до пізнього початку лікування. Своєчасна ідентифікація штамів мікобактерій туберкульозу (МБТ), їх резистентності до протитуберкульозних препаратів і негайний початок лікування даної категорії хворих попереджають поширення резистентних МБТ, подальше наростання ступеня резистентності та прогресування туберкульозного процесу. Відсутність такої інформації або її пізнє отримання значно знижують ефективність лікування хворих на ХРТБ.

Основним методом діагностики туберкульозу є дослідження мокротиння на виявлення МБТ [9]. Лабораторна діагностика забезпечує виконання головного завдання діагностики і лікування туберкульозу – виявлення у хворого МБТ.

Найпростішим і не витратним методом є бактеріоскопія мокротиння. Але недоліками цього методу є наступне: неможливо диференціювати *M. tuberculosis complex* від нетуберкульозних мікобактерій; при незначній кількості МБТ в мокроті метод не ефективний (необхідно вміст у 1 мл мокротиння, як мінімум, 5000-10000 МБТ) [10]. Культивування МБТ

проводиться на твердому (яєчне середовища Левенштейн-Йенсен) і рідкому (метод ВАСТЕС) середовищах, агарі (Middlebrook 7H10 і 7H10). Для визначення тесту медикаментозної чутливості МБТ до протитуберкульозних препаратів використовуються тверді і рідкі середовища, при яких швидкість росту культури і виявлення медикаментозної чутливості різна (1-3 місяці і 14-21 діб, відповідно). При цьому метод ВАСТЕС дозволяє ідентифікувати *M. tuberculosis complex*. Чутливість культуральних методів (число МБТ) – як мінімум 100 в 1 мл.

Тому, на сьогодні актуальними є молекулярно-генетичні методи діагностики туберкульозу, що дозволяє не тільки рано і своєчасно діагностувати активний специфічний процес, а й призначити необхідне своєчасне і адекватне лікування.

ТЕМА 1

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧНІ МЕТОДИ ДІАГНОСТИКИ І ЇХ ВИКОРИСТАННЯ У ФТИЗИАТРІЇ



Конкретні цілі:

- Володіти загальними підходами до діагностики туберкульозу та хіміорезистентного туберкульозу з використанням сучасних генотипових методів.
- Володіти молекулярно-генотиповими методами діагностики туберкульозу, які використовуються в бактеріологічних лабораторіях протитуберкульозних закладів України.
- Оволодіти організацією та здійсненням комплексного дослідження матеріалу із застосуванням системи GeneXpert MTB/RIF.
- Оволодіти організацією та здійсненням комплексного дослідження матеріалу з використанням ПЛР з детекцією методом гібридизації на стріпах з типоспецифічними зондами (набори HainLifescience).
- Формулювати відповіді про результат дослідження при використанні молекулярно-генетичних систем.

Молекулярно-генетичні (МГ) методи діагностики засновані на маніпулюванні з геномних матеріалами збудника з метою виявлення специфічного генетичного матеріалу [25]:

- ділянок дезоксирибонуклеїнової кислоти (ДНК) з нуклеотидної послідовністю, специфічною стосовно окремого виду або штамів збудника;
- для аналізу специфічних послідовностей ДНК в генах, що визначають чутливість збудника до певних лікарських речовин;
- для аналізу функціональної активності певних генів збудника.

В основі МГ методів діагностики лежить метод ПЛР, який заснований на виявленні в геномі збудника видоспецифічних послідовностей. Метод ПЛР має високу специфічність і чутливість з роздільною здатністю менше 10 МБТ в 1 мл діагностичного матеріалу. А позитивний результат однозначно вказує на приналежність МБТ до *M. tuberculosis complex*.

Принцип методу ПЛР полягає в ампліфікації (багаторазовому збільшенні) ділянок специфічної послідовності ДНК мікобактерій в пробірочному мікрообсязі при циклічному повторенні трьох стадій реакції, кожна з яких знаходиться в умовах різного температурного режиму (рис.1):

1а стадія – зміна структури ДНК (денатурація) при нагріванні з розмежуванням її ланцюгів;

2-а стадія – зв'язування з денатурованою ДНК синтетичних послідовностей нуклеотидів (праймерів або «затравочних» олігонуклеотидів), комплементарних до кінцевих ділянок фрагмента ДНК, специфічного для МБТ;

3-тя стадія – синтез або добудова ланцюга обмеженого по флангам фрагмента ДНК за допомогою термостабільної ДНК-полімерази.

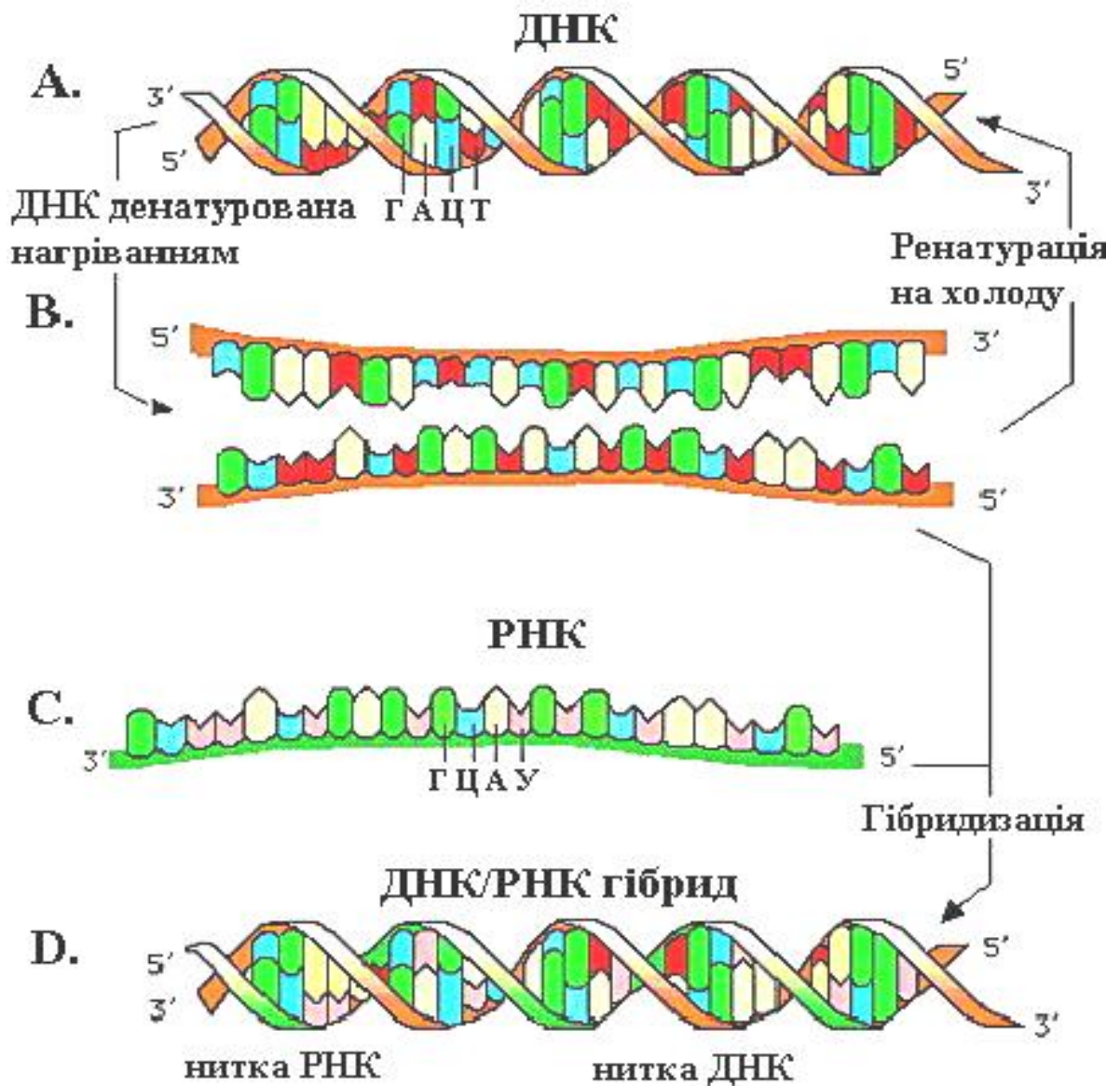


Рис. 1. Стадії полімеразно-ланцюгової реакції..

Різновиди ПЛР [6, 12, 33, 40, 42, 43, 47]:

1. **Вкладена ПЛР (Nested PCR)** застосовується для зменшення числа побічних продуктів реакції. Для цього методу використовують дві пари праймерів з проведенням двох послідовних реакцій. При цьому друга пара праймерів ампліфікує ділянку ДНК всередині продукту першої реакції.

2. **Інвертована ПЛР або зворотна ПЛР (Inverse PCR)** використовується за умови, якщо відома лише невелика ділянка всередині

потрібної послідовності. Для здійснення цього методу проводять ряд розрізань ДНК рестриктазами з подальшим з'єднанням фрагментів (лігування), і в результаті відомі фрагменти виявляються на обох кінцях невідомого ділянки.

3. **ПЛР зі зворотною транскрипцією (Reverse Transcription PCR, RT-PCR)** використовується для ампліфікації, виділення або ідентифікації відомої послідовності з бібліотеки рибонуклеїнової кислоти (РНК). Перед звичайною ПЛР проводять на матриці мРНК синтез одноланцюгової молекули ДНК за допомогою ревертази і отримують одноланцюгову кДНК, яка використовується в якості матриці для ПЛР. За допомогою цього методу визначають де і коли експресуються дані гени.

4. **Асиметрична ПЛР (Asymmetric PCR)** проводиться для ампліфікації переважно однієї з ланцюгів вихідної ДНК. Використовується в деяких методиках секвенування і гібридизаційного аналізу. Особливістю методу є те, що один з праймерів береться у великому надлишку. Модифікацій цього методу є Linear-After-The-Exponential-PCR (LATE-PCR), в якому використовуються праймери з різною концентрацією. ПЛР проводять при високій температурі відпалу, тим самим вдається підтримати ефективність реакції на протязі всіх циклів. Використовується в деяких методиках секвенування ДНК і гібридизаційного аналізу.

5. **Кількісна ПЛР або ПЛР в реальному часі (Quantitative PCR, Q-PCR)**. Використовується для безпосереднього спостереження за вимірюванням кількості конкретного ПЛР продукту в кожному циклі реакції. У цьому методі використовують флуоресцентно-мічені праймери або ДНК-зонди. Використовується флуоресцентний інтеркаліруючий барвник Sybr Green I, який забезпечує простий і економічний варіант для детекції та кількісного визначення ПЛР-продуктів [42]. У фтизіатрії цей метод використовується для виявлення *M. tuberculosis complex* в клінічному матеріалі. За даними виробника, специфічність 100 % [1, 12].

6. **Ступенева ПЛР (Touchdown PCR)**. За допомогою цього методу зменшується вплив неспецифічного зв'язування праймерів. При цьому праймер частково гібридується з комплементарним ланцюгом. Часткова гібридизація праймера на геномній ДНК призводить до неспецифічної ампліфікації [40, 43].

7. **Метод молекулярних колоній або ПЛР в гелі (PCR Colony)**. Акриламідний гель полімеризується з усіма компонентами ПЛР на поверхні і проводять ПЛР. У точках, що містять аналізовану ДНК, відбувається ампліфікація з утворенням молекулярних колоній.

8. **ПЛР зі швидкою ампліфікацією кінців кДНК (Rapid amplification of cDNA ends, RACE-PCR)**.

9. **ПЛР довгих фрагментів (Long-range PCR)**. Модифікація ПЛР для ампліфікації протяжних ділянок ДНК.

10. **ПЛР з випадковою ампліфікацією поліморфної ДНК (Random Amplification of Polymorphic DNA (ДНК відбитків) [RAPD])**. Використовується для розрізнення близьких за генетичною послідовністю організмів. У цьому методі зазвичай використовують один праймер невеликого розміру, який буде частково комплементарний для випадкових ділянок ДНК досліджуваних організмів. З огляду на технологію DNA, важливість її полягає у визначенні причин реактивації специфічного процесу і створенні баз даних генотипів МБТ.

11. **Груп-специфічна ПЛР (group-specific PCR)**. Це ПЛР для родинних послідовностей всередині одного або між різними видами, використовуючи консервативні праймери до цих послідовностей.

12. **Унікальна ПЛР (unique PCR)** – протилежна методу груп-специфічної ПЛР. Суть методу полягає у підборі праймерів для ампліфікації тільки конкретної послідовності серед споріднених послідовностей.

13. **ПЛР з використанням гарячого старту (Hot-start PCR)** – це модифікація ПЛР з використанням ДНК-полімерази. При цьому, полімеразна

активність блокується в момент постановки реакції до першої денатурації в ПЛР.

14. **Віртуальна ПЛР (*in silico PCR*, цифрова ПЛР, електронна ПЛР, *e-ПЛР*)**. Це математичний метод комп'ютерного аналізу теоретичної ПЛР з використанням списку послідовностей праймерів (або ДНК-зондів) для передбачення потенційної ампліфікації ДНК досліджуваного генома, хромосоми та ін.

Метод ПЛР передбачає використання специфічних зондів (праймерів) і отримання дискретних ДНК-продуктів ампліфікації окремих ділянок геномної ДНК [36, 38, 39, 44].

Різновиди специфічних зондів:

- ***SSR (Simple Sequence Repeats)*** – фланкуючі праймери. ПЛР з фланкуючими праймерами дозволяє розглядати поліморфізм тільки одного локусу.

- ***RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA)***. У RAPD можна використовувати як одиночний праймер, так і кілька RAPD праймерів. Метод універсальний для досліджень різних видів, при використанні одних і тих же праймерів.

- ***ISSR (Inter Simple Sequence Repeats)*** – це спеціалізований варіант RAPD методу, в якому праймер складається з мікросателітної послідовності. У методі використовується один або кілька праймерів. Продукти ISSR ампліфікації містять на флангах інвертовану мікросателітну послідовність праймера.

- ***RFLP (Restriction fragment length polymorphism, RFLP)*** або ***поліморфізм довжин рестрикційних фрагментів (ПДРФ)***. Це метод з використанням блот-гібридизації і включає в себе: виділення ДНК, отримання фрагментів рестрикції, їх електрофоретичний поділ, перенесення на фільтри з подальшою гібридизацією специфічних ДНК-зондів з отриманими фрагментами ДНК. ПДРФ ефективний при картуванні генома, маркуванні генів багатьох біологічних і економічно важливих ознак. ПДРФ-

аналіз з зондами, в результаті високої варіабельності ділянок ДНК, дозволяє отримувати мультилокусні спектри з високою роздільною здатністю на популяційному рівні. Завдяки дуже високому рівню поліморфізму цей метод в даний час є пріоритетним для аналізу внутрішньої міжпопуляційної мінливості та визначення генетичних відстаней між групами організмів.

- **AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphism*)** – це комбінація ПДРФ і ПЛР методів. Метод AFLP складається з декількох етапів: геномна ДНК одночасно рестрикується двома рестриктазами (EcoRI і MseI), потім рестрикована геномна ДНК лігується з адаптором. Після цього проводиться дві послідовні ПЛР.

- **SSAP (*Sequence Specific Amplification Polymorphism*)** – це модифікація методу AFLP, для виявлення поліморфізму.

- **IRAP (*Inter Retrotransposone Amplified Polymorphism*)** – це ПЛР між праймерами, комплементарними послідовностями двох поруч розташованих LTR ретротранспозону. Можна комбінувати праймери з LTR з іншими праймерами із ДНК, які повторюються.

- **REMAP (*Retrotransposone Microsatellite Amplified Polymorphism*)** - ПЛР між праймером до фрагменту LTR ретротранспозону і праймером з поруч розташованого простого мікросателітного повтору (ISSR праймер).

- **RBIP (*Retrotransposon-Based Insertion Polymorphisms*)**. Метод, заснований на використанні праймерів до послідовностей ретротранспозонів і проявляє кодомінантність алельних варіантів. Принцип методу заснований на мультилокусній ПЛР, в якій використовуються пара праймерів, що фланкують ділянку ДНК до ретротранспозиції і праймер до LTR ретротранспозону, який вбудований в дану ділянку між першими двома праймерами. Цей метод виявляє поліморфізм тільки для даного поліморфного локусу.

- **IPBS (*inter PBS amplification*)**. Метод заснований на використанні праймерів до PBS (Primer Binding Site, ділянку зв'язування тРНК). Метод використовується для виявлення поліморфізму між зразками.

- ***VNTR (Variable Number Tandem Repeat)***. Метод визначення варіабельного числа точних тандемних повторів в ДНК МБТ. Тандемні повтори широко поширені в різних геномах і високополіморфні. Метод заснований тільки на використанні ПЛР і не вимагає додаткових маніпуляцій. За допомогою VNTR досягається велика ступінь дискримінації штамів, ніж за допомогою методу ПДРФ [2, 18, 20]. В даний час найбільш швидким і простим методом генотипування МБТ є MIRU-VNTR (Mycobacterial Interspersed Repetitive Units – мікобактеріальні розсіяні елементи, що повторюються).

- ***SNP (single nucleotide polymorphisms)*** або ***однонуклеотидний поліморфізм***. Метод використовується для розрізнення послідовності ДНК розміром в один нуклеотид (А, Т, G або С) в геномі (або в іншій порівнювальній послідовності) у представників одного виду або між гомологічними ділянками гомологічних хромосом індивіду [36, 44]. SNP-типсування дозволяє більш точно визначати сімейство штамів і оцінити кількісний склад популяції штамів МБТ [5].

МГ методи діагностики дозволяють вивчити види і генотипи МБТ, медикаментозну стійкість МБТ до протитуберкульозних препаратів.

Вивчення генотипів МБТ дозволяють досліджувати:

- шлях передачі туберкульозу,
- визначити повторне інфікування мікобактеріями;
- виявити фактори ризику специфічного захворювання, що дозволяє своєчасно дослідити контакти і провести хіміопрофілактику.

Особливістю геному *M. tuberculosis complex* є велике число повторюваних послідовностей ДНК [34]. Послідовність геному *M. tuberculosis* штаму H37Rv була повністю розшифрована в Сенгерівському інституті в 1998 році (Cole et al., 1998).

У хромосомі *M. tuberculosis* H37Rv (рис. 2) налічують до 56 копій IS-елементів (insertion sequences – вставлена послідовність), які забезпечують ДНК-поліморфізм МБТ. У складі хромосоми різних штамів МБТ присутній

від 5 до 20 копій IS6110. Поряд з IS-елементами геном містить кілька типів коротких повторів нуклеотидів і прямі повтори DR (Direct Repeat), що знаходяться в DR-області і розділені варіабельними послідовностями (спейсерами). Відмінності в кількості копій і локалізації на хромосомі цих генетичних елементів використовують для диференціації штамів МБТ. У геномі H37Rv знайдені два профага -phiRv1 і phiRv2. Визначено ділянки геному (mutT, ogt-genes), що відповідають за збільшення частоти мутацій і адаптацію МБТ.

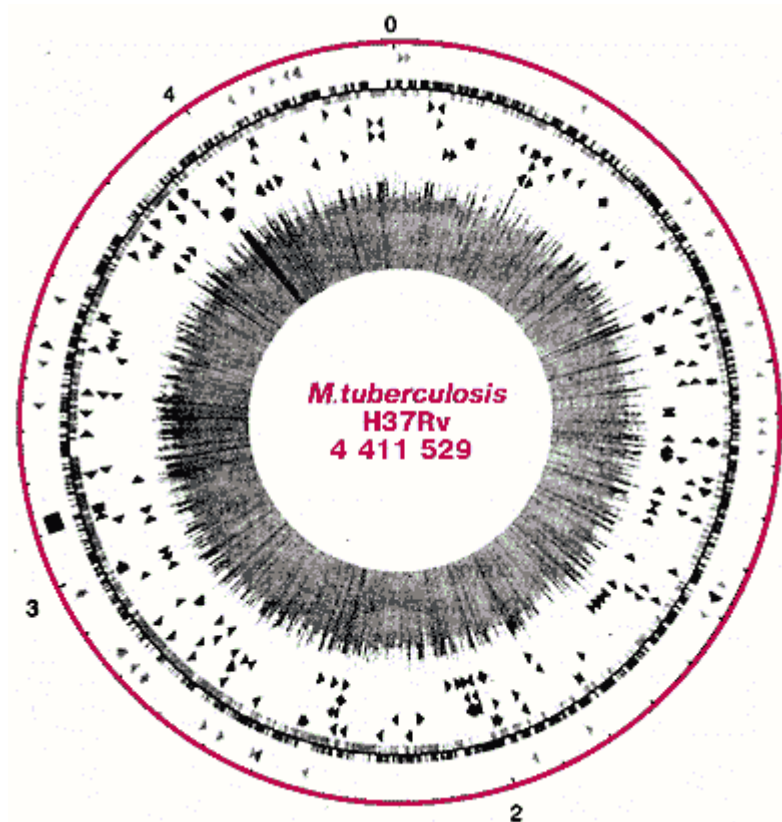


Рис. 2. Кругова карта геному *M. tuberculosis* штаму H37Rv. У напрямку зсередини назовні: 1) гістограма G + C складу; 2) перше, друге і третє кільця відображають положення генів сімейств PPE, PE і PE-PGRS, відповідно; 3) четверте кільце показує повторювані ДНК (IS-елементи, сімейство білків 13E12REP, профаг); 4) п'яте кільце показує кодуючі ділянки на плюс-ланцюги і на мінус-ланцюги; 5) шосте кільце відображає положення генів PNH і регіон DR. Зовнішнє кільце відображає шкалу в тисяч пар основ (т.п.о.) (Cole et al., 1998).

Ключові особливості організації генома однакові для всіх штамів *M. tuberculosis*. Геноми представлені кільцевою молекулою ДНК протяжністю близько 4400 тисяч пар основ (т.п.о.) і характеризуються високим вмістом G + C пар (~ 65.5%). При цьому існує кілька регіонів, що відрізняються за G + C складом. До ділянок з високим G + C складом відносяться великі генні сімейства PE і PPE, названі відповідно з N-термінальними мотивами ProGlu (PE), або ProProGlu (PPE), і що складаються з 100 і 67 членів в геномі штаму H37Rv, відповідно. Частина представників сімейства PE має домен з високим вмістом гліцину і відповідно G + C пар (PGRS, polymorphic G + C-rich sequence). До ділянок з низьким G + C складом (менше 50 %) відносяться деякі гени, що кодують трансмембранні білки. Це викликано тим, що гідрофобні амінокислоти, що входять до складу трансмембранних доменів, кодуються кодонами з низьким вмістом гуаніну і цитозину.

Найбільш поширеними **родами штамів МТБ** в світі є *Beijing* та *LAM (Latin American Mediterranean)* [2, 45, 49]. Але, співвідношення окремих генотипів в популяціях МБТ може істотно відрізнятися в різних регіонах світу, що слід враховувати при розробці стратегій генотипування мікроорганізму [41].

Воронкова О.В. з співавт. (2011) [5] встановили що серед генетично неоднорідних штамів МБТ, що циркулюють на території Томської області Російської Федерації (РФ), що викликають гостропрогресуючий поширений деструктивний туберкульоз легень, у 19 % виявляють множинну лікарську стійкість. Штами сімейства Beijing (пекінська група) складають 27 % від загальної популяції збудника, мають високий показник кластеризації (74 %), рівень їх множинної лікарської стійкості в 3 рази перевищує такий у «непекінських» штамів, для яких частка кластеризації штамів становить 11%.

Татьков С.И., Воронкова О.В. з співавт. (2008) вказують, що геномна ДНК *M. tuberculosis* генотипу Beijing містить велику кількість (від 15 до 20) інсерційних елементів IS6110. При споліготипуванні такі *M. tuberculosis* (рис. 3) характеризуються відсутністю спейсерів з 1-го по 34-й і наявністю 9-ти

останніх спейсерів (з 35-го по 43-й). Встановили, що причини широкого поширення і домінування генотипу Beijing – це підвищена здатність *M. tuberculosis* до накопичення мутацій, що обумовлюють розвиток лікарської стійкості, високу вірулентність і здатність до посиленої трансмісії

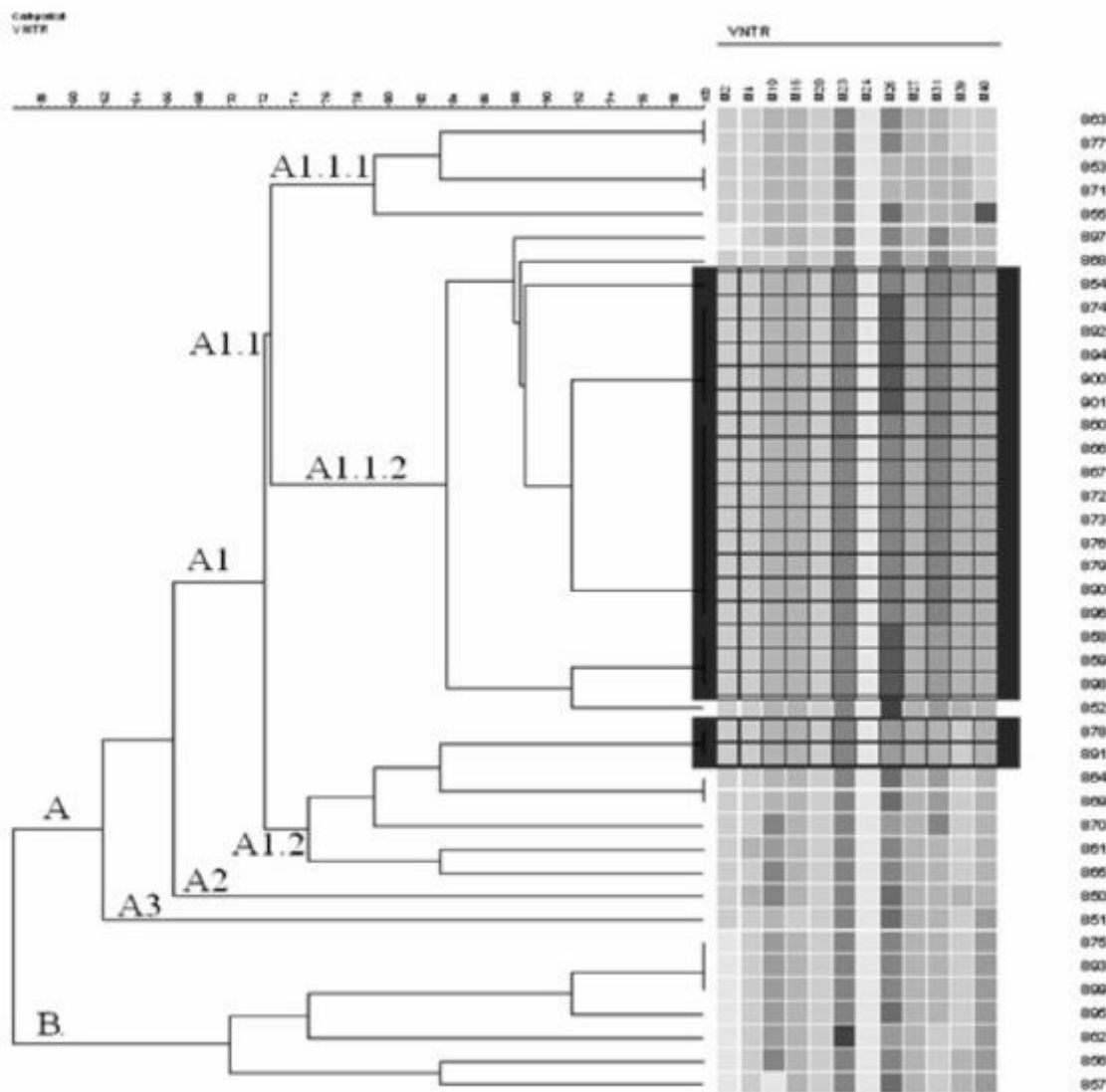


Рис. 3. Дендрограма кластеризації *M. tuberculosis* (за результатами MIRU-VNTR-типуювання 42 клінічних ізолятів). Штами сімейства Beijing виділені темним кольором (С.И. Татьков'с соавт., 2008)

За даними проведених молекулярно-епідеміологічних досліджень Єрохіна В.В. і Черноусова Л.Н. (2011) [8] з використанням МГ методів діагностики (ПЛР, біочіпова і стріпова технології) встановлено, що в Російській Федерації переважають штами W-Beijing кластера. Встановлено,

що особливістю штамів цього кластера була підвищена здатність виживати незалежно від дози інфікування. Вивчення транскрипції генів *icl* і *hspX*, що активуються при внутрішньоклітинному існування патогену, показало підвищену конститутивну експресію гена *hspX* у МБТ W-Beijing кластера. Вивчення мутацій в геномі МБТ показало розширення спектра мутацій в генах-мішенях МБТ у хворих з неефективним лікуванням. Використання МГ методів діагностики дозволили протягом 2-3 днів визначати стійкість МБТ до протитуберкульозних препаратів і своєчасно відкоригувати режим хіміотерапії, що дозволило досягти припинення бактеріовиділення у 98,6 % хворих ХРТБ легких через 6 місяців лікування.

Для генотипування ізолятів ***M.tuberculosis complex*** в даний час використовуються методи, засновані на різних за своєю природою повторюваних елементах [27]:

- *аналіз поліморфізму спейсерних послідовностей ДНК (локус DR)* - метод споліготипування (spoligotyping). Це більш простий метод для скринінгу штамів і попереднього епіданалізу, дослідження безпосередньо клінічного матеріалу;

- *розсіювання повторів (Mycobacterial interspersed repeat units, MIRU)*;
- *ETR (Exact tandem repeats)* – мішені методу VNTR-типування варіабельних за кількістю тандемних повторів);

- *мобільних елементів ПДРФ з використанням праймера IS6110 (IS6110-ПДРФ).*

Загальною властивістю цих методів є їх менша стабільність, що робить більш достовірними конвергентні події, які можуть призводити до детекції фальш-ідентичних генотипів [37].

Тривалий час стандартом типування *M.tuberculosis complex* був метод IS6110-ПДРФ [46], який полягає у виявленні в геномі МБТ ряду повторюваних нуклеотидних послідовностей і аналізу поліморфізму довжин фрагментів рестрикції. IS6110 відрізняються високою стабільністю свого розташування, що дозволяє точно ідентифікувати різні штами.

Чередник Ю.О. з співавт. (2013) [27] вказують на недоліки методу IS6110-ПДРФ в тому, що при підвищенні дискримінантної здатності ПЛР-типуювання виникає необхідність у збільшенні кількості аналізованих локусів, що підвищує вартість аналізу і ускладнює процедуру ПЛР.

Дослідниками К.В. Білоусова з співавт. (2014 року) [4] проведено порівняння масивності і швидкості росту, лікарської чутливості і генотипових особливостей МБТ, виділених з резектованих ділянок легень і респіраторного матеріалу, з використанням молекулярно-генетичних методів (ПЛР в режимі реального часу, Біочіп, MIRU-VNTR-генотипування). Ізоляти були генотиповані з використанням 7 локусів (MIRU10, MIRU26, MIRU31, Mtub21, ETRA, UB26, QUB11b). Встановлено, що МБТ, отримані з респіраторного матеріалу на етапі хірургічного лікування і з операційного матеріалу хворих на туберкульоз легень, за вивченими клінічно значимими біологічними властивостями (масивність і швидкість росту, лікарська чутливість і генотипічні особливості) однакові. При цьому операційний матеріал легень є найбільш інформативним матеріалом, що дозволяє отримати достовірні відомості про збудника туберкульозу безпосередньо з вогнища туберкульозного ураження.

Вивчення штамів київської популяції МБТ [26, 28] було проведено методом ETR-VNTR (за локусами ETR A, B, C, D, E), SNP-типуювання групоспецифічних SNP katG463 та gyrA95 за допомогою ПДРФ-аналізу і делеційного ПЛР-аналізу (делеція TbD1). Встановлено, що в групі носіїв **Beijing**-штамів 12,3 % були представники **молодшої вікової групи**. Виявлена достовірна асоціація між приналежністю до сімейства **LAM** і **хронічним перебігом туберкульозу з фіброзно-кавернозною формою**. На основі поліморфізмів katG463, gyrA95 и TbD1, штами МБТ розділили на 4 групи:

1. група попередників штамів (TbD1 +, katG463 CTG, gyrA95 ACC);
2. сучасні штами МБТ:
 - ПГГ-1 (TbD1-, katG463 CTG, gyrA95 ACC),

- ПГГ-2 (TbD1-, katG463 CGG, gyrA95 ACC),
- ПГГ-3 (TbD1-, katG463 CGG, gyrA95 AGC).

З урахуванням цієї класифікації, встановили, що найбільш поширеними були штами ПГГ-1 (56,7 %), з яких 92,6 % становили штами родин Beijing. При цьому дослідники довели доцільність застосування більше одного методу генотипування з використанням більш стабільних **SNP** і **LSP** маркерів.

Проведені дослідження в Харківській області свідчать про те, що серед ізолятів штами Beijing визначалися у 34 % випадків, а LAM – в 23 % [35].

В одеській популяції МБТ штами Beijing визначалися в 40 % [16].

У полтавській популяції штамів МБТ 70 % належали до генетичного сімейства Beijing [24]. Аналіз ізолятів ДНК RIF-стійких штамів було проведено методом МАС-ПЛР. Мутації в одному з трьох вивчених кодонів гров 526 або 531 були виявлені у 80 %. Встановлено, що аналіз методом МАС-ПЛР гена гров забезпечує розширений мутаційний аналіз кодонів 516 і 526. Варіант katg 315 – є найбільш частим в Полтаві і Полтавській області.

На основі використання ПЛР в режимі реального часу, Скорняков С.Н. з співавт. (2014 року) [18] запропонували схему генотипування МБТ на території Уральського регіону РФ:

1. MIRU-VNTR-типування ізолятів генотипу Beijing проводиться з використанням 9 локусів (MIRU26, QUB26, Mtub21, Qub11b, MIRU31, MIRU40 VNTR4120, VNTR3820, VNTR3232),
2. ізолятів інших генотипів (non-Beijing) – 15 локусів (Mtub04, ETRC, MIRU04, MIRU40, MIRU10, MIRU16, Mtub21, QUB11b, ETRA, Mtub30, MIRU26, MIRU31, Mtub39, QUB26, QUB4156),
3. і/або споліготипування.

Автори вказують на те, що запропонована схема дозволяє ефективно і з найменшими витратами визначати приналежність МБТ до найбільш епідеміологічно значущих генетичним групам з метою моніторингу їх поширення.

Завдання МГ методів визначення медикаментозної чутливості або стійкості МБТ, що дозволяє призначити своєчасно необхідний адекватний режим протитуберкульозної хіміотерапії та застосувати заходи попередження поширення лікарсько-стійкого туберкульозу. Принципи цих методів зводяться до виявлення мутацій в певних нуклеотидних послідовностях відомих генів [19].

На сьогодні відомі гени МБТ [11], відповідальні за формування лікарської стійкості до:

- ізоніазиду – katG, inhA, ahpC,
- рифампіцину – rpoB,
- стрептоміцину – rrs, rpsL,
- етамбутолу – embB,
- піразинаміду – pncA,
- фторхінолонів – gyrA.

В даний час для швидкого детектування ізолятів, стійких до протитуберкульозних препаратів, впроваджуються МГ методи: ПЛР в реальному часі, гібридизація ДНК в форматі чіпів, секвенування.

Основні методи засновані на прямому прочитуванні (секвенування) цих послідовностей після ампліфікації і гібридизації біотин-мічених фрагментів ДНК, ампліфікування в ході ПЛР з ДНК-зондами (рис. 4).

Обидва методи проводять за допомогою ферментного кон'югату (стрептавидін-лужна фосфатаза) – метод LIPA-Rif-TB (рис. 5).

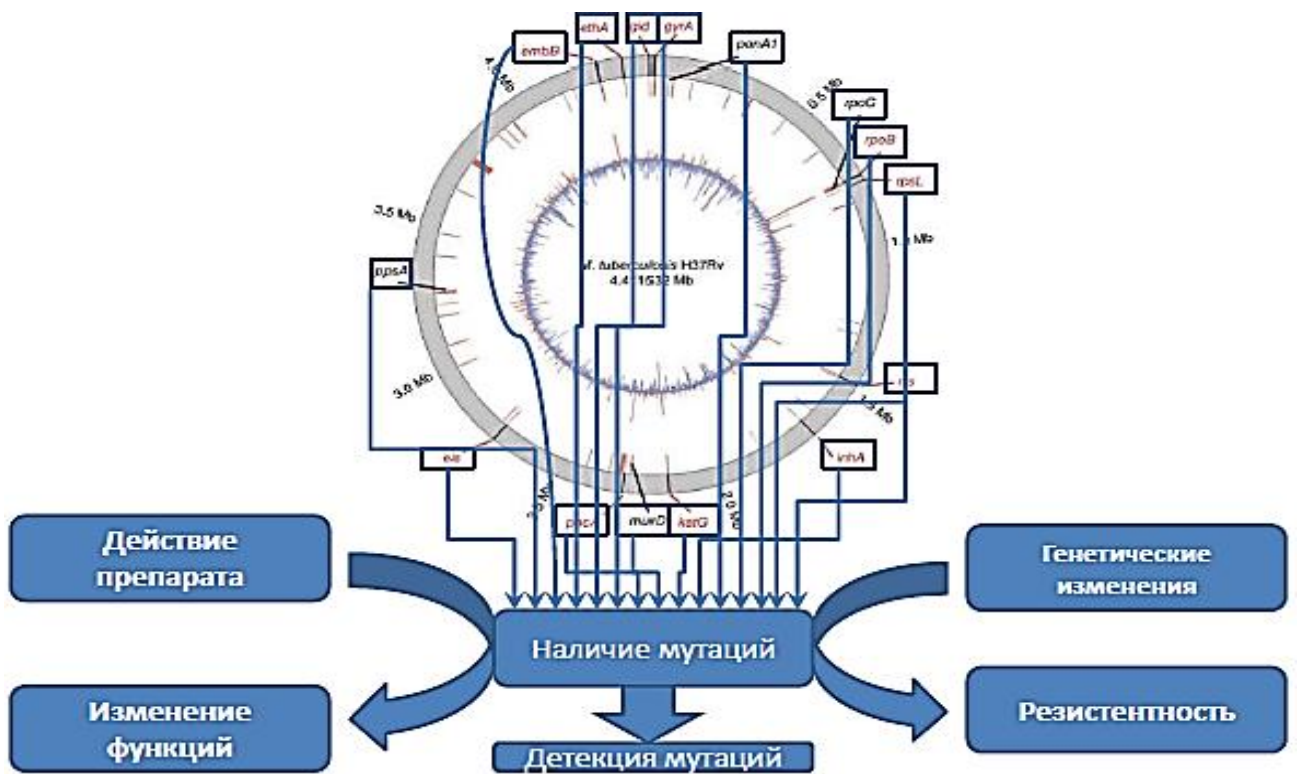


Рис. 4. Технологія секвенування.

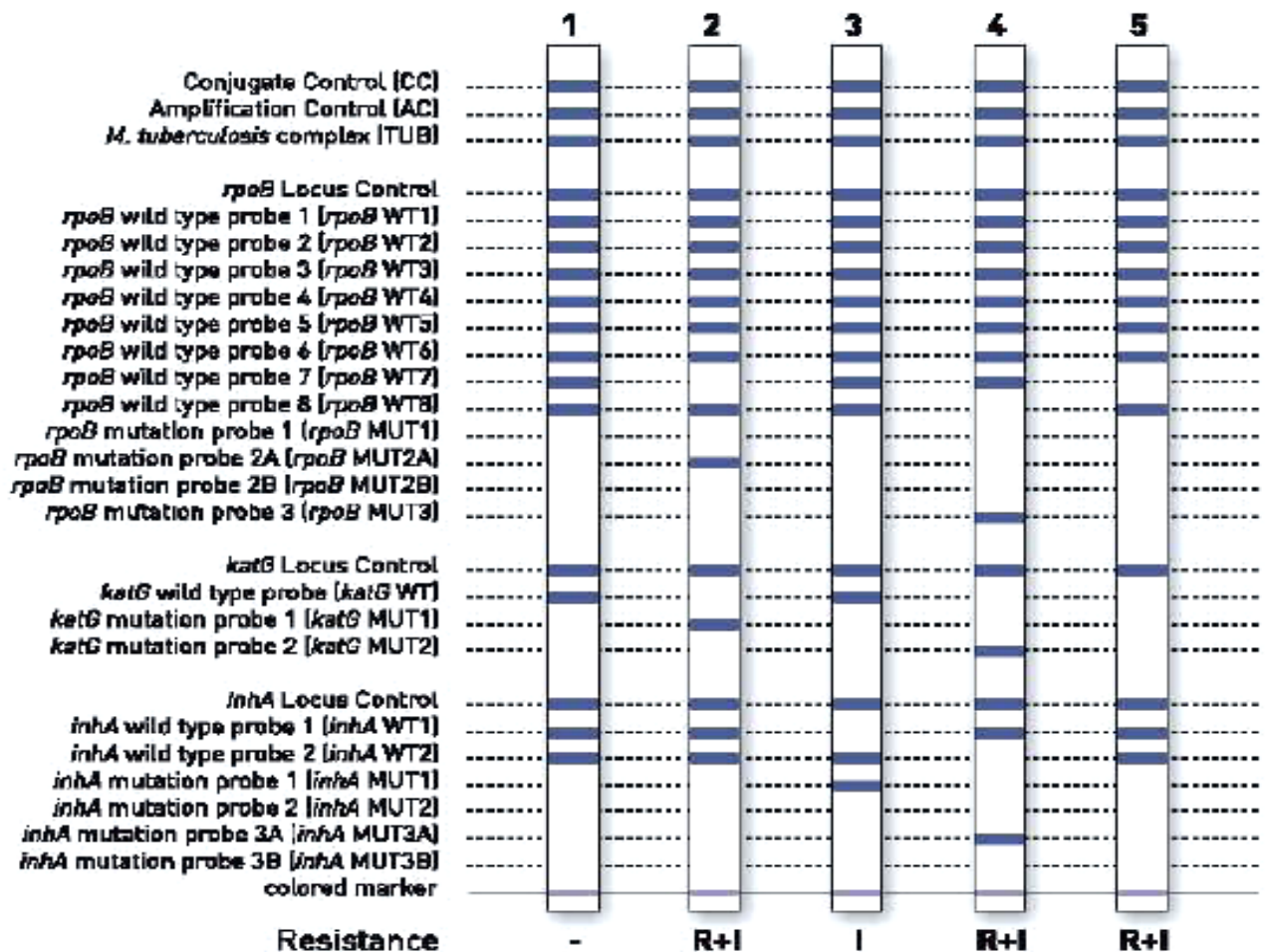


Рис. 5. MTBDR plus стріпи для ідентифікації *M.tuberculosis complex* та визначення резистентності до рифампіцину та ізоніазиду.

До МГ методів визначення лікарської стійкості МБТ відносяться:

- *Тест-система Gene Xpert MTB/RIF* – метод напівкількісної гніздової ПЛР в реальному часі, що проводиться in vitro (з визначенням стійкості МБТ до рифампіцину) [10, 30, 48];

- *Мультиплексна ПЛР і ТБ-Біочін* (з визначенням стійкості МБТ до ізоніазиду і рифампіцину);

- *Тест-система Genotype®* – стриповий метод (з визначенням стійкості МБТ до ізоніазиду, рифампіцину, етамбутолу, фторхинолонів, аміноглікозидів/циклічних пептидів).

Тест-системи **Genexpert MTB/RIF** і **Genotype®** Всесвітньою організацією охорони здоров'я розглядаються як пріоритетні (ВООЗ).

В Україні з 2012 року, в комплексі з бактеріоскопією мазка мокротиння і бактеріологічними методами застосовуються молекулярно-генетичні тест-системи **Genexpert MTB/RIF** і **Genotype®** [3, 10, 31, 32]. Тест-система Genexpert MTB/RIF використовується в лабораторіях мікробіологічної діагностики туберкульозу II та III рівнів для швидкого виявлення МБТ (без ідентифікації) і визначення стійкості до рифампіцину. Тест-система Genotype® використовується тільки в лабораторіях мікробіологічної діагностики туберкульозу III рівня для діагностики туберкульозу з ідентифікацією МБТ і визначенням стійкості до ізоніазиду, рифампіцину, етамбутолу, фторхинолонів, аміноглікозидів/циклічних пептидів [10]. МГ дослідження проводяться всім хворим на туберкульоз легенів (1, 2 і 3 категорій), не залежно від результатів скопії та до початку лікування [32].

У тест системі **GenoType®** застосування *лінійного зонд-аналізу (LPA)* забезпечує (рис. 6):

- *GenoType® MTBDRplus* – виявлення стійкості комплексу *M. tuberculosis* до рифампіцину та ізоніазиду;

- **GenoType® MTBDRsl** – виявлення стійкості комплексу *M. tuberculosis* до фторхінолонів, аміноглікозидів/циклічних пептидів та етамбутолу.

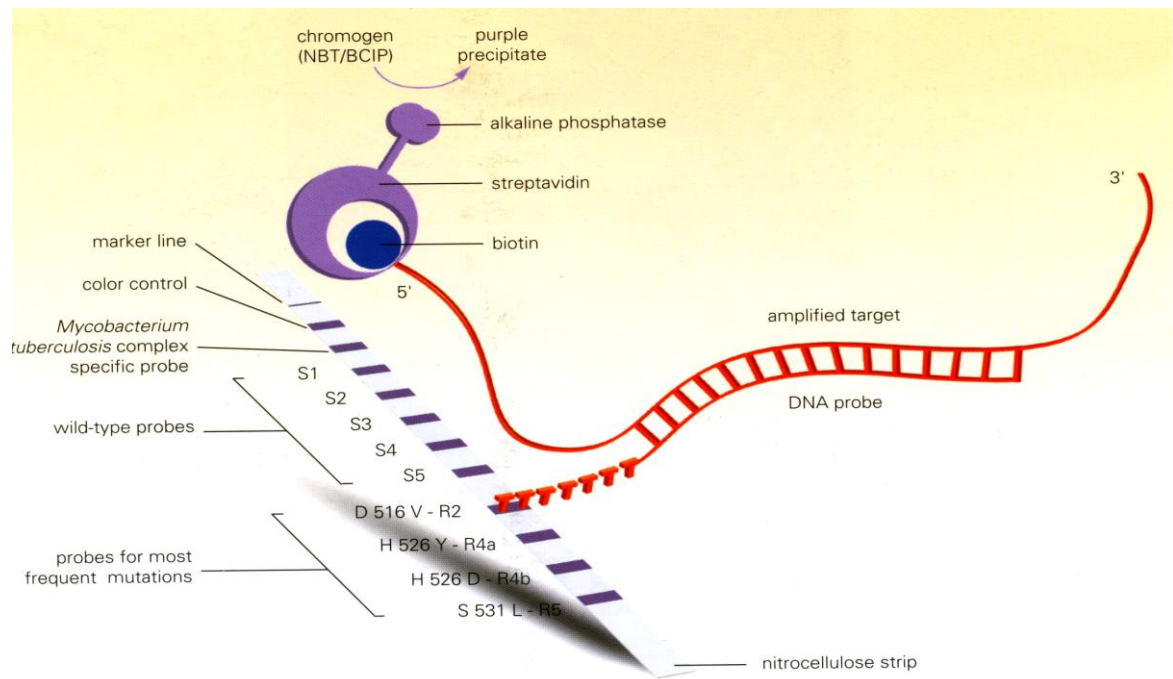


Рис. 6. Лінійний зонд-аналіз (LPA).

Вимоги до системи обладнання для лінійного зонд-аналізу (LPA):

- **Рівень лабораторії** (обов'язково III рівень лабораторії (BSL2/BSL3)).
- **До приміщень лабораторії:** дозвіл на проведення ПЛР діагностики та, як мінімум, 3 окремих приміщення, щоб уникнути перехресної контамінації («Організація роботи лабораторій при дослідженні матеріалу, що містить біологічні патогенні агенти I-IV груп патогенності молекулярно-генетичними методами» Наказ МОЗ №26 від 24.01.2008).
- **До кадрів:** післядипломна підготовка лікарів бактеріологів з напрямку «молекулярна діагностика».
- **До зразків:** позитивні за мазком і культурах *M. Tuberculosis*.
- **LPA неможливо застосовувати для контролю лікування!!**

Принцип методу гібридизації з типом специфічними зондами (**тест-система Genotype®**) полягає в тому, що на ДНК-стрип нанесені специфічні проби, які комплементарні до отриманих в результаті ПЛР амплікон.

Після денатурації одноланцюгові амплікона зв'язуються з пробами на стрипах, а потім візуалізуються в послідовній ензиматичною реакції з стрептавідином і лужною фосфатазою.

Процедура проведення тесту передбачає три етапи (рис. 7):

- виділення ДНК з культивованих матеріалу або з клінічних зразків;
- мультиплексная ампліфікація з біотилірованими праймерами в присутності термостабільної ДНК полімерази;
- реверс-гібридизація.

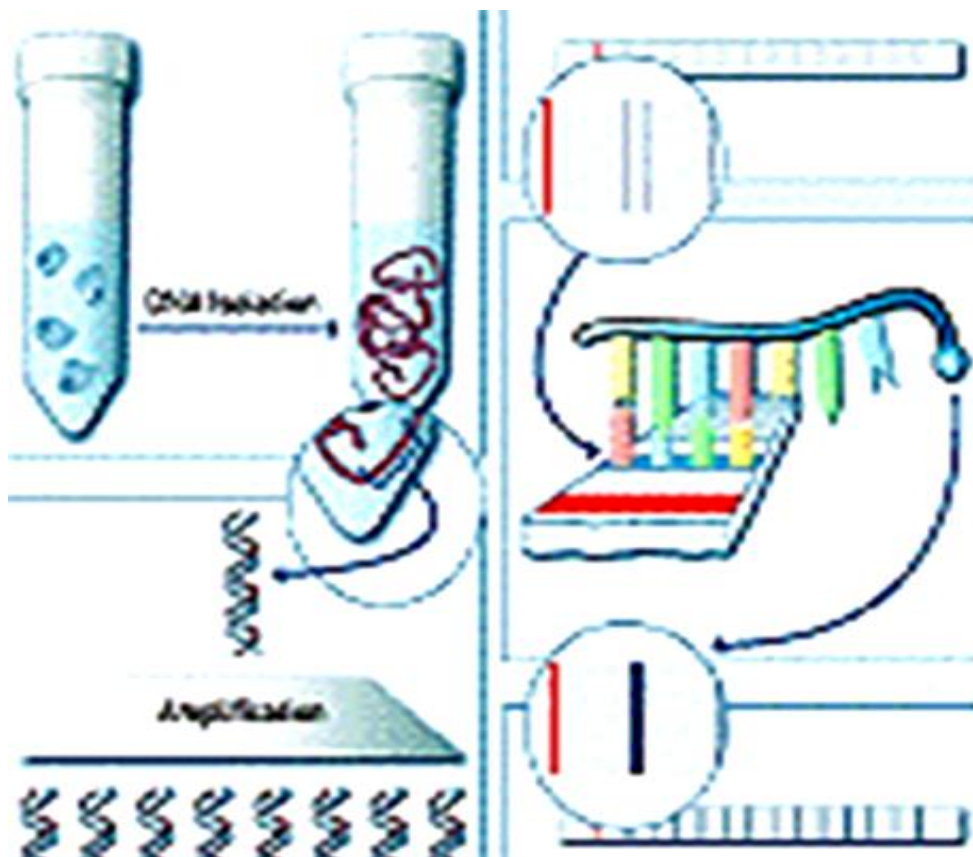


Рис. 7. Методологія проведення тесту Genotype®.

Ця методологія дозволяє швидко визначити збудника туберкульозу і його чутливість до протитуберкульозних препаратів.

Оцінка результатів гібридизації може здійснюватися, як візуально шляхом порівняння отриманого результату з шаблоном, так й застосування автоматичного зчитування результату. Для виявлення МБТ і визначення їх чутливості до протитуберкульозних препаратів I та II ряду ДНК-стрипова технологія використана в тест-системі Genotype® виробництва Hain Lifescience (Німеччина). Тривалість дослідження як такого становить 4-5 годин.

Тест-система Genexpert MTB/RIF підходить для лабораторій всіх рівнів з наявністю необхідної інфраструктури та з рівнем робочого навантаження відповідному продуктивності приладу. Даний метод дослідження виявляє як туберкульоз, так і стійкість до рифампіцину. Тест-систему Genexpert MTB/RIF можна застосовувати як окремий вид діагностичного дослідження.

**Направление биологического образца на исследование на ТБ
- МИКРОСКОПИЯ и XPERT MTB/RIF -**

Лечебное учреждение: _____ Дата направления: _____
 Регистрационный № пациента/лица с
 Ф.И.О. пациента: _____ подозрением на ТБ: _____
 Возраст
 (полных лет): _____ Дата рождения: _____ Пол: Муж. Жен.
 Адрес пациента: _____
 Телефон: _____

Дата сбора образца	Тип образца (Отметьте <input type="checkbox"/> / укажите точно)	Тип исследования (Отметьте <input type="checkbox"/>)
/ /	<input type="checkbox"/> Мокрота <input type="checkbox"/> Другое: _____	<input type="checkbox"/> Микроскопия <input type="checkbox"/> Xpert
/ /	<input type="checkbox"/> Мокрота <input type="checkbox"/> Другое: _____	<input type="checkbox"/> Микроскопия <input type="checkbox"/> Xpert
/ /	<input type="checkbox"/> Мокрота <input type="checkbox"/> Другое: _____	<input type="checkbox"/> Микроскопия <input type="checkbox"/> Xpert

Цель исследования:
 Диагностика Если диагностика, то предположительно
 ИЛИ Контроль РУ-ТБ/МЛУ-ТБ: Да Нет
 лечения в месяцах: _____
 ВИЧ-инфекция?: Да Нет Неизвестно
 Ранее лечился от ТБ?: Да Нет Неизвестно
 Контакт с МЛУ-ТБ?: Да Нет Неизвестно
 Направление от (Ф.И.О., квалификация, контактные данные и подпись): _____

Рис. 8. Форма направления на дослідження Genexpert MTB/RIF.

Для методу необхідно: безперервне електроживлення, щорічне калібрування модулів, температура навколишнього середовища 15-30° С, картриджі і реактиви зберігати при температурі від 2 до 28 ° С (рис. 9).



Рис. 9. Картриджі тест-системи Genexpert MTB/RIF.

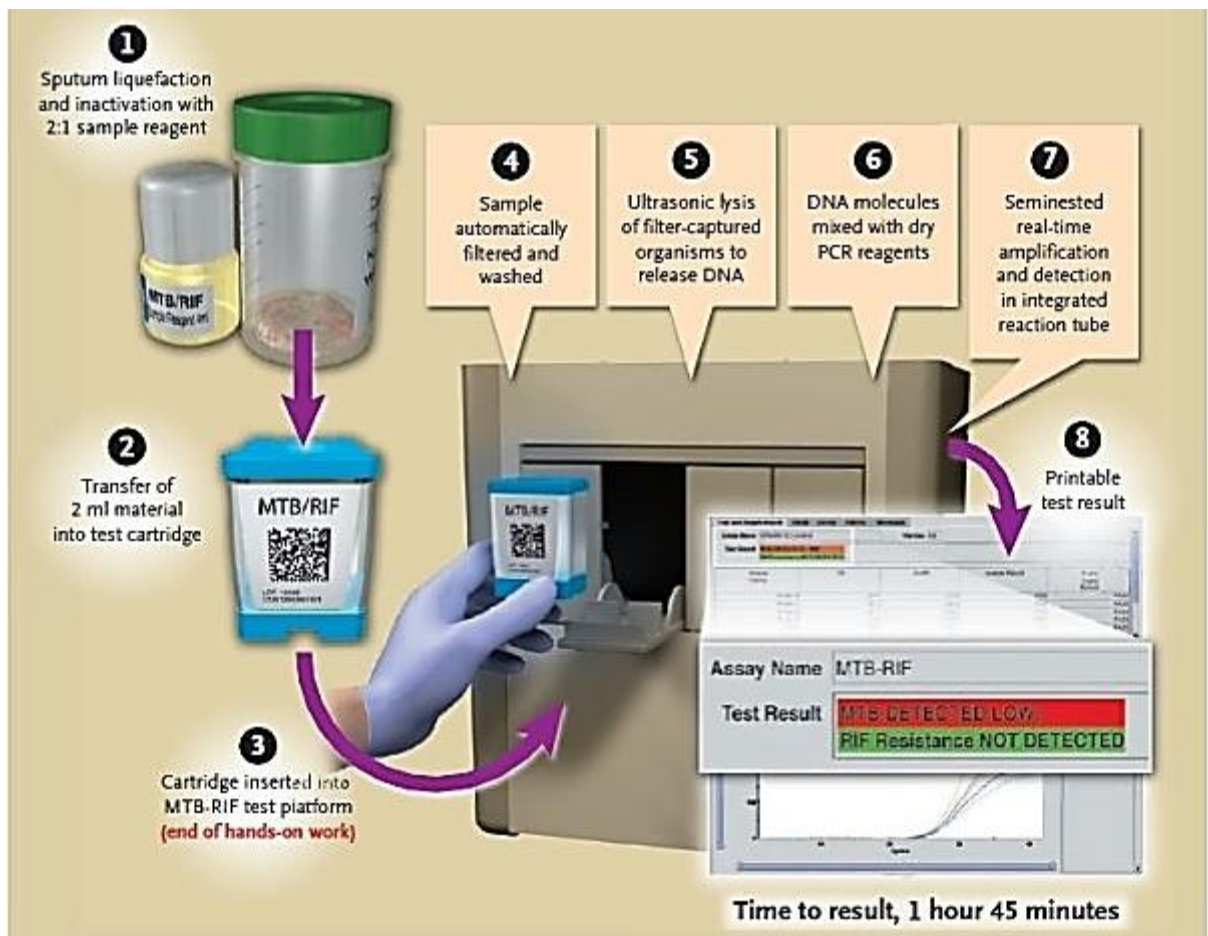


Рис. 10. Етапи дослідження в тест-системі Genexpert MTB/RIF.

Результаты микроскопии и XPERT MTB/RIF (заполняется в лаборатории)

Дата получения образца: ____/____/____

Лабораторный порядковый номер(а)	Тип образца (*)	Внешний вид <small>(с вкраплениями крови, слизисто- гнойный или слиюна)</small>	Результат микроскопии <small>(отметьте один галочкой)</small>					Результаты XPERT (**)
			Отрица- тельный <small>(0 КУБ / 100 п/зр)</small>	1-9 / 100 п/зр <small>(скудное кол-во: записать кол-во КУБ)</small>	+	++	+++	

* Мокрота (м.); Другое (укажите). ** Выберите одно из следующих:
 (Т): Выявлены МБТ, устойчивость к рифампицину не выявлена
 (РУ): МБТ выявлены, устойчивость к рифампицину выявлена
 (ТН): МБТ выявлены, устойчивость к рифампицину неопределенная
 (Н): МБТ не выявлены
 (НД): недостоверный / нет результата / ошибка

Анализ выполнил(а): (Ф.И.О. и подпись) _____

Дата получения результата: ____/____/____

Рис. 11. Форма з результатами дослідження Genexpert MTB/RIF.

Результати тестування в картриджах тест-системи Genexpert MTB/RIF є попередніми і не можуть замінити подальшого бактеріологічного дослідження. За інструкцією виробника для дослідження в картриджах тест-системи Genexpert MTB/RIF може досліджуватися **мокрота або її осад.** **Для інших видів матеріалу методика не валідна!!!** Метод **неможливо застосовувати для контролю лікування!**

Саліна Т.Ю. і Морозова Т.І. (2011) [17] проводили вивчення лікарської чутливості МБТ до ізоніазиду, рифампіцину і фторхинолонів за допомогою біологічних мікрочіпів. Встановлено, що мутації ДНК МБТ в гені kat G зустрічалися у 74,4 %, в гені inhA - у 39,5 %, в гені ahpC - у 4,7 %. Відзначено розширення спектра мутацій в гені groV, що кодують лікарську стійкість до рифампіцину. Не отримано достовірних відмінностей в спектрі генетичних мутацій МБТ у пацієнтів з важкими, прогресуючими формами туберкульозу в порівнянні з пацієнтами з обмеженим і сприятливо протікає туберкульоз.

Ісакова Ж.Т. (2009) [11] вивчала ефективність тест-системи «ТБ-Біочіп MDR» в експрес-ідентифікації штамів МБТ з лікарською стійкістю до рифампіцину і ізоніазиду. Дослідження на біочіпах полягало у виділенні ДНК МБТ, проведенні двох послідовних мультиплексних ПЛР зі специфічними для IS6110, groB, katG, inhA і ahpC праймерами, гібридизації продуктів ампліфікації другої стадії ПЛР з олігонуклеотидними зондами, встановленими в лунках біочіпів. Основною перевагою тест-системи «ТБ-Біочіп MDR» була можливість виявити штами МБТ із множинною лікарською стійкістю протягом двох днів, що дозволило швидко підібрати ефективний режим хіміотерапії.

Лаврова О.І. з співавт. (2014 року) [13] проводили вивчення МГ методу визначення резистентності МБТ HRM (high resolution melting curve analysis), який заснований на проведенні ампліфікації фрагментів ДНК з подальшим аналізом їх кривих плавлення з високою роздільною здатністю. Встановлено, що метод HRM-аналіз дозволяє виявляти всі мутації в фрагментах генів, розрізняти ДНК мутантного і дикого типів в їх суміші, не має контамінаційної небезпеки.

В даний час створюються бібліотеки генів МБТ, накопичення інформації за нуклеїновими кислотами, видовій специфічності білків МБТ, відкриття вставних елементів в генному матеріалі МБТ, що дає можливість проведення внутрішньовидової диференціації штамів МБТ, їх поліморфізму [28].

Таким чином, на сьогодні в світі, в тому числі і Україна, є значні досягнення в молекулярно-генетичної діагностики туберкульозу.

Перевагами МГ методів діагностики туберкульозу є:

- швидкість діагностики (до 2-х днів);
- висока специфічність;
- висока чутливість (від 10 клітин в 1 мл діагностичного матеріалу);

- позитивний результат однозначно вказує на приналежність МБТ до *M. tuberculosis complex* (що не вимагає додаткової диференціювання від нетуберкульозних мікобактерій);

- експрес-виявлення генетичних маркерів стійкості *M. tuberculosis complex* до протитуберкульозних препаратів.

З огляду на епідемію туберкульозу і темпи зростання хіміорезистентного туберкульозу в Україні, впровадження новітніх молекулярно-генетичних методів діагностики туберкульозу сприятиме, як підвищення ефективності лікування хворих, так і поліпшенню епідеміологічної ситуації щодо цього захворювання в країні.

Необхідно враховувати отримані результати вітчизняних дослідників, особливо з приводу високої ефективності методу генотипування з використанням більш стабільних SNP і LSP маркерів.

ТЕМА 2

БАКТЕРІОЛОГІЧНІ МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ У ФТИЗИАТРІЇ (на основі «Стандарти бактеріологічної діагностики туберкульозу в лабораторіях протитуберкульозних закладів України»; Київ, 2012 [9])

Конкретні цілі:

- Володіти методами взяття біологічного матеріалу, відбору проб з урахуванням різних чинників: транспортування, зберігання та підготовки матеріалу тощо для досліджень у лабораторіях протитуберкульозної служб відповідно до вимог.
- Вивчити живильні середовища, посіви і культивування.
- Визначати роль бактеріоскопічних і бактеріологічних методів дослідження харкотиння.
- Визначати вид стійкості МБТ за даними бактеріологічного дослідження.
- Аналізувати основні рентгенологічні синдроми у клініці туберкульозу.
- Визначати тактику лікарів установ загальної медичної мережі щодо хворих за даними їх рентгенологічного обстеження та бактеріоскопічного дослідження мокротиння.
- Проводити диференціацію мікобактерій туберкульозного комплексу, видову ідентифікацію мікобактерій.
- Проводити дослідження по визначенню медикаментозної чутливості мікобактерій.

Діагностичний матеріал

Діагностичний матеріал для дослідження у фтизіатрії:

- мокротиння;
- виділення верхніх дихальних шляхів, після подразнюючої інгаляції;
- промивні води бронхів;

- бронхоальвеолярні змиви (БАЗ);
- бронхоальвеолярний лаваж (БАЛ);
- матеріал, отриманий при бронхоскопії;
- транстрахеальний та внутрішньолегеновий біоптати;
- промивні води шлунка;
- сеча;
- пунктати із закритих порожнин (спинномозкова рідина, ексудати і трансудати з плевральної і черевної порожнин, гній, гнійно-некротичні маси, виділення ран, виділення відкритих порожнин тощо).

Діагностичний матеріал можна розділити на 2 групи:

- асептично зібраний матеріал, який, як правило, не містить іншу мікрофлору (біологічні рідини: ліквор, перикардіальна, синовіальна, асцитична рідина, кров, кістковий мозок);
- матеріал, що містить звичайну флору, або зібраний в антисептичних умовах.

Асептично зібрані рідини. До рідин, що мають схильність до згортання, додають стерильні гепарин (0,2 мг на 1,0 мл) або оксалат калію (0,01–0,02 мл 10,0 % нейтрального оксалату на 1,0 мл матеріалу). Матеріал має бути доставлений у лабораторію негайно.

Асептично зібрані тканини поміщаються в стерильні контейнери без додавання будь-яких консервантів. У разі тривалого транспортування тканини необхідно помістити в стерильний ізотонічний розчин, обкласти сухим льодом або охолодити при температурі 4–8 0С. Матеріал має бути доставлений у лабораторію негайно.

Організація збору, зберігання і транспортування діагностичного матеріалу

Збір мокротиння для дослідження на МБТ – дуже відповідальний етап діагностичної процедури, від чіткості проведення якого багато в чому залежить результат дослідження.

Якщо мокротиння отримати не вдалося, контейнер вважається використаним і підлягає знезараженню.

Контейнер з порцією мокротиння, що містить ущільнені або гнійні грудочки без слини, ретельно закривають кришкою, що загвинчується, потім контейнер маркують і поміщають у спеціальний бікс для транспортування в лабораторію.

Контейнери для збору діагностичного матеріалу

Для збору діагностичного матеріалу повинні використовуватись спеціальні контейнери (рис. 12), які:

- виготовлені з ударостійкого і прозорого матеріалу (пластик);
- мають кришки, що загвинчуються з ущільненням;
- мають об'єм 30,0-50,0 мл;
- мають широкий отвір для збору мокротиння (30 мм у діаметрі).

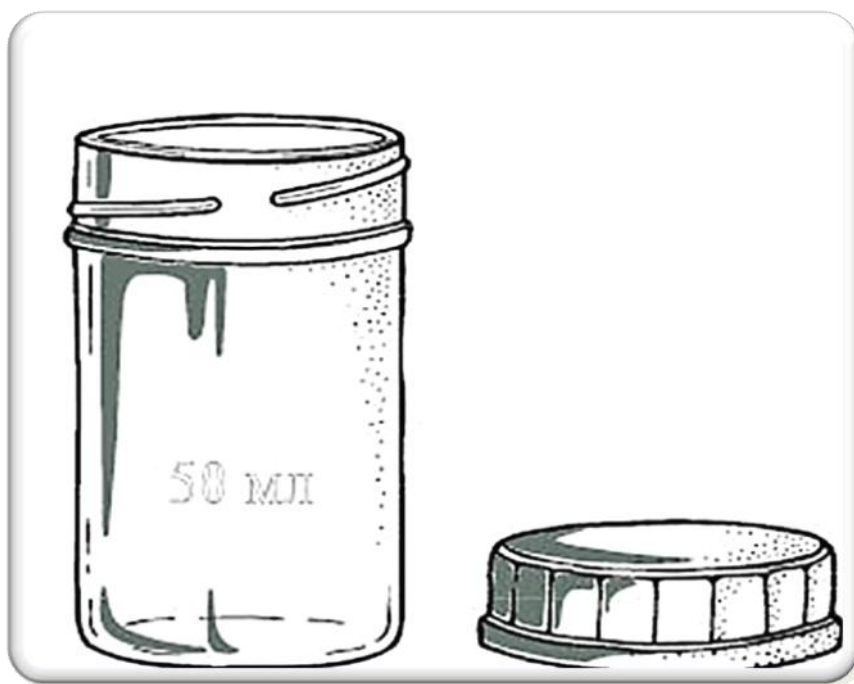


Рис. 12. Контейнер для збору діагностичного матеріалу.

Зберігання і транспортування матеріалу

Матеріал відразу після збору слід відправляти в лабораторію (протягом 24 годин). У разі віддаленості лабораторії від місця взяття матеріалу його відправка в лабораторію може здійснюватися два рази на тиждень. У цьому випадку контейнери із зібраним матеріалом повинні зберігатися в холодильнику при температурі 4-8⁰С не більше 72 годин. При необхідності зберігання понад 72 години, до діагностичного матеріалу додають консервант, у цьому випадку термін зберігання збільшується до 5 діб.

Асептичний матеріал повинен бути відправлений в лабораторію негайно! Для інших матеріалів, якщо їх транспортування передбачається при високій температурі навколишнього середовища або їх доставка в лабораторію більше, ніж через 24-72 години після збору (взяття), рекомендується використовувати наступні хімічні консерванти:

- якщо передбачувана затримка не перевищує 24 години, матеріал змішують з однаковим об'ємом 10,0 % розчину тризаміщеного фосфату натрію;
- змішати матеріал з однаковим об'ємом 1,0 % розчину цетилпіридин хлориду у 2,0 % хлориді натрію. МБТ залишаться життєздатними до 1 тижня;
- додати до матеріалу двократний об'єм 2,0-3,0% розчину борної кислоти.

Для зниження токсичності консервантів проби рекомендується зберігати в холодильнику при температурі від (+4 до +8)⁰С. Діагностичний матеріал може бути заморожений, і у випадку якщо він не буде піддаватись розморожуванню і повторному заморожуванню, життєздатність МБТ збережеться.

Для безпечного транспортування дослідний матеріал повинен бути упакований в **водонепроникну ємкість, що не б'ється, а також захищену від струсів, ударів і інших можливих пошкоджень** (рис. 13). Під час

транспортування матеріал повинен, по можливості, охолоджуватися і не перебувати на сонці.



1-й етап пакування



2-й етап пакування



3-й етап пакування



Контейнер для зберігання і транспортування мокротиння

Рис. 13. Етапи пакування контейнерів для зберігання і транспортування мокротиння.

На зразки заповнюється **направлення** за формою № 200 – 1/о «Направлення на бактеріоскопічне дослідження ТБ 05» (**форма ТБ 05**) (рис. 14), або за формою № 200 – 2/о «Направлення на бактеріологічне дослідження **ТБ 06**» (Наказ МОЗ України від 02.09.2009 № 657).

Назва міністерства, іншого центрального органу виконавчої влади, організації, у сфері управління якого перебуває заклад

Найменування та місцезнаходження закладу, відповідальні особи якого заповнили цю форму

Ідентифікаційний код ЄДРПОУ _____

Направлення на бактеріоскопічне дослідження ТБ 05

Реєстраційний номер
випадку

Область	Район	Рік	Порядковий номер				

1. Заклад:

1.1. Направлено з _____ Тел. _____
(вказати лікувально-профілактичний заклад/відділення)

1.2. П. І. Б. лікаря _____ 1.3. Дата направлення _____

2. Пацієнт:

2.1. П. І. Б. пацієнта _____ 2.2. Рік народження _____ 2.3. Стать: Ч Ж

2.4. Місце проживання _____ 2.5. Район _____

2.6. Біоматеріал Мокротиння Інший (вказати, який саме)

3. Мета Діагностика Контроль хіміотерапії Інша (вказати, яка саме)

дослідження:

4. Дати збору біоматеріалу: 4.1. _____ 4.2. _____ 4.3. _____

5. Відповідальний за збирання біоматеріалу _____
(П. І. Б.)

6. Попередній мазок (у ЗЛМ): 6.1. Дата _____ 6.2. Лаб. N _____

6.3. Результат _____

7. Результат дослідження (заповнюється в лабораторії)

7.1. Дата доставки біоматеріалу в лабораторію _____

7.2. Код лабораторії _____ 7.3. Лабораторний порядковий N _____

8. Результати бактеріоскопії на наявність КСБ

Дата бактеріоскопії	Проба	Результат					Примітки
		негативний	позитивний/ступінь позитивності				
			1 - 9 КСБ	1+	2+	3+	
А	Б	1	2	3	4	5	6
	1						
	2						
	3						

9. Дата видачі результату _____ Підпис лаборанта _____

Рис. 14. Форма ТБ 05 «Направлення на бактеріоскопічне дослідження ТБ 05».

Крім того на кожний контейнер (ящик/бікс) заповнюють форму № 240-1/о «Опис зразків мокротиння, які направляються в лабораторію ТБ 05а» (форма ТБ 05а) у двох примірниках (рис. 15). У кінці зазначаються цифровим способом дата направлення/доставки зразків мокротиння у

лабораторію, а також **прізвище та ініціали особи**, яка проводила збір зразків мокротиння, і особи, яка прийняла зразки у лабораторію.

Назва міністерства, іншого центрального органу виконавчої влади, організації, у сфері управління якого перебуває заклад <hr/> Найменування та місцезнаходження закладу, відповідальні особи якого заповнили цю форму <hr/> Ідентифікаційний код ЄДРПОУ _____ Опис зразків мокротиння, які направляються в лабораторію ТБ 05а Найменування лікувально-профілактичного закладу/відділення _____						
№ з/п	П. І. Б. пацієнта	Рік народження	П. І. Б. лікаря	Дата збирання зразка	Номер зразка	Примітки
1	2	3	4	5	6	7
				1		
				2		
				3		
				1		
				2		
				3		
				1		
Дата _____				Здав відповідальний медпрацівник _____ (підпис)		
				Прийняв лаборант _____ (підпис)		

Рис. 15. Форма ТБ 05а «Опис зразків мокротиння, які направляються в лабораторію ТБ 05а»

Прийом та реєстрація матеріалу

- Прийом матеріалу повинен проводитися в спеціально відведеному місці.
- Бікси/транспортувальні ящики з контейнерами повинні бажано відкривати у витяжній шафі, або на спеціально виділеному столі з дотриманням вимог.
- Присвоїти матеріалу лабораторний порядковий номер – перший вільний номер журналу Форма первинної облікової документації № 252-1/о «Лабораторний реєстраційний журнал (бактеріоскопічні дослідження) ТБ 04/1» (один на 3 зразки від одного пацієнта), або

Форма первинної облікової документації № 252-1/о «Лабораторний реєстраційний журнал (бактеріологічні дослідження) ТБ 04/2» (один на 3 зразки від одного пацієнта).

Обробка діагностичного матеріалу, деконтамінація та концентрація зразків

Більшість проб клінічного матеріалу, що надходить до мікробіологічної лабораторії для бактеріологічного дослідження з метою діагностики і контролю хіміотерапії туберкульозу, у різній мірі забруднені бактеріями, які швидко ростуть, пишній ріст їх на багатих живильних середовищах заважає розвитку мікобактерій і ускладнює їх виділення.

Тому перед посівом на живильні середовища діагностичний матеріал піддають спеціальній обробці, що забезпечує деконтамінацію, тобто загибель гноєрідної та гнилісної мікрофлори.

Мікроскопія мазка за Цілем-Нільсеном

(Наказ МОЗ України від 04.09.2014 № 620) [32]

Крім мокротиння на КСБ досліджують біопсійний матеріал шляхом його відбитку на скельці з подальшим забарвленням за Цілем-Нільсеном.

Забір мокротиння для дослідження методом мікроскопії:

- мокротиння збирається у стерильні (бажано одноразові пластикові) контейнери із широкою горловиною та кришкою, що закручується;
- мокротиння збирається на відкритому повітрі або у спеціальному приміщенні для збору мокротиння (тільки за умови його оснащення примусовою вентиляцією з 6-разовим обміном повітря на годину), бажано рано вранці;
- перший аналіз мокротиння пацієнт збирає та здає при відвідуванні лікувального закладу;
- пацієнту видається контейнер додому (для здачі другого аналізу), щоб він зібрав мокротиння вранці;

- другий аналіз мокротиння, зібраного вранці, пацієнт приносить із дому.

Якісні мазки мокротиння отримують із матеріалу, який доставляється в лабораторію зразу ж після його збирання. Зібраний матеріал до доставки в лабораторію повинен зберігатися в умовах холодильника. Період зберігання+транспортування мокротиння в лабораторію не повинен перевищувати 3–4 дні. Більш тривале зберігання не рекомендується, оскільки вірогідність отримання вірного результату значно знижується.

Правила забору іншого ніж мокротиння матеріалу для дослідження на КСБ та МБТ

Матеріалом для дослідження можуть бути біологічні рідини, тканини, гній.

Ці матеріали поділяють на 2 групи:

- проби, які взяті в асептичних умовах (біопсійний матеріал під час хірургічних втручань, плевральна рідина, ліквор, синовіальна рідина, асцитична рідина, кров, кістковий мозок) – біологічні рідини або біопсійний матеріал поміщають у стерильний контейнер із дотриманням правил асептики. Якщо в матеріалі можуть утворюватись згустки, у контейнер заздалегідь вносять стерильний 10% розчин щавелекислого натрію з розрахунку 0,01–0,02 мл на 1 мл зразка біологічної рідини або розчин гепарину 0,2 мл на 1 мл зразка. Зібраний матеріал потрібно направити в лабораторію протягом 1–6 годин;
- проби, які взяті без дотримання правил асептики (гній, виділення, сеча) – біологічні матеріали поміщають у стерильний контейнер, який не містить консервантів. Якщо планується транспортування біопсійного матеріалу або гною, в контейнер варто додати ізотонічний розчин хлориду натрію для попередження висихання зразка, або помістити його в термоконтейнер із льодом, де буде зберігатись постійна температура 4–15°C. Зібраний матеріал слід направити до лабораторії протягом 1–6 годин. Перед забором сечі пацієнт повинен помити статеві органи м'якими засобами, а зразок сечі зразу ж помістити в

холодильник. Збирається 3 зразки сечі вранці із середньої порції. **Сеча не досліджується на КСБ!**

Правила приготування відбитку лімфатичного вузла або іншого біопсійного матеріалу для забарвлення за Цілем-Нільсеном

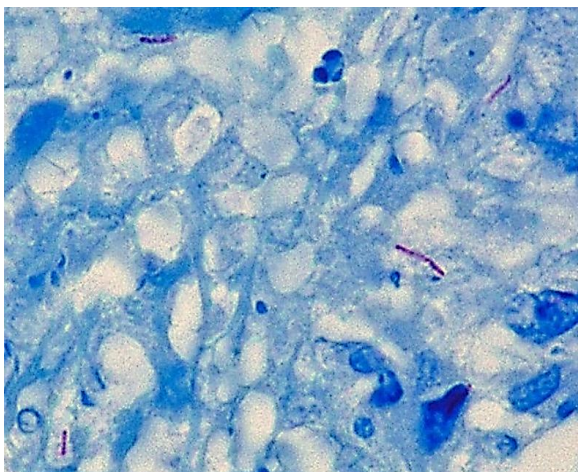
Видалений лімфатичний вузол розрізається, зріз (або біопсійний матеріал) кладуть на скельце та щільно проводять по його поверхні. Дають висохнути при кімнатній температурі (3–5 хвилин). Загортають у папір та надсилають у лабораторію, яка проводить дослідження за Цілем-Нільсеном.

Мікроскопія мазка проводиться (рис. 16):

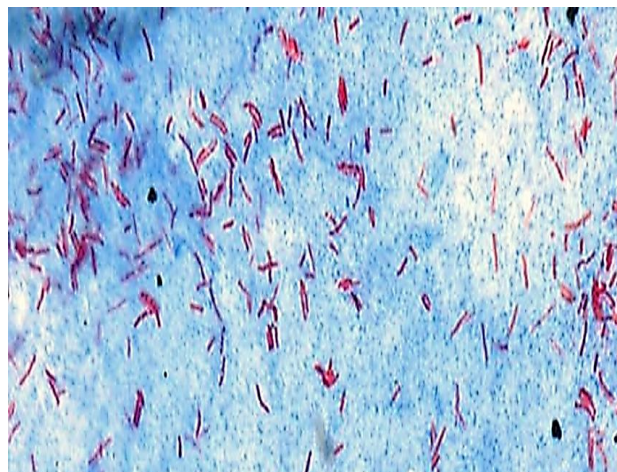
1. «простим» методом;
2. методом флотації.

Якісний мазок (рис. 17):

- Зроблено дійсно з мокротиння
- Рівномірний і правильної форми
- Приблизно 2-3 см x 1-2 см в розмірі
- Досить тонкий для перегляду газетного тексту
- Висушена правильно

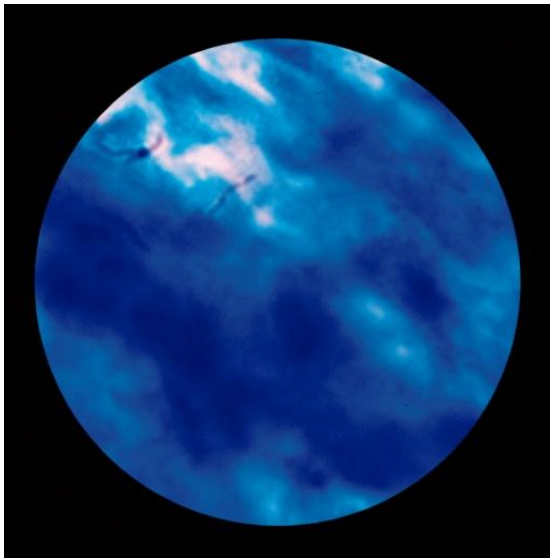


Пряме забарвлення
мазка мокротиння за Цілем-
Нільсеном



Мазок з флотаційного шару
за Цілем-Нільсеном

Рис. 16. Методи мікроскопії мазка .



Товстий

Якісний

Рис. 17. Якість мазків

Оцінка результатів бактеріоскопії

Результат	Значення
Негативний	Кислотостійкі бактерії не знайдено у 100 полях зору (п/з)
Сумнівний	1-9 КСБ в 100 полях зору
Позитивний	
+	10-99 КСБ в 100 полях зору
++	1-9 КСБ в полях зору
+++	Більш ніж 10 КСБ у кожному полі зору

Згідно з рекомендаціями ВООЗ, необхідно на всіх рівнях поступово впроваджувати світлодіодну флуоресцентну мікроскопію мазка і замінити традиційну мікроскопію з полем зору високої освітленості і забарвлення за Ціль-Нільсеном (рис. 18). Люмінесцентна мікроскопія для якої використовують флуоресцентні барвники (аурамін, родамін С) підвищує частоту виявлення МБТ і біоматеріалах, але метод позбавлений специфічності і потрібне підтвердження результатів іншими методами виявлення МБТ.



Рис. 18. Світлодіодна флуоресцентна мікроскопія мазка.

Класифікація помилок при проведенні бактеріоскопічного дослідження (Наказ МОЗ України від. 09.01.2014 № 8)

Результат лабораторії	Результат контролю				
	Негативний	4-9 КСБ/100	КСБ 1+	КСБ 2+	КСБ 3+
Негативний	Правильний	НХН	ВХН	ВХН	ВХН
4-9 КСБ/100	НХП	Правильний	Правильний	ПП	ПП
КСБ 1+	ВХП	Правильний	Правильний	Правильний	ПП
КСБ 2+	ВХП	ПП	Правильний	Правильний	Правильний
КСБ 3+	ВХП	ПП	ПП	Правильний	Правильний

Правильний – помилок немає чи знайдена різниця на одну градацію позитивного результату, наприклад, КСБ 1(+) та КСБ 2(+).

Помилки при проведенні мікроскопії (Наказ МОЗ України від. 09.01.2014 № 8)

Помилки	Вірогідна причина	Усунення помилок
Нечітке поле зору	Занадто низьке положення конденсора Діафрагма конденсора закрита	Підняти конденсор Відкрити діафрагму
Темні об'єкти в полі зору, що зміщуються при повороті окуляра	Забруднення окуляра Об'єktiv чи окуляр контаміновані грибами Подряпини на лінзах окуляра	Почистити окуляр Відремонтувати окуляр Замініть окуляр
Недостатньо чітке зображення	Можливо препарат встановлено неправильно В імерсійній олії знаходяться пухирці повітря Неякісна імерсійна олія	Перевернути предметне скло Відвести імерсійний об'єktiv у бік і повторити процедуру Замінити на якісну імерсійну

Помилки	Вірогідна причина	Усунення помилок
	Лінзи можуть бути забруднені	олію Почистити лінзи
Зображення нечітке при малому збільшенні	Поверхня лінзи об'єктиву може бути забруднена імерсійною олією Поверхня лінзи окуляру може бути забруднена Пошкоджені лінзи	Почистити лінзи Почистити лінзи Встановити нові лінзи

Незначні помилки:

- ПП – помилка при підрахунку (результати контролю відрізняються на дві градації, наприклад, КСБ 1(+) і КСБ 3(+).
- НХП – низькохибнопозитивний (при перегляді мазка з результатом лабораторії 4–9 КСБ в 100 п/з. КСБ лабораторією-куратором не знайдені).
- НХН – низькохибнонегативний (при перегляді мазка з результатом лабораторії КСБ (-)лабораторією-куратором знайдені 4–9 КСБ в100 п/з).

Значні помилки:

- ВХП – високохибнопозитивний (при перегляді мазка з результатом лабораторії КСБ 1 (+), 2 (+) чи 3(+)) лабораторією-куратором КСБ не знайдені).
- ВХН – високохибнонегативний (при перегляді мазка з результатом лабораторії КСБ (-) лабораторією-куратором знайдені КСБ 1(+), 2(+) чи 3(+)).

Культуральні методи дослідження

Культуральні методи дослідження рекомендовані для лабораторій національного чи обласного рівнів.

Культуральний метод – це виявлення МБТ шляхом посіву біоматеріалу на поживні середовища. Культуральні методи аналізу на твердому і рідкому середовищах рекомендовані ВООЗ, але для них необхідний більш високий

рівень заходів забезпечення біобезпеки. Використовуються переважно щільні яєчні середовища Йєнсена-Левенштейна або Гельберга, в складі яких є гліцерин. Перед посівом нестерильний біоматеріал змішують з рівним об'ємом 2-3% розчину соляної кислоти на 15-20 хвилин, потім нейтралізують кислоту, центрифугують, зливають надосадкову рідину, а осадок засівають на поживне середовище. МБТ ростуть повільно і відповідь отримують не раніше, ніж через 3-8 тижнів. Первага метода в більш високій чутливості – для виявлення МБТ достатньо 50-100 клітин в 1 мл мокроти; метод дозволяє отримати чисту культуру, провести типізацію МБТ і визначити їх чутливість до протитуберкульозних препаратів.

Культуральний метод аналізу з використанням рідкого середовища дорожче методу із застосуванням твердого середовища, але результати можна отримати швидше і він більш чутливий.

Культуральні методи дослідження (як на твердому, так і рідкому середовищі) необхідні **для контролю за лікуванням хворих на ХРТБ!!**

Живильні середовища, посіви і культивування

Характеристика живильних середовищ

Виділяють 3 основних групи:

- щільні живильні середовища на яєчній основі;
- щільні або напіврідкі живильні середовища на агаровій основі;
- рідкі живильні середовища;
- рідкі синтетичні і напівсинтетичні живильні середовища.

Переваги яєчних середовищ:

- економічність (найбільш дешеві зі всіх середовищ) і простота приготування;
- можуть зберігатися в холодильнику до 4 тижнів;
- добре підтримують ріст більшості штамів мікобактерій туберкульозу;

- дозволяють проводити попередню ідентифікацію мікобактерій за морфологією колоній;
- малахітовий зелений, що входить до складу середовищ, пригнічує ріст супутньої мікрофлори, яка росте швидко, зменшуючи вірогідність контамінації посівів.

Недолік яєчних середовищ:

- поява росту мікобактерій на протязі від 2 до 12 тижнів і більше,
- якщо у процесі культивування з'являється ріст супутньої мікрофлори, він відмічається на всій поверхні живильного середовища, внаслідок чого ці пробірки доводиться відбраковувати.

Для підвищення результативності бактеріологічного дослідження рекомендується застосовувати посів діагностичного матеріалу одночасно на 2-3 живильних середовища різного складу. Найбільш використовуються в Україні 2 яєчних середовища – Левенштейна-Єнсена і Фінна-П.

Середовище Левенштейна-Єнсена

Застосовується як стандартне середовище для первинного виділення збудника туберкульозу і визначення його чутливості до протитуберкульозних препаратів (рис. 19).



Рис. 19. Середовище Левенштейна-Єнсена.

Це щільне яєчне середовище, на якому якісний ріст МБТ після посіву клінічного матеріалу з позитивним результатом мікроскопії на кислотостійкі бацили (КСБ). МБТ розмножуються вкрай повільно: період подвоєння 18-24 годин. Тому для отримання видимого росту типових колоній потрібно не менше 4-6 тижнів. До складу середовища Левенштейна-Єнсена входить гліцерин, який сприяє росту *M. tuberculosis*.

Для виділення *M. bovis* рекомендується варіант середовища Левенштейна-Єнсена, до складу якого замість гліцерину входить 0,5 % розчин пірувату натрію.

Середовище Фінна-II

Середовище Фінна-II рекомендоване в Україні як друге стандартне середовище для виділення мікобактерій.

Відрізняється від середовища Левенштейна-Єнсена тим, що **замість *L-аспарагіна*** в ньому використовується **глутаміновокислий натрій** (глутамат натрію) і склад солей розрахований таким чином, що кінцева **кислотність середовища має нижчі значення (рН 6,3–6,5)**, ніж у середовищі Левенштейна-Єнсена (рН 7,2–7,4), і більшу стабільність.

Ці властивості обумовлюють більш високу ефективність середовища при посіві матеріалу, обробленого лужними детергентами.

Ріст мікобактерій з'являється на цьому середовищі на декілька днів раніше, ніж на середовищі Левенштейна-Єнсена, а відсоток виділення культур на 6,0-8,0 % вищий.

Мікроскопічне та бактеріологічне дослідження повинні проводитися паралельно з однієї і тієї ж проби діагностичного матеріалу.

Оцінка та облік результатів посівів діагностичного матеріалу на щільному середовищі

При оцінці результатів культурального дослідження діагностичного матеріалу необхідно дотримуватись наступних правил.

1. Спостереження за посівами і перегляд пробірок з посівами слід проводити щотижня.
2. За відсутності росту посіви повинні витримуватися в термостаті протягом 10 тижнів. Негативний результат бактеріологічного дослідження може бути виданий тільки після закінчення цього терміну інкубації.
3. Під час чергового перегляду слід відбирати всі пробірки, в яких є ріст колоній, розставляючи їх по порядку номерів реєстрації матеріалу.
4. **При оцінці результатів реєструвати наступні параметри:**

- **"появу росту"** – дату появи росту в пробірках (в тому випадку, якщо ріст з'являється одночасно в обох пробірках). Якщо культура виросла тільки в одній з пробірок (при цьому є хороший ріст культури у відповідні терміни), а в другій ріст відсутній, рекомендується зареєструвати дату появи росту і показник росту в пробірці з культурою, що виросла, і використовувати її для подальшої роботи, не чекаючи появи росту колоній в іншій пробірці. Другу пробірку залишають в термостаті для подальшої інкубації і за наявності в ній росту надалі реєструють отримані результати;
- **"інтенсивність росту"** – число колоній, що виросли в кожній з пробірок.

За наявності одночасного росту у всіх пробірках рекомендується оцінити кількість колонієутворюючих одиниць у кожній пробірці, що засіяна даним матеріалом. Цей показник має важливе діагностичне і прогностичне значення, особливо якщо посіви проводяться в динаміці спостереження за хворим в процесі хіміотерапії;

5. **"проріст"** сторонньою мікрофлорою або грибами, при наявності такого;
6. **"відсутність росту"** (вказаний параметр реєструється через 10 тижнів культивування).

В усіх випадках отримання росту, щоб уникнути невірною результату, відповідь про виділення кислотостійких мікобактерій видається тільки після мікроскопії мазка з колоній, що вирости, забарвленого за методом Ціля–Нільсена.

Характеристика колоній *M. Tuberculosis* (рис. 20)

Вірулентні культури МБТ зазвичай ростуть на щільних живильних середовищах у вигляді *R-колоній* різної величини і вигляду, мають жовтуватий або злегка кремовий відтінок (колір слонової кістки), шорстку поверхню, що нагадує манну крупу або цвітну капусту. Пігмент не дифундує.

Колонії, як правило, сухі, зморшкуваті, але у разі дисоціації можуть зустрічатися і вологі, злегка пігментовані колонії, рожево-жовтий пігмент яких різко відрізняється від оранжевого або жовтого пігменту сапрофітних або деяких не туберкульозних мікобактерій. Останні зазвичай ростуть в *S-формі*.



Рис. 20. Колонії *M. Tuberculosis* на середовищі Левенштейна-Єнсена.

На середовищі Фінна-ІІ колонії часто виглядають *вологішими*, ніж на середовищі Левенштейна-Єнсена.

Після курсу хіміотерапії від хворих на туберкульоз можуть виділятися гладкі колонії з вологим ростом (*S-форми*).

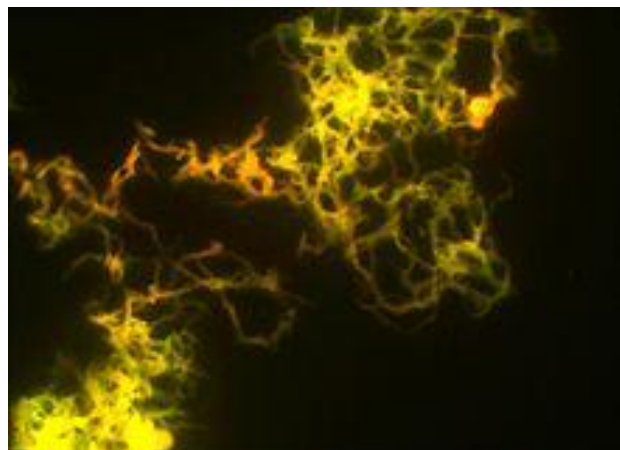
При приготуванні мазків для мікроскопічного дослідження колонії МБТ проявляють свої фізико-хімічні особливості: вони не емульгуються в ізотонічному розчині, а утворюють зернисту крихто подібну суспензію.

При мікроскопічному дослідженні мазків з колоній, забарвлених за Цілем-Нільсеном, виявляються яскраві малиново-червоні паличкоподібні бактерії, що розташовуються поодинокі або групами.

При культивуванні на рідких середовищах або в умовах підвищеної вологості *M. tuberculosis* утворюють скупчення або *переплетення у вигляді "кіс"* – феномен *"корд-фактора"*.

Метод мікрокультур Прайса

Густий мазок мокротиння на склі обробляють кислотою, не фіксують і поміщають в сироватку; через 5-7 днів фарбують за Цілем-Нільсеном; при наявності **корд-фактора** видно злиплі в джгути мікобактерії (рис. 21).



Метод мікрокультур Прайса

Корд-фактор при люмінесцентній мікроскопії

Рис. 21. Корд-фактор.

Нетуберкульозні і авірулентні сапрофітні мікобактерії можуть варіювати за формою колоній і морфологією клітин. Деякі з них грубіші, товщі, іноді менш інтенсивно забарвлені, рідко утворюють джгутоподібні скупчення ("корд-фактор", як правило, відсутній). Проте деякі види не

туберкульозних мікобактерій (фотохромогенні) можуть рости у вигляді характерної для мікобактерій туберкульозу R-формі.

Багато нетуберкульозних і сапрофітних мікобактерій мають кислотостійкі зерна, схожі за морфологією з такими у вірулентних мікобактерій туберкульозу.

Остаточний висновок про належність виділеної культури до комплексу *M. tuberculosis* можна зробити тільки після проведення первинної диференціації культури, що здійснюється в ході постановки ТМЧ. При необхідності проводиться подальша ідентифікація виділеної культури, що дозволяє віднести мікобактерії до того або іншого виду.

Облік результатів посіву

При виділенні культури кислотостійких мікобактерій, що відповідають певним характеристикам, а саме:

- поява росту колоній на щільних живильних середовищах не раніше, ніж через 3–4 тижні інкубації,
- наявність колоній характерної морфології і забарвлення,
- мікроскопічне підтвердження кислотостійкості виділеного мікроорганізму при забарвленні за методом Ціля-Нільсена, – слід провести кількісну оцінку інтенсивності росту.
-

Інтенсивність бактеріовиділення визначається за 3-х бальною системою (рис. 22):

(1 +) – 1-20 КСБ («мізерне» бактеріовиділення);

(2 +) – 21-100 КСБ («помірне» бактеріовиділення);

(3 +) -> 100 КСБ («рясне» бактеріовиділення).



Рис. 22. Інтенсивність бактеріовиділення.

Автоматичні та напівавтоматичні аналізатори

Рідкі середовища (або бульйони) забезпечують більш швидке отримання результату порівняно з щільними. Фаза логарифмічного росту популяції мікобактерій досягається вже до 5–10-го дня після інокуляції в бульйон матеріалу від хворого на туберкульоз.

У 1977 р. G. Middlebrook описав спосіб радіометричної детекції росту мікобактерій в селективному рідкому середовищі, що поклато початок створення найбільш поширених і комерційно доступних систем бульйонного культивування:

- BACTEC 460 (BD),
- BBL Septi-Chek AFB (BD),
- BBL MGIT (BD),
- BACTEC MGIT 960 (BD),
- MB/BacT (Organon Teknika),
- BacT/Alert 3D (BioMerieux).

Напівавтоматична система BACTEC 460 для вирощування та ідентифікації мікобактерій використовує рідке середовище Middlebrook 7H12. Ріст мікобактерій в ньому визначається шляхом реєстрації рівня

міченого CO₂, що утворюється в процесі мікробної утилізації субстрату з пальмітиновою кислотою, що містить радіоактивний ¹⁴C.

Впровадження ВАСТЕС 460 дозволило скоротити терміни виявлення збудника туберкульозу до 14 днів, а також проводити швидку ідентифікацію комплексу *M. tuberculosis* і визначати чутливість мікобактерій до медикаментозних препаратів.

Золотим діагностичним стандартом для практичних лабораторій є поєднання подібної системи з щільними середовищами, що дозволяє досягти кращих результатів як за термінами, так і за ефективністю культурального виявлення мікобактерій.

Принцип: мануальна двофазна система BBL Septi-Chek AFB, об'єднуюча в єдине ціле флакон з рідким середовищем і косяки щільних середовищ. Крім рідкої фази, бульйону Middlebrook 7H9, в системі BBL Septi-Chek AFB присутні три щільні середовища: неселективний агар Middlebrook 7H11, яєчне середовище Левенштейна-Єнсена і шоколадний агар, які формують щільну фазу в атмосфері, збагаченої CO₂. Посівний матеріал інокують в бульйон, що заповнює флакон у нижній частині системи. Щодня вручну флакон перевертають, щоб бульйон обмивав косяки.

Крім мікобактерій на середовищах даної системи можуть рости і інші мікроорганізми. Швидкість росту мікобактерій туберкульозу на Septi-Chek AFB вище, ніж на ізольованому щільному середовищі, але трохи нижче, ніж на системі ВАСТЕС 460.

Більш досконала технологія флуоресцентної реєстрації росту мікроорганізмів (експрес-метод), яка лягла в основу розробки мануальної (неавтоматизованої) системи BBL MGIT (BD), що з'явилася в лабораторіях з 1994 року.

Пробірка MGIT (Mycobacteria Growth Indicator Tube), крім 4,0 мл модифікованого середовища Middlebrook 7H9, містить у придонній частині під силіконом флуоресцентний індикатор – тріс-4,7-дифеніл-1,10-

фенантролин рутеніум хлорид пентагідрат, "погашений" високими концентраціями кисню.

В процесі споживання виростаючими клітинами розчиненого в середовищі O₂ індикатор починає світитися у променях джерела ультрафіолетового опромінення. Збільшення мікробної популяції супроводжується посиленням світіння, інтенсивність якого можна оцінити за допомогою транс ілюмінатора або портативного світловимірювального приладу Micromgit.

Система BBL MGIT, призначена для швидкої культуральної діагностики мікобактеріозів і визначення чутливості мікобактерій до медикаментозних препаратів.

Система бульйонного культивування мікобактерій **ВАСТЕС MGIT 960** (BD) – це повністю автоматизований комплекс для одночасної інкубації та моніторингу 960 пробірок (рис. 23).

Культивування мікобактерій здійснюється в індикаторній пробірці MGIT, що містить 7,0 мл модифікованого середовища Middlebrook 7H9. Дана система дозволяє виявляти у клінічних зразках більшість штамів МБТ протягом 10–20 днів і визначати чутливість культури збудника до медикаментозних препаратів в термін, що не перевищує двох тижнів.

ВАСТЕС MGIT 960 є єдиною повністю автоматизованою системою для визначення чутливості мікобактерій до медикаментозних препаратів, яка забезпечує прискорене тестування культури до практично усіх препаратів, в тому числі і до піразинаміду.



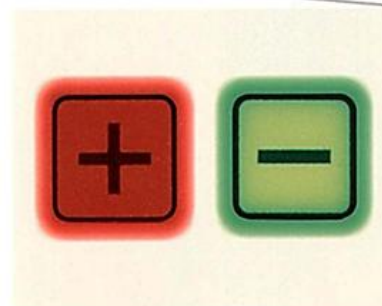
Выбор операции



Сканирование штрих-кода



Загрузка ячейки, выделенной зеленым индикатором



Указатели положительной и отрицательной детекции МБ

Рис. 23. БАСТЕС MGIT 960

Основні принципи культивування мікобактерій на рідких живильних середовищах

Враховуючи істотні трудовитрати персоналу при виконанні процедур дослідження, а також досить високу вартість витратних матеріалів, мікробіологічні дослідження діагностичного матеріалу з використанням автоматизованих систем бульйонного культивування рекомендується проводити в наступних випадках:

- для диференціальної діагностики туберкульозу;
- вперше виявленим хворим на туберкульоз (1 категорія);
- хворим з поширеним і гостро прогресуючим туберкульозним процесом;
- при рецидивах туберкульозу (2 категорія);
- діти (3 категорія).

Матеріалом дослідження можуть бути респіраторні зразки, в першу чергу мокротиння, будь-які біологічні рідини (крім крові і сечі), а також виділення ран, промивні води шлунку і тканини організму, отримані при хірургічних втручаннях.

Умови збору діагностичного матеріалу і його якість повинні відповідати існуючим вимогам, оскільки преаналітичний етап значно впливає на результати дослідження.

Найбільш зручною ємкістю для збору клінічних зразків слід вважати стерильну градуйовану пробірку на 50,0 мл з кришкою, що загвинчується і перешкоджає розбризкуванню матеріалу при відкриванні.

Успіх культурального дослідження з допомогою аналізаторів в значній мірі залежить від якості пробопідготовки діагностичного зразка. Перед інокуляцією у рідкі середовища розрідження і деконтамінацію матеріалу рекомендується проводити з використанням NALC-NAOH (за методом Kubika) з подальшим отриманням осаду в результаті центрифугування (при 3000g протягом 15 хвилин).

Цей метод дозволяє перетворити зразок в сконцентровану гомогенну суспензію, в якій практично знищена будь-яка мікрофлора, крім мікобактерій, що зберегли життєздатність. При такій обробці одним з факторів збільшення ефективності культурального (як і мікроскопічного) дослідження є збереження реакції середовища, близькою до нейтральної (рН 6,8).

Виявлення мікобактерій з використанням автоматизованої системи бульйонного культивування обов'язково передбачає паралельний посів зразка на щільне ячне середовище. Інокуляцію діагностичного матеріалу в рідке середовище проводять одночасно з посівом на щільне ячне середовище, що необхідно для більш повного задоволення живильних потреб мікобактерій, які можуть дати ріст лише на одному із середовищ. Цей принцип дозволяє також уникнути деяких помилок, пов'язаних з технічними похибками, неправильною інтерпретацією росту в позитивній пробірці.

З метою підтвердження належності культури, що виросла на рідкому середовищі будь-якого аналізатора, до комплексу МБТ необхідно проводити бактеріоскопію за Цілем-Нільсеном і субкультивування на щільному ячному середовищі вмісту позитивної процесорної ємкості. Використання ПЛР-аналізу з метою диференціювання комплексу МБТ і не туберкульозних мікобактерій (НТМБ) при отриманні позитивних результатів на автоматизованій системі може на 7 і більше днів скоротити час бактеріологічної діагностики туберкульозу.

Застосування автоматизованої системи MGIT 960 для бактеріологічної діагностики туберкульозу

Прилад VASTEC MGIT 960 працює на принципах технології MGIT: індикаторні пробірки після внесення у них діагностичного матеріалу інкубуються у приладі, і періодично піддаються УФ-тестуванню.

Прилад складається з трьох секцій, що вміщують по 320 пробірок кожна, таким чином, максимальне одночасне завантаження приладу – 960

пробірок. Контроль за внесеним до індикаторної пробірки матеріалом здійснює вбудований у прилад комп'ютер.

Рідкокристалічний дисплей і спеціальні індикатори на кожній секції дають інформацію про наявність позитивних і негативних посівів.

Важливим компонентом системи ВАСТЕС MGIT 960 є пробірка MGIT (Mycobacteria Growth Indicator Tube) з флуоресцентним індикатором, світіння якого погашене киснем. Мікробна популяція, що розмножується, активно поглинає кисень, вивільняючи флуоресцентний компонент, який починає світитися в промені ультрафіолетового світла.

Прискорення росту мікобактерій і зниження контамінації забезпечується доповненням бульйону 7H9 рідкою живильною добавкою OADC і п'ятьма ліофілізованими антибіотиками PANTA, які вносять до індикаторної пробірки перед посівом.

OADC містить чотири живильні компоненти: олеїнову кислоту, бичачий сироватковий альбумін, декстрозу і каталазу.

Суміш PANTA включає препарати, що пригнічують життєдіяльність Грам+, Грам– і анаеробних бактерій, а також грибів; вона складається з поліміксину В, амфотерицину В, налідиксової кислоти, триметоприму і азлоциліну.

Прилад ВАСТЕС 960 оцінює *пробірку як позитивну*, якщо кількість живих мікроорганізмів у ній досягла **105–106 на 1,0 мл середовища**.

Оцінка результатів культивування на автоматизованій системі

Позитивний результат, що свідчить про зростання культури в індикаторній пробірці, може реєструватися з 4-го дня після інокуляції, позитивний сигнал в 1–3-у добу може бути розцінений як мікробна контамінація зразка. Для підтвердження росту мікобактерій, а також ідентифікації МБТ у позитивній пробірці проводяться наступні процедури:

- Видаливши позитивну або негативну пробірку з приладу, слід візуально оцінити прозорість бульйонного середовища для визначення

можливого росту мікобактерій. Зазвичай ріст культури МБТ виявляється у вигляді характерних придонно розташованих пластівців, які при незначному струшуванні піднімаються і поширюються по усьому середовищу, при цьому рідке середовище зберігає прозорість. Помутніння середовища у позитивній пробірці свідчить про можливу контамінацію сторонньою флорою.

- Приготувати мазок за методом Ціля-Нільсена для виявлення кислотостійких мікобактерій.
- Провести субкультивування на щільне ячне середовище для підтвердження росту типових колоній мікобактерій.
- Провести субкультивування на середовищі Левенштейна-Єнсена, що містить 500 мкг/мл саліциловокислого натрію або 500 мкг/мл паранітробензойної кислоти, для диференціації МБТ і не туберкульозних мікобактерій.
- При необхідності, для того, щоб переконатися у відсутності контамінації позитивної пробірки сторонньою мікробною флорою, слід приготувати мазки із забарвленням за Грамом і провести пересіви вмісту пробірки на чашку з кров'яним агаром. Наявність росту на чашці у результаті інкубації протягом годин при 37 0С свідчить про мікробну контамінацію матеріалу. При наявності ніацинового, нітратредуктазного або імунохроматографічного тестів доцільно провести ідентифікацію позитивної культури отриманої після культивування в автоматизованій системі.

Порядок видачі результату

Позитивний результат, що свідчить про виділення культури МБТ, видається на 5–41-й день за наступних умов:

- позитивний сигнал приладу + наявність мікроколоній у вигляді "кіс" при бактеріоскопії, позитивної проби, забарвленої за Цилем-Нільсеном;

- позитивний сигнал приладу + кислотостійкі бактерії при бактеріоскопії + характерний ріст колоній на щільному середовищі + відсутність росту на середовищі Левенштейна-Єнсена, що містить 500 мкг/мл саліциловокислого натрію;
- позитивний сигнал приладу + відсутність кислотостійких бактерій і мікроколоній контамінуючої мікрофлори при бактеріоскопії + характерний ріст колоній на щільному середовищі + відсутність росту на середовищі Левенштейна-Єнсена, що містить 500 мкг/мл саліциловокислого натрію;
- позитивний сигнал приладу + кислотостійкі бактерії і мікроколонії контамінуючої мікрофлори при бактеріоскопії + характерний ріст колоній мікобактерій на щільному середовищі (за відсутності контамінації в контрольному мазку з даного щільного середовища) + відсутність росту на середовищі Левенштейна-Єнсена, що містить 500 мкг/мл саліциловокислого натрію;
- позитивний сигнал приладу + кислотостійкі бактерії або відсутність кислотостійких бактерій і мікроколоній контамінуючої мікрофлори при бактеріоскопії + позитивний результат ПЛР з праймерами для МБТ з позитивної процесорної ємкості.

Гарантований негативний результат росту МБТ на автоматизованих системах видається на 42-й день після перегляду посіву на щільному середовищі. За наявності ознак можливого росту МБТ на щільному середовищі (наприклад, є колонії у вигляді пластівців у рідкій фазі над косяком) негативна відповідь видається за результатами росту мікобактерій на щільному середовищі через 12 тижнів (84 дні).

Контроль якості виконується при отриманні кожної нової партії пробірок з використанням колекційних штамів мікобактерій: *M. tuberculosis* ATCC 27294, *M. kansasii* ATCC 12478 і *M. fortuitum* ATCC 6841. Контроль якості можливо проводити за допомогою інших лабораторних штамів.

Зокрема, штам *M. tuberculosis* H37Rv (при посіві в пробірку MGIT 0,5 мл мікробної суспензії, приготованої по 0,5 стандарту McFarland і розведенню 1:100) повинен дати ріст, підтверджений позитивним сигналом ВАСТЕС 960, на 7–9-й день після внесення до приладу.

Дослідження мокротиння при діагностиці туберкульозу

(Наказ МОЗ України від 04.09.2014 № 620)

- Дворазове дослідження мокротиння на КСБ методом мікроскопії мазка проводять лише у разі відсутності досліджень в лабораторії з мікробіологічної діагностики ТБ I рівня та дослідження мокротиння на рідке середовище – 1 зразок і на щільне середовище – 1 зразок з проведенням ТМЧ на рідке середовище до ПТП I ряду;
- Дослідження 2-х зразків мокротиння культуральним та молекулярно-генетичним методами: 1 зразок мокротиння для молекулярно-генетичного методу діагностики та посіву на рідке середовище з подальшим визначенням ТМЧ цими методами, а другий зразок мокротиння – на щільне середовище з ТМЧ до препаратів II ряду;
- При отриманні позитивного результату молекулярно-генетичного методу обстеження з визначенням стійкості до рифампіцину проводять ТМЧ на рідкому середовищі до препаратів I ряду, аміноглікозидів (амікацину або канаміцину) та фторхінолонів (левофлоксацину)
- При недоступності дослідження на рідке середовище проводять дворазове дослідження на щільне середовище з одноразовим визначенням ТМЧ до ПТП I та II ряду;
- Під час очікування результату молекулярно-генетичних тестів у вище зазначених контингентів варто розпочати заходи інфекційного контролю;
- Молекулярно-генетичні діагностичні тести для визначення наявності комплексу *M. tuberculosis* та культуральні дослідження на рідке

- середовище слід проводити незалежно від результатів бактеріоскопії всім хворим на туберкульоз легень (1,2,3 кат.) до початку лікування;
- Культуральні та молекулярно-генетичні дослідження для визначення комплексу *M. tuberculosis* у біопсійному матеріалі виконують тільки, якщо зразок не був поміщений у формалін або в інший консервант;
 - Матеріал на мікроскопічне та культуральне дослідження необхідно направляти на дослідження до початку лікування; в іншому разі зразки потрібно направити не пізніше 7 діб від початку лікування;
 - Потрібно одержувати спонтанно виділене мокротиння; в іншому разі слід використовувати індукцію мокротиння або бронхоальвеолярний лаваж;
 - Якщо є клінічні ознаки та симптоми ТБ, гістологічне підтвердження діагнозу ТБ – лікування варто розпочати, не очікуючи результатів культурального дослідження. Для пацієнтів, у яких виявлені негативні результати культурального дослідження, слід продовжувати стандартну рекомендовану схему лікування;
 - Гістологічне дослідження біопсійного матеріалу уражених органів на ТБ (лімфовузли; гній, який аспірований з лімфовузлів; плевральний біоптат; хірургічний зразок; матеріал, який узятий під контролем рентгенологічного обстеження)ю

ПОРІВНЯННЯ МЕТОДІВ ДОСЛІДЖЕННЯ НА ТУБЕРКУЛЬОЗ

Порівняння чутливості методів дослідження на туберкульоз

Тест	Мінімальне значення для виявлення (КУО*/мл)
Культура	10-100
Genexpert MTB/RIF	50-150
LPA	200-10000
Мікроскопія	5000-10000

Примітка: *КУО – колоній-утворююча одиниця.

Порівняння термінів виконання методів дослідження на туберкульоз

Тест	Час
Genexpert MTB/RIF	2 години
Мікроскопія	3 години
LPA	2 дні
Рідке середовище на ТМЧ	15-40 днів
Щільні середовища на ТМЧ	30-75 днів

Порівняльні вимоги до приміщення та персоналу при проведенні досліджень на туберкульоз

Тест	Кваліфікація	Інфраструктура
Мікроскопія	+	Лабораторія I рівня
Genexpert MTB/RIF	+	Лабораторія I рівня
LPA	++/+++	Лабораторія II рівня/ Лабораторія III рівня
Культура	+++	Лабораторія II рівня
Культура і ТМЧ	+++	Лабораторія III рівня

Порівняння швидких методів діагностики туберкульозу за вартістю

Тест	Час	Вартість/тест
Genexpert MTB/RIF	2 години	78 грн
LPA (Hain тест)	2 дні	130 грн
Рідке середовище на ТМЧ (Bactec MGIT)	15-40 днів	810 грн

ТЕМА 3

ІНФЕКЦІЙНИЙ КОНТРОЛЬ В ЛАБОРАТОРІЯХ ПРОТИТУБЕРКУЛЬОЗНОЇ СЛУЖБИ

Конкретні цілі:

- Вивчити шляхи поширення МБТ в лабораторії.
- Вивчити основні положення та рівні інфекційного контролю (ІК) у фтизіатрії.
- Вміти проводити оцінку ризику в лабораторіях протитуберкульозної служби.
- Вивчити засоби ІК в лабораторіях протитуберкульозної служби.
- Вивчити засоби індивідуального захисту.

Персонал лабораторій піддається професійному ризику інфікування патогенними мікроорганізмами, які можуть викликати різні (від субклінічних до загрозливих для життя) інфекції.

Лабораторними інфекціями вважаються будь-які інфекції, пов'язані з роботою в лабораторії, незалежно від характеру їх перебігу (субклінічні / клінічно маніфестні форми). Розроблені програми лабораторної безпеки (R. Pike з співавт.). Незважаючи на давно існуючі практичні рекомендації, лабораторні інфекції продовжують реєструватися, що ймовірно пов'язано з відсутністю відповідних інструкцій і / або низької комплаєнтності персоналу до правил лабораторної безпеки (Andreas Voss, Paul E. Verweij). Поява нових і повернення старих збудників інфекцій, таких як ВІЛ, вірус гепатиту С і лікарсько-стійкі штами МБТ, не тільки відродили інтерес до заходів біобезпеки, а і ймовірно підвищили комплаєнтність до правил безпечної роботи в лабораторії.

Стратегія профілактики і контролю лабораторних інфекцій повинна бути спрямована на стримування поширення біологічно небезпечних агентів,

а також на проведення освітніх програм серед персоналу лабораторій з питань, що стосуються професійного ризику інфікування. В цілому всі програми біологічної безпеки складаються з рекомендацій по лабораторній практиці, дизайну лабораторій, використання засобів індивідуального захисту і безпечного обладнання. Дотримання рекомендацій з біологічної безпеки дозволяє зменшити ризик і наслідки розвитку лабораторних інфекцій.

Загальні положення інфекційного контролю за туберкульозом у фтизіатрії

(Наказ МОЗ України від 04.09.2014 № 620) [32, 50]

Інфекційний контроль (ІК) є основним компонентом у зниженні показників захворюваності та смертності від туберкульозу. Заходи ІК мають бути впроваджені у всіх закладах охорони здоров'я, закладах масового скупчення людей (напр.: тюрми, притулки для безхатків), у громадських місцях та у домогосподарствах. Для координації заходів ІК має бути створено національний/регіональний комітет та розроблено національні настанови/регіональні накази щодо інфекційного контролю. Інфекційний контроль за туберкульозом має стати частиною великих зусиль з інфекційного контролю та включати такі питання як безпека голок, гігієна рук та інші універсальні профілактичні заходи.

ІК за туберкульозом відрізняється у закладах, що були описані вище. Зазвичай, ІК у всіх закладах включає 3 компоненти:

- 1) адміністративні заходи, що включають в себе сортування, ізолювання пацієнтів та профілактичну терапію;
- 2) заходи охорони навколишнього середовища, що включають в себе системи вентиляції та ультрафіолетового (УФ) опромінювання;
- 3) засоби особистого захисту, такі як використання певних респіраторів.

Адміністративний контроль

Адміністративний контроль – це тактика та заходи, спрямовані на швидку ідентифікацію інфекційних випадків для попередження поширення інфекції та інфікування інших осіб. Адміністрація закладу відповідальна за інфекційний контроль. Вони складають план інфекційного контролю у закладі, до якого входить також навчання персоналу тактиці та процедурам інфекційного контролю.

Експрес діагностика всіх форм туберкульозу та початок відповідного лікування є одним із найбільш важливих адміністративних заходів інфекційного контролю, включаючи застосування тестів експрес діагностики. Подальшою задачею адміністративного контролю є розподіл потоків хворих таким чином, щоб особи на заразні форми туберкульозу, мультирезистентний туберкульоз (МРТБ) були відділені від інших пацієнтів, особливо від ВІЛ-інфікованих. Ідеальний варіант є ізоляція кожного хворого. У більшості випадків такі заходи не доступні і інфекційний контроль здійснюють шляхом групування пацієнтів із однаковими формами туберкульозу в одну палату.

Пацієнтів на заразні форми туберкульозу розміщують в окремих палатах так, щоб в ці кімнати не потрапляли особи із підозрою на МРТБ. ВІЛ-інфікованих хворих з туберкульозом або підозрою на туберкульоз мають розміщувати в окремих палатах. Не варто розміщувати ВІЛ-інфікованих хворих разом з іншими хворими на туберкульоз. Не припустимо розміщувати ВІЛ-інфікованих в палати з хворими на МРТБ або з підозрою МРТБ.

Розрізняють три рівні ізоляції з метою інфекційного контролю в лікарнях:

- палати від'ємного тиску, в яких тиск повітря вимірюється постійно або автоматично;
- окремі палати, де немає від'ємного тиску, але вентиляція з яких виходить поза межі будівлі;
- ліжка у палатах, для яких особливі інженерні норми не вимагаються.

Хворі на лабораторно підтверджений МРТБ розміщуються у палати з

приблизно однаковим профілем медикаментозної резистентності МБТ. Після припинення бактеріовиділення методом мікроскопії мокротиння хворі з ризиком МРТБ розміщуються в окремі палати до отримання результатів ТМЧ.

Для всіх пацієнтів з туберкульозом варто проводити оцінку ризику медикаментозної резистентності та ВІЛ-інфекції. Для хворих на ВІЛ-інфекцію дуже важливо брати до уваги, що вони є групою високого ризику МРТБ та з розширеною резистентністю туберкульозу (РРТБ).

Якщо очевидної клінічної чи соціально-економічної потреби, такої як важкий стан хворого, або безпритульність, немає, то пацієнтів з ТБ на будь-якому етапі захворювання не можна класти до лікарні для проведення діагностичних тестів або для лікування.

Пацієнтів з підозрою на туберкульоз органів дихання треба госпіталізувати в окреме приміщення від хворих з іншими формами туберкульозу.

Пацієнтів з ТБ органів дихання варто розміщати окремо від пацієнтів з ослабленим імунітетом – наприклад, шляхом розміщення в окремій палаті або в окремому відділенні чи в палаті від'ємного тиску в цьому ж відділенні.

Усіх відвідувачів дитини з туберкульозом, яка перебуває у лікарні, слід перевіряти в рамках відстеження контактів та не допускати до інших пацієнтів, поки вони не будуть виключені як джерело інфекції.

Пацієнтів з туберкульозом з позитивним мазком без факторів ризику щодо МРТБ варто тримати в окремому приміщенні, поки:

- вони не пройдуть двотижневе лікування за стандартним режимом;
- або їх не випишуть із лікарні.

Аерозольні процедури, такі як бронхоскопія, індукція мокротиння або інгаляція, мають проводитися у належним чином обладнаному та вентиляваному приміщенні для:

- всіх пацієнтів, які перебувають у палаті для ВІЛ-інфікованих, незалежно від того, чи розглядається у них можливість наявності

туберкульозу;

- всіх пацієнтів, у яких в якості можливого розглядається діагноз туберкульоз, в будь-яких закладах.

Пацієнти з туберкульозом вважаються заразними якщо при госпіталізації мазок мокротиння в них позитивний та мають знаходитися у палаті від'ємного тиску, поки вони не пройдуть мінімум двотижневий курс відповідної комплексної медикаментозної терапії та не продемонструють переносимість приписаного лікування, здатність і згоду дотримуватися режиму лікування.

Особи, які мають негативний мазок (тобто три негативні зразки в різні дні; при цьому зразки були отримані спонтанно, якщо можливо, або шляхом бронхоскопії чи промивання бронхів в разі неможливості) мають дуже низький ризик трансмісії туберкульозу і не потребують спеціальних заходів інфекційного контролю.

Стаціонарних пацієнтів з туберкульозом органів дихання та позитивним мазком мокротиння варто просити (з поясненням) надягати хірургічну маску, коли вони виходять зі своєї палати, поки вони не пройдуть двотижневе медикаментозне лікування.

Пацієнти з підозрою на інфекційний МРТБ або з відомим інфекційним МРТБ, які госпіталізуються, повинні розміщатися у палаті від'ємного тиску. Якщо в даній лікарні такого приміщення немає, пацієнта слід перевести до лікарні, де є таке приміщення і клініцист, який має досвід ведення складних медикаментозно-резистентних випадків. Догляд необхідно забезпечувати у палаті від'ємного тиску доти, доки не буде встановлено, що пацієнт незаразний або не має медикаментозної резистентності, а в ідеальному випадку – доки не буде отримано негативний результат культурального дослідження.

Другою важливою складовою адміністративного контролю є тривалість перебування у стаціонарі, яке підвищує ризик внутрішньолікарняної передачі інфекції.

Внутрішньолікарняне інфікування імовірноше відбувається на етапі діагностики, оскільки дані пацієнти ще не мають діагнозу, а тому не перебувають на лікуванні, що зменшує їх заразність. Варто розділити амбулаторні потоки таким чином, щоб найбільш уразливі контингенти, до яких належать діти, підлітки та ВІЛ-інфіковані не перехрещувались з амбулаторними пацієнтами. Це може включати розділення місць для очікування, місця для очікування на вулиці, надання можливості пацієнтам з кашлем пройти аналізи в кінці дня, тощо.

Інженерний контроль

В основі інженерного контролю (контролю за навколишнім середовищем) є припущення, що неліковані хворі на туберкульоз можуть потрапляти в приміщення, незважаючи на заходи їх ідентифікації. Окрім того, є приміщення з високим ризиком передачі інфекції: кімнати для збирання мокротиння, бронхоскопічний кабінет, приймальне відділення, рентгенологічний кабінет, де можуть перебувати не ліковані хворі на туберкульоз та МРТБ. Засоби інженерного контролю зменшують ризик передачі інфекції шляхом зменшення концентрації інфекційних аерозолей у повітрі.

Вони включають звичайну та механічну вентиляцію, ультрафіолетове випромінювання і застосування високоефективної фільтрації ультрадрібних частинок у повітрі. Інженерні засоби ніколи не можуть замінити адміністративний контроль. Ці 2 компоненти повинні працювати разом.

Звичайна вентиляція є потужним компонентом інфекційного контролю. У теплий період року хворі мають більше перебувати на свіжому повітрі, де передача інфекції відсутня. Уночі, коли пацієнти перебувають у закритих приміщеннях із закритими вікнами, має працювати приточна механічна вентиляція та відточна вентиляція, що вмонтована у стіни приміщення.

У кожній палаті та інших приміщеннях (маніпуляційні кабінети, рентгенологічний кабінет, кімната для збирання мокротиння), де перебувають хворі та персонал, у верхній частині стін мають бути

встановлені лампи ультрафіолетового випромінювання (рис. 24). Перевагу слід надавати закритим типам ламп, які працюють у присутності хворих, не ушкоджуючи очі та шкіру.

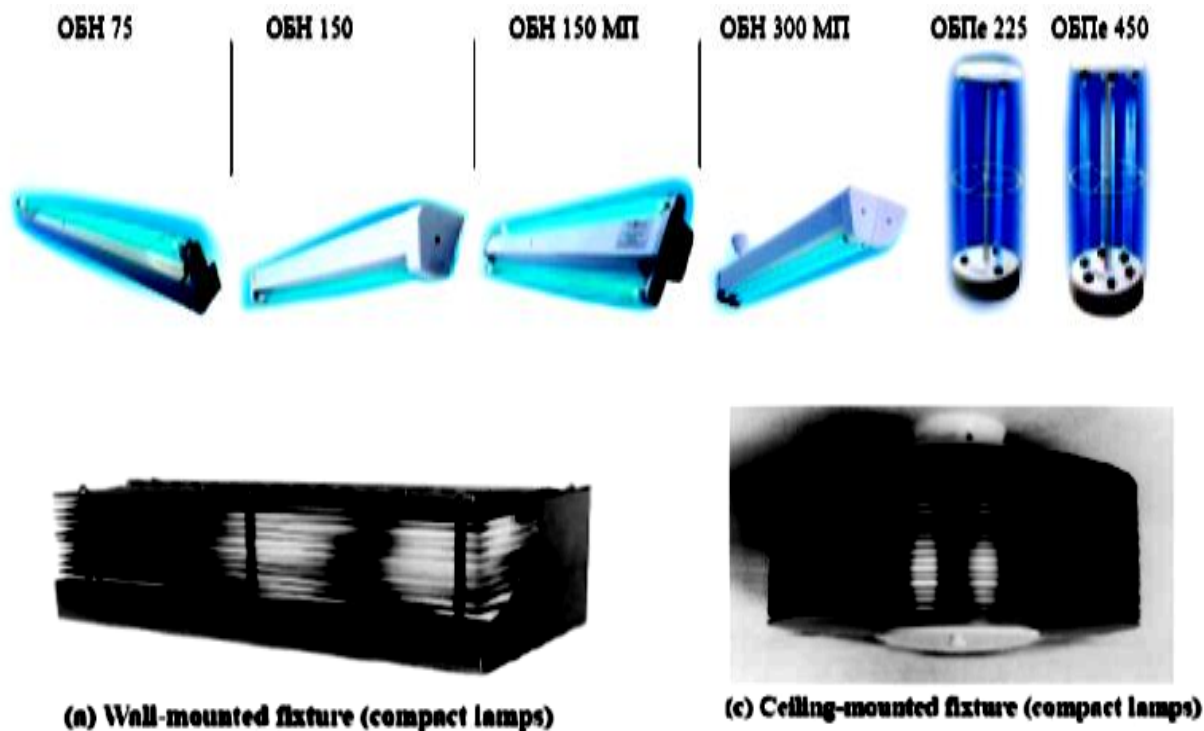


Рис. 24. Лампи ультрафіолетового випромінювання.

Додатково до кімнатних ламп, що розташовують у верхній частині стіни, використовують бактерицидні ультрафіолетові випромінювачі у вентиляційних трубах, пересувних пристроях для стерилізації повітря, які можуть переміщуватись із кімнати до кімнати. Ефективність цих засобів значно нижча, особливо у великих приміщеннях.

У лабораторіях, що працюють з мультирезистентними штамми МБТ, має бути особливо суворий інженерний контроль, який викладено у посібнику ВООЗ щодо інфекційного контролю у закладах охорони здоров'я (ламінальні шафи II класу, вентиляційна система).

Індивідуальний контроль

Оскільки адміністративний та інженерний контроль не забезпечують повний захист, третім компонентом попередження внутрішньолікарняної передачі інфекції є персональний захист органів дихання.

Персональні респіратори (рис. 25) кардинальним чином відрізняються від хірургічних масок, які не захищають від передачі туберкульозної інфекції.



Рис. 25. Респіратор з гепафільтром.

Маски для захисту від туберкульозу відомі як корпускулярні респіратори або прості респіратори. Ці респіратори мають затримувати дрібнодисперсні частинки розміром 1–5 мікрон. Таким вимогам відповідають гепафільтри, які вмонтовані у респіратори. Респіратори мають щільно прилягати до обличчя в області носа та перенісся. Прилягання респіатора до обличчя має бути індивідуально підібраним. У осіб, які носять бороду, не може бути адекватне прилягання респіатора до обличчя.

Персональні респіратори з гепафільтрами носить медичний персонал.

Хворі на туберкульоз із бактеріовиділенням мають постійно носити

хірургічні маски та закривати органи дихання рукою при кашлі. Мокротиння пацієнти збирають в індивідуальні контейнери, які щоденно збираються та спалюються.

Засобів індивідуального захисту не достатньо, щоб попередити передачу туберкульозної інфекції через те, що вони не носяться постійно і можуть не використовуватись при спілкуванні з особами, в яких не підозрюють туберкульоз або МРТБ.

Тому більш важливими елементами інфекційного контролю є адміністративний та інженерний контроль.

Значення швидких тестів медикаментозної чутливості в інфекційному контролі. Швидкі тести для визначення резистентності до рифампіцину та іншим препаратам є ефективний метод ідентифікації осіб на МР ТБ для їх швидкої ізоляції від інших хворих.

ІНФЕКЦІЙНИЙ КОНТРОЛЬ В ЛАБОРАТОРІЯХ ПРОТИТУБЕРКУЛЬОЗНОЇ СЛУЖБИ

ІК в лабораторіях протитуберкульозної служби – це комплекс конкретних заходів і технологічних процедур, завдяки яким зменшується ймовірність внутрішньолабораторного поширення туберкульозної інфекції при роботі зі зразками клінічного матеріалу від хворих і чистої культурою збудника туберкульозу.

Лабораторії протитуберкульозних закладів України за методами та обсягом досліджень поділяються на три рівні:

- Лабораторії I рівня (пункти мікроскопії), що створені на базі лабораторій лікувально-профілактичних закладів загальної лікувальної мережі і виконують мікроскопію досліджуваного матеріалу.
- Лабораторії II рівня, що створені на базі районних та міських протитуберкульозних закладів, виконують мікроскопію, посів досліджуваного матеріалу, попередню ідентифікацію виділених мікобактерій.

- Лабораторії III рівня, що створені на базі обласних протитуберкульозних закладів, виконують мікроскопію, посів досліджуваного матеріалу, ідентифікацію виділених мікобактерій та визначення чутливості їх до протитуберкульозних препаратів.

Референс-лабораторія – це організаційний, науково-практичний і методичний центр. В Україні Референс-лабораторія розташована на базі лабораторії мікробіології Державної установи «Національний інститут фтизіатрії і пульмонології ім. Ф.Г. Яновського Національної академії медичних наук України» і виконує весь спектр мікробіологічних досліджень на туберкульоз та здійснює координацію роботи лабораторій III рівня, контроль за якістю всіх досліджень на туберкульоз в Україні.

Найбільш небезпечний шлях внутрішньолікарняної трансмісії туберкульозу – це професійний ризик інфікування медпрацівника від пацієнта і при роботі з патологічним матеріалом.

Механізми розвитку лабораторних інфекцій

(Andreas Voss, Paul E. Verweij):

1. Інгаляція:

- змішування, струшування, розтирання, перемішування, а також випалювання мікробіологічної петлі можуть призводити до утворення мікробних аерозолів;
- паралельно з *M. tuberculosis*, що передаються аерогенним шляхом, в лабораторії повітряно-крапельним шляхом можуть поширюватися патогени, для яких цей шлях інфікування не є природним;

2. Проковтування:

Несвідомі дії, що призводять до контакту рук з ротом.

- попадання контамінованих предметів (наприклад, олівців) або пальців (наприклад, обкушування нігтів) в ротову порожнину;
- прийом їжі на робочому місці або недостатня обробка рук перед їжею або курінням;
- піпеторуванням ротом (розвиток випадкових лабораторних інфекцій).

3. Інокуляція:

- інокуляція інфікованого матеріалу в результаті випадкового проколу голкою, порізу лезом або частинками розбитого скляного посуду;
- голки і гострі предмети, що використовуються персоналом лабораторії (ризик травми);

4. Контамінація шкіри і слизових оболонок:

- попадання бризок на слизові оболонки очей, носа і ротової порожнини, а також дотик контамінованих рук до обличчя.

Шляхи поширення МБТ в лабораторії

- Основні ризики в лабораторії протитуберкульозної служби пов'язані з утворенням аерозолів під час процедур, які може вдихнути співробітник лабораторії.
- Ризик утворення аерозолів асоціюється з:
 1. видом процедури;
 2. частотою проведення досліджень і робочим навантаженням лабораторії;
 3. консистенцією патологічного матеріалу і ймовірність утворення аерозолію;бактеріальним дасівом патологічного матеріалу.

Ступінь небезпеки внутрішньолікарняної трансмісії туберкульозу

залежить від:

- характеру проведених маніпуляцій при використанні відповідних методик;
- кількості проб, які надійшли для дослідження та фактично містять інфекційний агент;
- концентрації збудника в зразках;
- тривалості контакту з пробами інфекційного матеріалу і чистої культурою збудника.

Рівні біологічної безпеки (РББ) [51]

Виділяють 4 рівня, кожен з яких складається з первинних і вторинних бар'єрів і особливостей мікробіологічних процедур:

- **РББ-1:** мінімальний рівень безпеки і мікробіологічної безпеки, повністю відповідає стандартним правилам роботи в лабораторії. Рекомендований для роботи з мікроорганізмами, які не викликають розвиток інфекцій у здорових дорослих.
- **РББ-2:** використовується в бактеріологічних лабораторіях при роботі з мікроорганізмами, які викликають розвиток інфекцій у людини різного ступеня тяжкості. При виконанні стандартних мікробіологічних процедур з цими збудниками можна працювати на відкритих лабораторних столах, особливо якщо використовуються первинні бар'єри, такі як захисна маска, халат і рукавички. Можливе використання шаф біологічної безпеки (ШББ) і безпечної центрифуги.
- **РББ-3:** розроблений для безпечної роботи з небезпечними мікроорганізмами, які передаються аерогенним шляхом, такими як *M. tuberculosis*. Передбачає суворе виконання рекомендацій і наявність обладнання першого та другого класу безпеки, включаючи особливі вимоги до оснащення лабораторії (відповідна система вентиляції). Робота з усіма мікроорганізмами, що відносяться до РББ-3, повинна здійснюватися в ШББ.
- **РББ-4:** розроблений для роботи з мікроорганізмами, які викликають небезпечні для життя або не піддаються лікуванню інфекції, що передаються переважно аерогенним шляхом. Робота з цими мікроорганізмами проводиться в ШББ III класу або персоналом, одягненим в захисні костюми, що повністю закривають тіло, з автономною подачею кисню і позитивним тиском повітря. Виробниче обладнання повністю ізольовано від інших лабораторій і оснащено спеціальними системами вентиляції і знищення відходів.

Таким чином, бактеріологічні лабораторії протитуберкульозної служби відносяться до 3-го рівня РББ (РББ-3). Більшість випадків інфікування в лабораторії, яка виконує дослідження з метою діагностики та контролю хіміотерапії туберкульозу, відбувається через недооцінку небезпеки утворення інфекційних аерозолів, що містять МБТ. Дотримання правил біологічної безпеки забезпечують профілактику зараження співробітників лабораторії туберкульозом і попадання мікроорганізмів в навколишнє середовище.

Спеціалізоване обладнання сприяє дотриманню належної лабораторної практики, але не замінює їх.

Забезпечення біологічної безпеки ґрунтуються на оцінці ризику [52]:

- ВООЗ запровадила підхід до оцінки ризиків, що асоціюються з різними технічними процедурами, виконуваними в різних лабораторіях протитуберкульозної служби.
- Більше не застосовуються класифікації групи ризиків і рівні запобіжних заходів (РЗЗ).
- Керівництво ВООЗ з біологічної безпеки лабораторних досліджень при туберкульозі дає опис мінімальних вимог до приміщень і практичним методам роботи, які необхідно впровадити після оцінки ризику.

Оцінка ризику – це ретельне вивчення того, що у роботі може завдати шкоди іншим людям.

Оцінка ризику повинна враховувати:

- Кількість бактерій патологічного матеріалу і життєстійкість КСБ.
- Шляхи передачі туберкульозу.
- Імовірність того, що опрацьований матеріал і маніпуляції, необхідні для кожної процедури, можуть привести до утворення інфікованого аерозолію.

- Кількість операцій в кожному методі, які можуть привести до утворення аерозолію.
- Робоче навантаження лабораторії і окремих співробітників.
- Розташування лабораторії.
- Епідеміологію захворювання і контингент хворих, що обслуговуються лабораторією.
- Рівень досвіду і кваліфікації персоналу лабораторії.
- Стан здоров'я співробітників лабораторії.

Класифікація видів діяльності лабораторій

- Підготовка та фарбування мазка: [Робота в брудній зоні].
- Обробка проб для аналізу Genexpert MTB/RIF та інокуляція картриджів: [Робота в брудній зоні].
- Мікроскопічне дослідження забарвлених мазків: [Робота в чистій зоні].
- Завантаження картриджів в прилад GeneXpert: [Робота в чистій зоні].
- Реєстрація та зберігання: [Робота в чистій зоні].

Утворення бактеріальних аерозолів:

- при відкриванні щільно закритих контейнерів з мокротинням,
- при додаванні розчинів до інфікованого діагностичного матеріалу,
- при струшуванні бактеріальних суспензій, що містять МБТ,
- при переливанні інфікованих рідин,
- при роботі з петлею,
- при роботі з піпеткою,
- при фіксуванні не висушених мазків,
- при центрифугуванні.

Великі аерозольні частинки розміром більше 5 мкм швидко осідають і забруднюють шкіру, одяг і поверхні обладнання. **Найбільш небезпечні частинки розміром менше 5 мкм**, що містять життєздатні МБТ, які осідають

дуже повільно (0,2 мм/сек). Опускаються вниз тільки на 60 см і залишаються в підвішеному стані до 5 годин.

Утворений бактеріальний аерозоль може переміщатися з потоками повітря на 9-15 м від джерела його формування і створювати епідеміологічну небезпеку для здорових людей.

Ризик внутрішньолабораторного зараження в лабораторіях, які проводять приготування мазків безпосередньо з мокротиння, значно нижче, ніж в лабораторіях, які готують мазки з концентрованого матеріалу або проводять його посів.

Ризик зараження значно менше в лабораторіях мікроскопії, де виявляється менше 1 % позитивних мазків, в порівнянні з тими, у яких позитивні мазки складають більше 10 % від усіх досліджень.

Адміністративний контроль в лабораторіях протитуберкульозної служби

Це адміністративні заходи, спрямовані запобігання розповсюдженню інфекційних аерозолів із забруднених зон в неінфіковані приміщення лабораторії та лікувального закладу в цілому).

Адміністративний контроль в лабораторіях протитуберкульозної служби забезпечує:

- поділ лабораторії на інфіковану **«брудну» зону**, де відбувається переміщення і обробка заразного матеріалу, і неінфікованих **«чисту» зону** з окремим входом в кожну;
- створення епідемічного ланцюга переміщення досліджуваних матеріалів в процесі прийому, обробки і дослідження;
- дотримання норм санітарно-гігієнічних заходів;
- вибір адекватних дезінфікуючих засобів, що мають документацію, яка дозволяє їх застосування для дезінфекції об'єктів, контамінованих мікобактеріями туберкульозу;
- професійну підготовку персоналу, що включає ознайомлення з особливостями трансмісії мікобактерії туберкульозу;

- дотримання правил збору матеріалу (в першу чергу, мокротиння);
- вибір методів, які знижують час роботи із заразним матеріалом і підвищують безпеку лабораторних маніпуляцій.

Інженерний контроль в лабораторіях протитуберкульозної служби

Це організація примусової вентиляції повітря в приміщеннях і на робочих місцях (загальна і локальна вентиляція), що виключає потрапляння інфекційного аерозолу з «брудних» зон в «чисті», в тому числі за рахунок створення тамбур-шлюзів між цими зонами.

Інженерний контроль забезпечує:

- двоступеневу попередню фільтрацію припливного повітря, що подається в приміщення зі встановленими ШББ, для захисту НЕРА-фільтрів, встановлених всередині, від забрудненого зовнішнього повітря;
- видалення або інактивацію інфекційного аерозолу, що знаходиться в повітрі приміщень, з використанням технічних засобів, що дозволяють проводити знезараження (фільтрація повітря, його опромінення);
- знезараження поверхонь в лабораторії (обробка дезінфікуючими засобами).

Класифікація ШББ (Andreas Voss, Paul E. Verweij):

ШББ забезпечують захист персоналу, матеріалів і навколишнього середовища лабораторії.

- **ШББ I класу** обладнані системою негативного тиску повітря (переважання припливу над витяжкою) і системою вентиляції. Вони призначені для проведення стандартних мікробіологічних досліджень, що вимагають РББ-1 та РББ-2 (рис. 26).
- **ШББ II класу** обладнані вертикальною системою ламінованого потоку повітря з вбудованими високоефективними сухими повітряними

фільтрами (HEPA-фільтри), що забезпечують захист від зовнішньої контамінації матеріалів, з якими здійснюються маніпуляції в ШББ.

- **ШББ ІА класу** призначені для виконання мікробіологічних процедур, що вимагають РББ-2 та РББ-3 (рис. 27).

- **ШББ ІІІ класу** є повністю ізольовані газонепроникні кімнати, що забезпечують максимально можливий рівень захисту персоналу і навколишнього середовища. Вони призначені для проведення маніпуляцій, що вимагають РББ-3 та РББ-4.

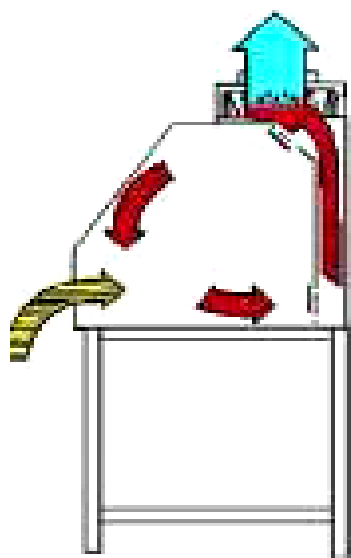


Рис. 26. ШББ І.

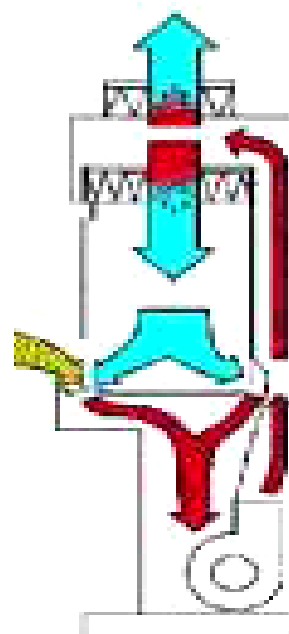


Рис. 27. ШББ ІА.

Вентиляція

Це вентиляція безпосереднього місця утворення інфекційних аерозолів. Прикладом місцевої вентиляції є ШББ з HEPA-фільтрами (High Efficiency Particulate Air – високоефективний фільтр тонкого очищення повітря).

Локальна вентиляція повинна забезпечувати видалення інфікованого повітря із зони роботи з клінічним матеріалом.

Якщо бактеріологічні методи строго відповідають стандартам безпеки і всі потенційно небезпечні процедури виконуються в ШББ ІІ, ризик інфікування може бути знижений до мінімуму.

Через неправильну експлуатацію ШББ або велику забрудненість HEPA-фільтра, даний вид локальної вентиляції втрачає свої захисні функції, що призводить до інфікування персоналу.

У лабораторії повинна бездоганно функціонувати система контролю/заміни HEPA-фільтрів, що гарантує їх ефективну роботу.

ШББ II класу допускається використовувати без приєднання до витяжної вентиляції. Безпека такого застосування, в тому числі механічна цілісність і герметичність монтажу HEPA-фільтру ШББ, повинна контролюватися з застосуванням сертифікованого лічильника частот компетентними фахівцями.

Загальна система вентиляції повинна забезпечувати видалення забрудненого (інфікованого) повітря з приміщень і при цьому виключати виникнення застійних зон.

Види вентиляції:

- припливна,
- витяжна,
- припливно-витяжна.

Адекватним рівнем вентиляції в лабораторіях протитуберкульозних закладів зазвичай вважається спрямований потік повітря, що забезпечує 6-12 повітрообмінів в годину (пог).

Спрямований потік повітря – це рух повітряного потоку від чистих зон в напрямку зон, де можливе утворення аерозолів (в брудних зонах); це повітря має бути безпечно видалений з приміщення.

Припливна вентиляція

У разі використання припливної вентиляції вона повинна забезпечувати подачу повітря в обсязі, не меншому обсягу повітря, що видаляється місцевими витяжними пристроями, і забезпечувати не менше ніж шестикратний повітрообмін в інфікованій зоні лабораторії.

Зовнішнє повітря, що подається приточними установками в приміщення лабораторії з ШББ, підлягає двоступеневому очищенню фільтрами EU5 і EU9.

Витяжна вентиляція

У зоні високого ризику лабораторії повинна бути ізольована від інших вентиляційних систем і обладнана фільтрами тонкого очищення повітря або пристроєм для бактерицидного ультрафіолетового опромінювання витяжного повітря достатньої потужності.

Відповідно до Методичних рекомендацій ВООЗ і Міжнародного Союзу боротьби з туберкульозом (1998) для лабораторних служб в рамках національних програм боротьби з туберкульозом в бактеріологічних лабораторіях, які працюють зі збудником туберкульозу, рекомендується передбачати влаштування системи вентиляції з негативним тиском в «заразній» зоні.

Напрямок руху повітряних потоків в лабораторії має бути повністю контрольованим і влаштованим таким чином, щоб повітряний потік прямував з «чистої» зони в «брудну». Вентиляційна система повинна бути збалансована таким чином, щоб свіже фільтроване зовнішнє повітря прямувало в «чисті» зони, в той час як витягуватися повітря має через «забруднені» зони лабораторії.

Природна вентиляція – це природний приплив і виведення повітря через простір в приміщенні. Типи природної вентиляції:

- вентиляція, створена повітрям (горизонтальна) (рис. 28),
- вентиляція, створена різницею температур (вертикальна) (рис. 29).

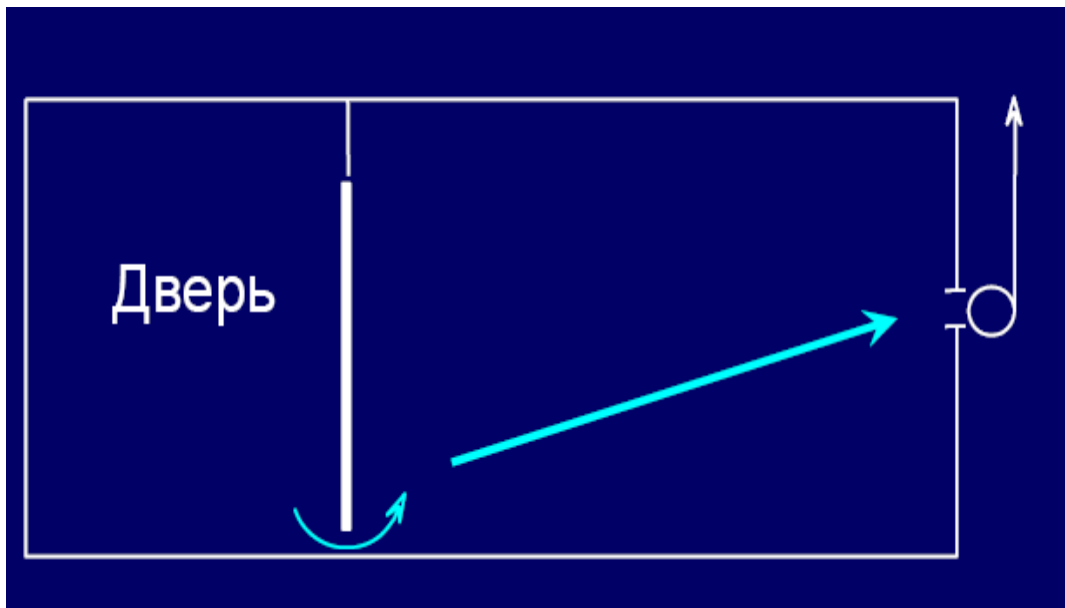


Рис. 28. Вентиляція, створена повітрям.

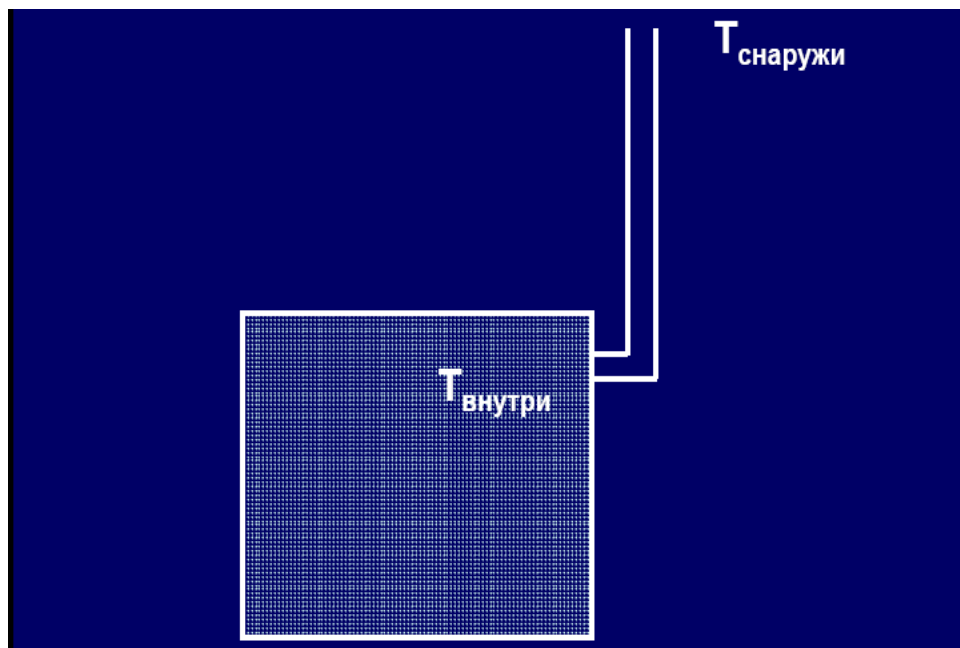


Рис. 29. Вентиляція, створена різницею температур.

Механічна вентиляція

Типи:

1. Місцева:

- кабіни для збору мокротиння (рис. 30),
- ізолятор з негативним тиском,
- ШББ (рис. 31).

2. Загальна (загальнообмінна)

- одноразовий прохід (необхідний підігрів повітря в холодний період),
- повторна циркуляція (ХЕПА-фільтрація, УФ-опромінення).



Рис. 30. ШББ.



Рис. 31. Кабіна для збору мокротиння.

Ультрафіолетове опромінення

Основне призначення опромінювача – зниження мікробного обмінення повітряного середовища і поверхонь в приміщеннях шляхом впливу на мікроорганізми бактерицидного ультрафіолетового випромінювання.

Види УФ-опромінювачів:

- «відкриті» пристрої;
- екрановані пристрої для опромінення верхньої частини приміщення;
- рециркулятори (закриті випромінювачі).

Бактерицидну активність має УФ випромінювання всіх діапазонів, але максимально виражений ефект належить короткохвильовим променям з довжиною хвиль $205 \div 315$ нм, вплив якого небажано для людини (рис. 32). Зі

збільшенням довжини хвилі бактерицидність різко знижується. Максимум бактерицидної дії УФ-опромінювання доводиться на довжину хвилі 265 нм.

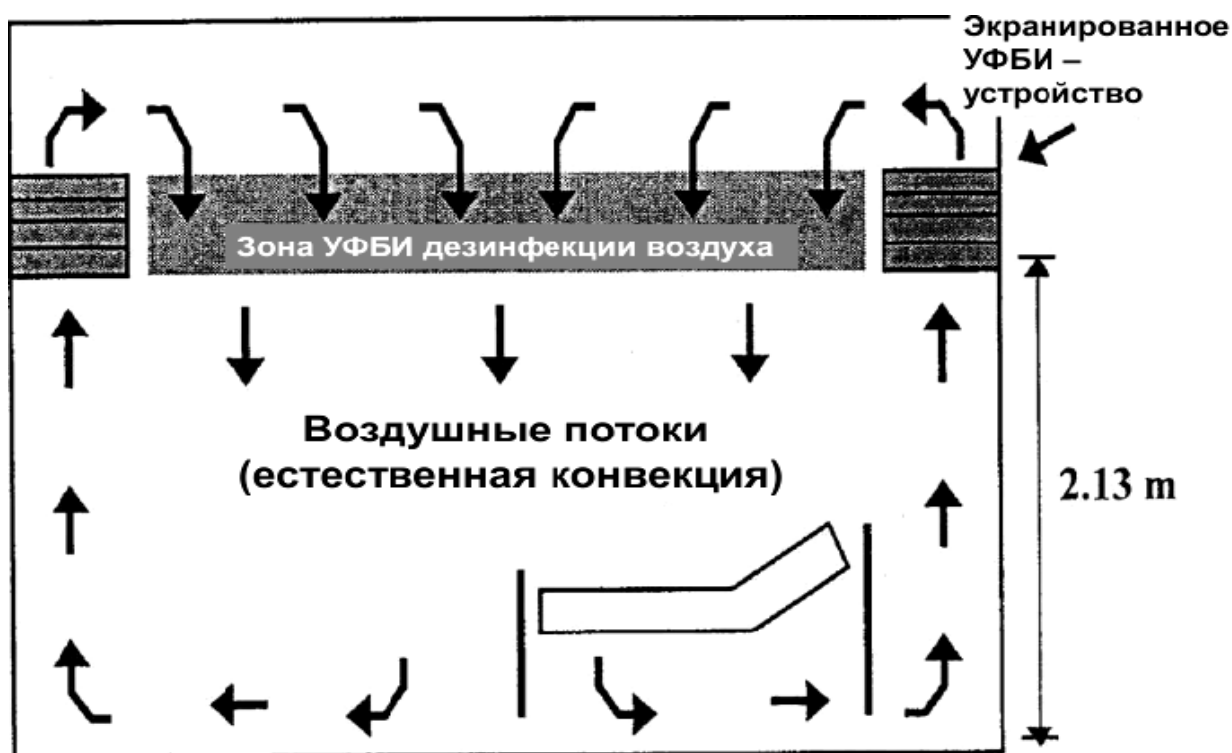


Рис. 32. Принципова схема дії УФ-опромінювачів.

Відкриті УФ-опромінювачі

Прямий бактерицидний потік від ламп і відбивача (або без нього) охоплює широку зону. Вони призначені для процесу знезараження тільки у відсутності людей.

Закриті УФ-опромінювачі

У закритих опромінювачів бактерицидний потік від ламп розподіляється в обмеженому невеликому просторі камери і не має виходу назовні. Такі випромінювачі застосовують для знезараження повітря в присутності людей (рис. 33).



Рис. 33. Закритий УФ-опромінювач.

Рециркулятори (закриті опромінювачі)

Їх принцип роботи заснований на повторному використанні (рециркуляції) очищеного і/або знезараженого повітря. При застосуванні очисників повітря (рециркуляторів) інфіковане повітря не заміщається на чисте, а повторно надходить в приміщення після обробки в пристрої.

У таких пристроях реалізовані різні технології: УФ бактерицидне опромінювання, застосування НЕРА-фільтрації, «іонний вітер», індукований електромагнітним полем, обробка повітря електричними полями, фотокаталіз.

Недоліками рециркуляторів різних типів є неможливість контролю їх ефективності рутинними методами в повсякденній практиці, низький об'ємний потік повітря, що піддається знезараженню або очищенню, необхідність частого розбирання для проведення робіт по їх обслуговуванню.

Всі очищувачі повітря рециркуляційного типу при недостатньому контролі і несвоєчасному обслуговуванні можуть самі стати джерелом інфікування повітря.

Приміщення, оснащені бактерицидними УФ установками поділяють на *дві групи*:

група А – знезараження повітря здійснюють у присутності людей протягом робочого дня (закриті або екрановані УФ установки);

група Б – знезараження повітря здійснюють у відсутності людей (відкриті УФ установки).

Інфекційний контроль при прямій мікроскопії мазка мокротиння або аналізу Genexpert MTB/RIF:

- **Використання робочої поверхні:** робоча поверхня використовується для обробки зразків для прямої мікроскопії мазка або аналізу Genexpert MTB/RIF, тому вона повинна бути відокремлена від місць, де приймаються зразки або оформляються документи, використовуються телефони.
- **Вентиляція:** При правильному виконанні мікробіологічних методів, прямий аналіз мазка і безпосередню обробку зразків для аналізу Genexpert MTB/RIF можна виконувати на відкритій робочій поверхні з адекватною вентиляцією.

Для процедур з низьким рівнем ризику має бути достатньо природної вентиляції за умови, що потоки повітря переміщуються в напрямку від лаборанта і через всю робочу зону та з лабораторії.

Якщо клімат не дозволяє тримати вікна відкритими, то слід розглянути можливість провітрювання приміщення за допомогою механічних вентиляційних систем, наприклад, витяжного вентилятора.

Можливим рішенням для стримування генерації аерозолів при прямій мікроскопії мазка мокротиння або аналізу Genexpert MTB/RIF в умовах, при

яких неможливо практично можливим використовувати природну або механічну вентиляцію, є робочі місця, обладнані вентиляцією. ([Http://www.aphl.org/aphlprograms/global/Documents/GH_2011July_VentilatedWorkstationGuidance.pdf](http://www.aphl.org/aphlprograms/global/Documents/GH_2011July_VentilatedWorkstationGuidance.pdf)).

Засоби індивідуального захисту (ЗІЗ)

Мета ЗІЗ – це захистити медичних працівників в тих ситуаціях коли заходи адміністративного контролю та контролю за станом навколишнього середовища не можуть в повній мірі знизити концентрацію інфекційного аерозолу в повітрі.

Співробітники в лабораторіях протитуберкульозної служби під час роботи з патологічними зразками від пацієнтів мають обов'язково завжди надягати рукавички (одноразові непудровані) і лабораторні халати.

Рукавички

Рукавички слід надягати при обробці зразків для аналізів Genexpert MTB/RIF.

Необхідно використовувати одноразові непудрені рукавички.

Обов'язкове регулярне і ретельне миття рук.

Щоб уникнути зараження, рукавички необхідно зняти до використання комп'ютерів або телефонів.

Не можна повторно використовувати рукавички та носити їх за межами лабораторії.

Лабораторні халати

Носіння лабораторних халатів обов'язково:

- слід залишати халати на робочому місці (Не забирайте халати додому);
- при носінні, халат повинен бути застібнутий;
- слід вибрати відповідний розмір і тип халату;
- не можна носити халат за межами лабораторії.

Халат слід прати, як мінімум, один раз на тиждень і після кожної явної контамінації (не забирати халати додому); їх потрібно дезінфікувати до прання.

Респіратори

Респіратори: зазвичай не потрібні, але можуть бути необхідні за результатами оцінки ризику повинні завжди входити в лабораторний комплект з очищення витоків бактеріовмісних рідин.

Фільтри:

1. Рівні ефективності фільтрів:

- 95 % (фільтри серії 95);
- 99 % (фільтри серії 99);
- 99,97 % (фільтри серії 100).

2. Категорії стійкості фільтрів:

- N (не стійкий до масел);
- R (стійкий до масел);
- P (маслонепроникний).

Для медпрацівників рекомендуються респіратори (рис. 34), які мають як мінімум 95% фільтрацією, діаметр частинок 0.3 мікрона (N95 (NIOSH N95) і FFP2 (EN 149: 2001)).



Рис. 34. Респіратори N95 (NIOSH N95).

Класифікація фільтрів

Клас фільтру	Величина затриманих часток, мкм	Вид
G1	10 и >	Груба очистка
G2	10 и >	Груба очистка
G3	10 и >	Груба очистка
G4	10 и >	Груба очистка
F5	5-10	Тонка очистка
F6	5-10	Тонка очистка
F7	5-10	Тонка очистка
F8	5-10	Тонка очистка
F9	5-10	Тонка очистка

Класифікація HEPA-фільтрів

Клас фільтру	Ефективність (%)	Проникність (%)
H10	85	15
H11	95	5
H12	99,5	0,5
H13	99,95	0,05
H14	99,995	0,005
U15	99,999 5	0,000 5
U16	99,999 95	0,000 05
U17	99,999 995	0,000 005

Респіратори N95 і FFP2 ефективно фільтрують 94-95% частинок розміром $\geq 0,3-0,4$ мкм в діаметрі.

Респіратори повинні підходити до обличчя за розміром! (Використовуйте тест на перевірку щільності прилягання ЗІЗ) (рис. 35).



Рис. 35. Тест на перевірку щільності прилягання ЗІЗ.

Хірургічні маски не захищають користувача від вдихання інфікованих аерозолів.

Дезінфікуючі засоби

Дезінфікуючі засоби – це хімічні речовини або суміш хімічних речовин для дезактивації мікроорганізмів.

Дезінфікуючі засоби, як правило, наносяться на поверхні або неживі предмети.

Дезінфікуючі засоби можуть бути використовуватися до автоклавування на попередньому етапі знезараження.

Необхідно вибирати дезінфікуючі засоби, які ефективні проти мікобактерії в залежності від того, який матеріал підлягає дезінфекції.

Оскільки **фенол** у концентрації 2-5 % в деіонізованій воді викликає сильне роздратування, то слід з обережністю готувати розчин. Рекомендовано використовувати ***похідні фенолу*** для:

- знезараження обладнання, поверхонь і предметів або рідин до їх утилізації (необхідно це робити в рукавичках),
- приготування розчину проводити щодня,
- при обробці поверхні, необхідно залишити розчин на поверхні, як мінімум, протягом 15 хвилин, щоб домогтися знезараженню.

Хлор (гіпохлорит натрію або відбілювач з 0,72% активним хлором) викликає роздратування і має корозійний вплив на метали і пластики:

- це дезінфікуючий засіб загального призначення,
- також можна використовувати для вимочування контамінованих матеріалів,
- витримати, як мінімум, 15 хвилин, щоб домогтися знезараженню,
- готується щодня і зберігається в добре провітрюваному приміщенні (токсичний газ).

Спирт 70 % не залишає розводів, але летючий і легкозаймистий (не слід застосовувати поблизу відкритого вогню):

- використовується для знезараження шкіри (з наступним миттям з милом) і поверхонь (в тому числі, металевих),

Робочі розчини слід готувати щодня.

Вихідні розчини слід зберігати відповідно до рекомендацій виробника.

Застосування покупних розчинів у разі забруднення або інших можливих ситуаціях (при цьому слід перевірити, що розчин знищить мікобактерії туберкульозу).

Слід виконувати національні рекомендації з хімічної безпеки.

Утилізація відходів

В кінці кожного дня, слід помістити забруднені матеріали в біологічно безпечний мішок, потім автоклавувати, спалити або захоронити їх у максимально короткі терміни.

Попередження: при спалюванні пластику, можуть виділятися токсини шкідливі при вдиханні.

Деконтамінацію піпеток для перенесення матеріалу слід виконати використовуючи відповідне дезінфікуючий засіб перед утилізацією

Бактеріологічна лабораторія та бактеріологічний відділ клініко-діагностичної лабораторії (КДЛ) відносяться до зон з високим ступенем ризику зараження. КДЛ відноситься до зони з низьким ступенем ризику зараження.

ТЕМА 4

КЛІНІЧНІ ФОРМИ ТУБЕРКУЛЬОЗУ

Конкретні цілі:

- Вивчити основні клінічні форми туберкульозу легень.
- Вивчити основні клінічні форми позалегенового туберкульозу.

Первинний туберкульозний комплекс

Первинний туберкульозний комплекс – це клінічна форма туберкульозу, яка характеризується розвитком:

- запальних змін в легенях,
- ураженням регіонарних внутрішньогрудних лімфатичних вузлів,
- лімфангіту.

Клінічні прояви первинного туберкульозного комплексу залежать від фази процесу, особливостей його перебігу та реактивності організму. Його перебіг може бути малосимптомним, але частіше мають місце прояви специфічної інтоксикації, можуть спостерігатись лімфаденіт, гепатолієнальний синдром, параспецифічні реакції.

Починається переважно поступово із симптомів інтоксикації, субфебрилітету, в деяких випадках – з гострого підвищення температури до 38-39°C, яка через 2-3 тижні стає субфебрильною. Кашель і виділення харкотиння помірні. При пальпації виділяють мікрополіаденіт. Перкуторно над ураженою часткою легені відзначається притуплення легеневого звуку, аускультативно – послаблене чи жорстке дихання, сухі чи вологі хрипи.

У гемограмі виявляють невеликий лейкоцитоз із незначним зсувом вліво, лімфопенію, моноцитоз, прискорену швидкість осідання еритроцитів (ШОЕ) до 25-35 мм/год. Так як діти рідко відкашлюють харкотиння, їм проводять дослідження мазків із зівка, промивних вод бронхів і шлунка – для виявлення МБТ. Важливе значення мають результати

туберкулінодіагностики. Віраж туберкулінових реакцій, гіперергічна реакція на пробу Манту допомагають встановити діагноз. При бронхоскопії іноді знаходять специфічні зміни бронха.

Рентгенологічно класичний первинний туберкульозний комплекс складається із трьох основних елементів (рис. 36):

- легеневого (первинний афект),
- ураження внутрішньогрудних залоз (лімфаденіт),
- лімфангоїта (який з'єднує первинний афект з внутрішньогрудним лімфаденітом).

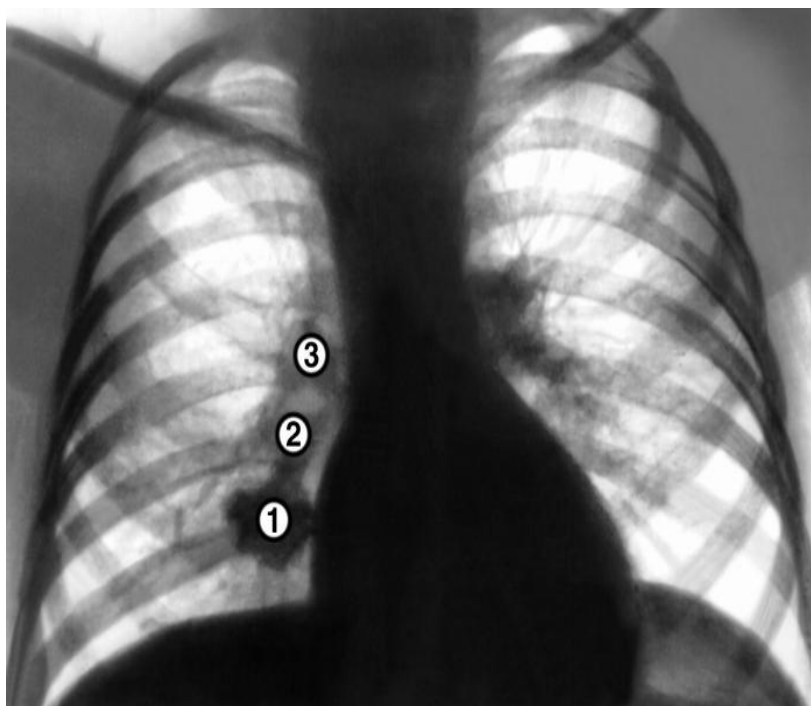


Рис. 36. Рентгенологічні прояви первинного туберкульозного комплексу:
1 – первинний афект; 2 – лімфангоїт; 3- лімфаденіт.

При первинному туберкульозному комплексі по К.В. Помельцову розрізняють 4 стадії розвитку рентгенологічної тіні:

- Перша стадія (пневмонічна) – вогнище оточене зоною перифокального запалення, гомогенну тінь важко диференціювати від неспецифічної пневмонії.

- Друга стадія (розсмоктування або біполярності) характеризується частковим розсмоктуванням тіні інфільтрату і появою біполярного ураження.
- У третій стадії (ущільнення) відбувається ущільнення.
- Четверта стадія (зwapнення) починається через 8-12 місяців від початку захворювання і характеризується відкладенням солей кальцію й ущільненням вогнища в легені і лімфатичних вузлах середостіння.

При сприятливому перебігу первинного туберкульозного комплексу, з часом в центрі колишнього казеозу, розташованого в периферичних відділах легенів наростає зwapнення до виникнення в деяких випадках кісткової тканини – це вогнище Гона (рис. 37). Зwapнені вогнища лімфогенного засіву, що частіше спостерігаються на верхівках легені, називають *вогнищами Сімонса*.

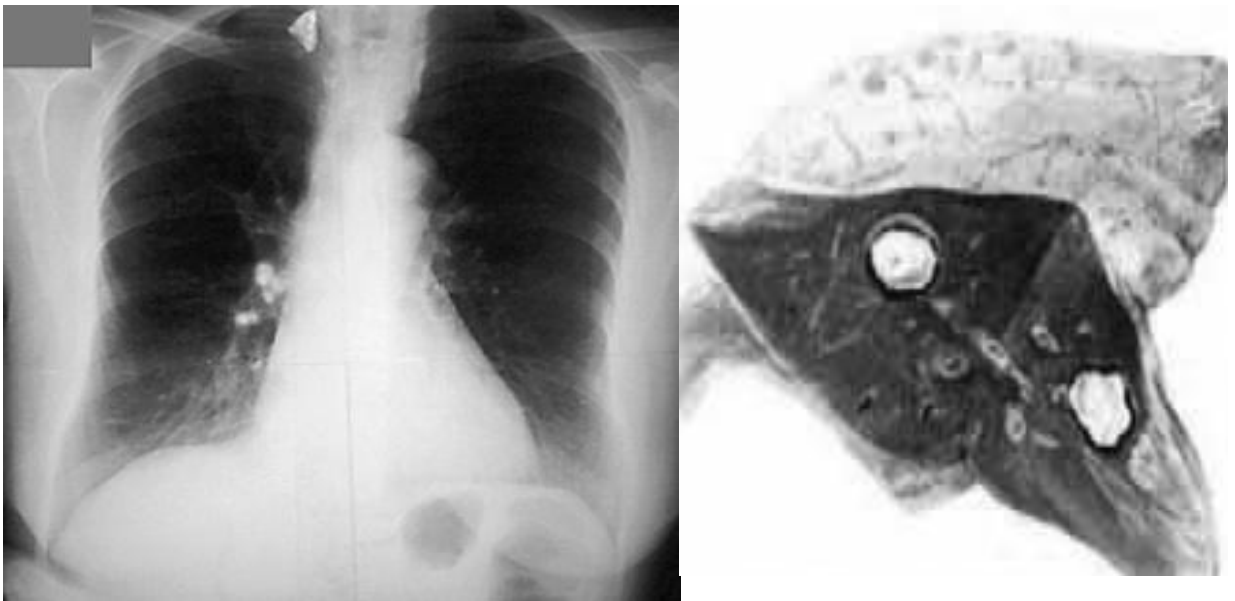


Рис. 37. Вогнище Гона

Дисемінований туберкульоз легень

Дисемінований туберкульоз легень – це клінічна форма туберкульозу, яка характеризується наявністю множинних, звичайно в обох легенях, вогнищ дисемінації гематогенного, лімфогенного або змішаного генезу різної давності з різноманітним співвідношенням ексудативного та продуктивного

запалення і характеризується двобічним, симетричним вогнищевим ураженням із переважною локалізацією у верхніх і кортикальних відділах. Розрізняють гострий, підгострий і хронічний дисемінований туберкульоз легень.

Варіанти дисемінованого туберкульозу розрізняють за патогенезом і клінічною картиною. Залежно від шляху поширення МБТ виділяють гематогенний і лімфобронхогенний дисемінований туберкульоз. Обидва варіанти можуть мати гострий, підгострий та хронічний початок хвороби.

Гострий дисемінований туберкульоз гематогенного генезу проявляється як міліарний та виділений в окрему клінічну форму.

Підгострий дисемінований туберкульоз розвивається повільно, характеризується значними симптомами інтоксикації і має прогресуючий перебіг. Досить швидко до симптомів інтоксикації приєднується кашель, спочатку сухий, потім з виділенням слизово-гнійного харкотиння, деколи кровохаркання, біль у грудях. Стан хворого погіршується, турбують нічна пітливість, задишка. Перкуторний звук притуплений симетрично над верхніми та середніми відділами легень, там же вислуховується жорстке або везико-бронхіальне дихання, при формуванні порожнин розпаду – дрібно- або середньоміхурчасті вологі хрипи.

Характерні лімфопенія і моноцитоз, які є частими супутниками дисемінації, ШОЕ збільшується до 25-50 мм/год. В мокротинні часто виявляють МБТ. Туберкулінова проба позитивна, але при прогресуванні процесу – може згасати.

Рентгенологічно при гематогенному генезі підгострого дисемінованого туберкульозу однотипна вогнищева дисемінація локалізується у верхніх і кортикальних відділах легень (рис. 38), при лімфогенному генезі – вогнища розташовуються групами в прикореневих і нижніх відділах легень на тлі значного лімфангіту із залученням у процес як глибокої, так і периферичної лімфатичної мережі легень (рис. 39).

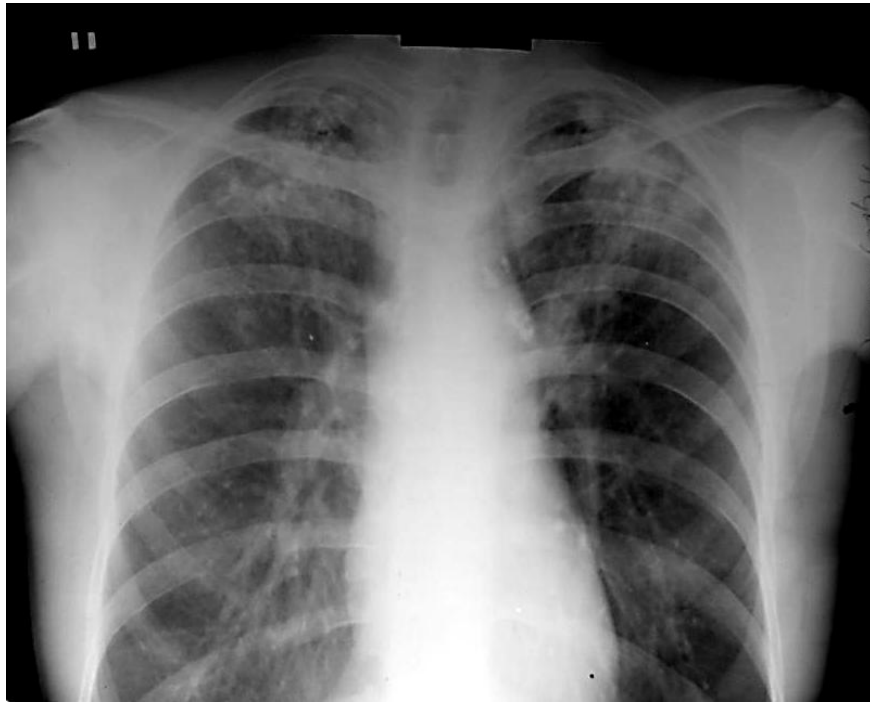


Рис. 38. Рентгенологічні прояви гематогенного генезу дисемінованого туберкульозу



Рис. 39. Рентгенологічні прояви лімфогенного генезу дисемінованого туберкульозу

На тлі вогнищ при підгострому дисемінованому туберкульозі можуть утворюватись тонкостінні каверни з перифокальним запаленням. Частіше

каверни розташовуються на симетричних ділянках легень, ці утворення мають назву «штамповані каверни» (рис. 40). Рентгенологічні зміни при підгострому дисемінованому туберкульозі дуже типові й нагадують картину «падаючого снігу» (рис. 41).

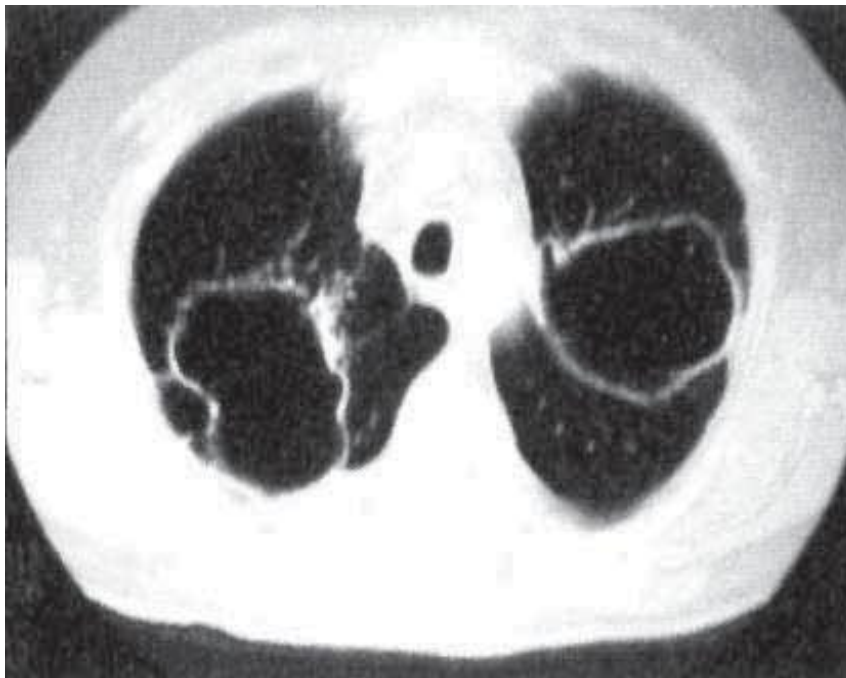


Рис. 40. «Штамповані каверни»



Рис. 41. Симптом «падаючого снігу»

Хронічний дисемінований туберкульоз характеризується хвилеподібним перебігом, при якому симптоми інтоксикації в період ремісії частково згасають, а при спалаху процесу – посилюються.

Клінічна картина характеризується слабо вираженою симптоматикою, хвилеподібним перебігом з чергуванням періодів загострення і ремісії. Об'єктивно деформація грудної клітини на більш ураженій стороні, зменшення її об'єму, відставання в акті дихання, укорочення перкуторного звуку. У гемограмі – зрушення лімфоцитарної формули вліво, лімфопенія і моноцитоз, ШОЕ помірно прискорена. В мокротинні виявляють МБТ. Туберкулінова проба нормергічна.

Рентгенологічно визначаються вогнища різних розмірів і щільності. Специфічний процес у легенях має схильність до апіко-каудального поширення – більш старі, ущільнені вогнища знаходяться у верхніх відділах легень, а нижче від них розміщені свіжі, ексудативного характеру (рис. 42).

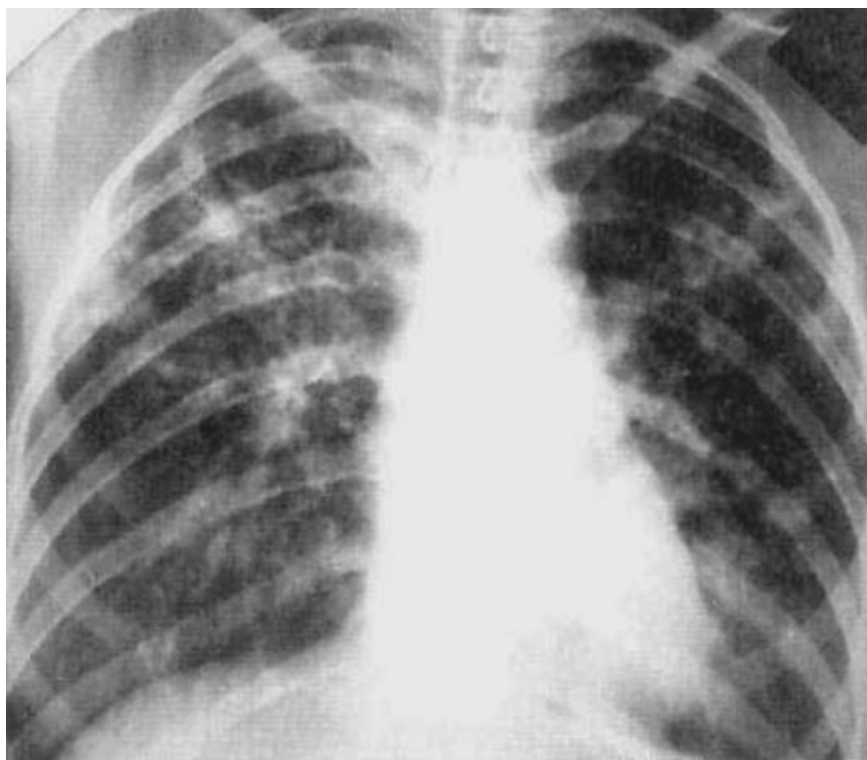


Рис. 42. Рентгенологічна картина хронічного дисемінованого туберкульозу легень

Сполучнотканинна строма легень ущільнюється, поступово розвивається інтерстиціальний склероз, бронхи деформуються, утворюються плевральні нашарування. У нижніх відділах легень переважає емфізема. У зв'язку з фіброзом і зменшенням обсягу верхніх часток тіні коренів легень симетрично підтягнуті вгору (симптом «плакучої верби») (рис. 43). Усе це призводить до перебудови судинного русла, розвитку гіпертензії в малому колі кровообігу та хронічного легеневого серця. Тінь серця на рентгенограмі має серединне положення і звужена («крапельне серце»).

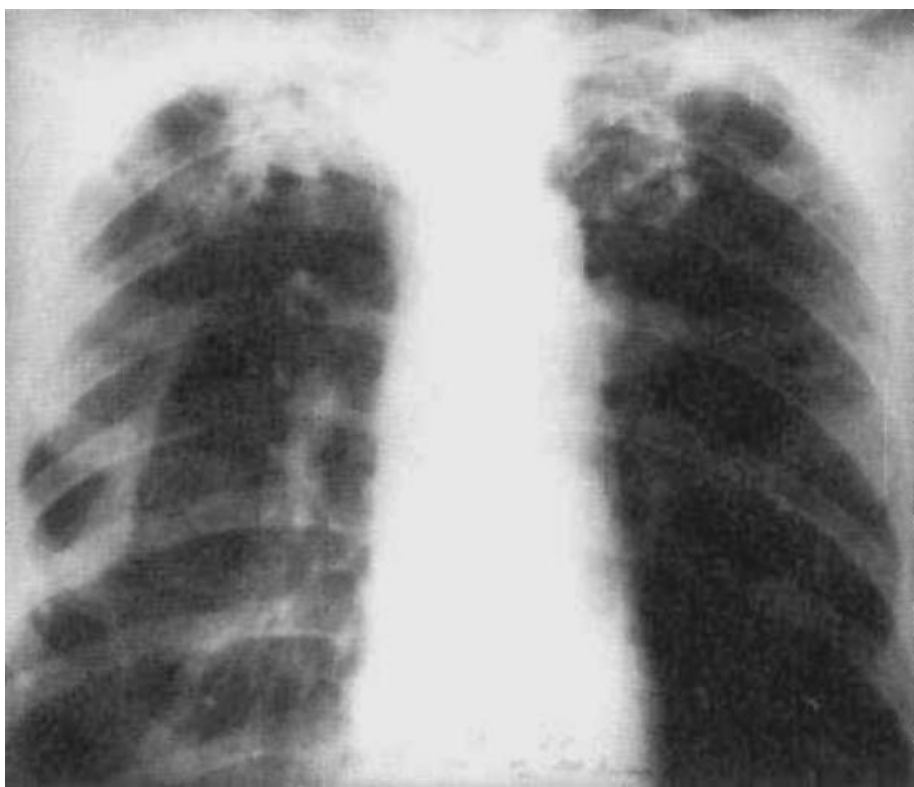


Рис. 43. Симптом «плакучої верби» та «крапельне серце».

Вогнищевий туберкульоз

Вогнищевий туберкульоз легень – це клінічна форма туберкульозу, яка характеризується малосимптомним перебігом та наявністю різного генезу та давності невеликих (до 10 мм у діаметрі) переважно продуктивного характеру вогнищ у межах 1-2 сегментів в одній або обох легенях (рис. 44). До вогнищевих форм відносять як ті, що нещодавно виникли, свіжі (м'яко-вогнищеві) процеси з вогнищами до 10 мм, так і більш давні (фіброзно-вогнищеві) утворення з явно вираженими ознаками активності процесу.

М'яко-вогнищевий туберкульоз – фокус казеозної пневмонії (вогнище реінфектів Абрикосова). Фіброзно-вогнищевий туберкульоз – вогнище Ашоффа-Пуля.

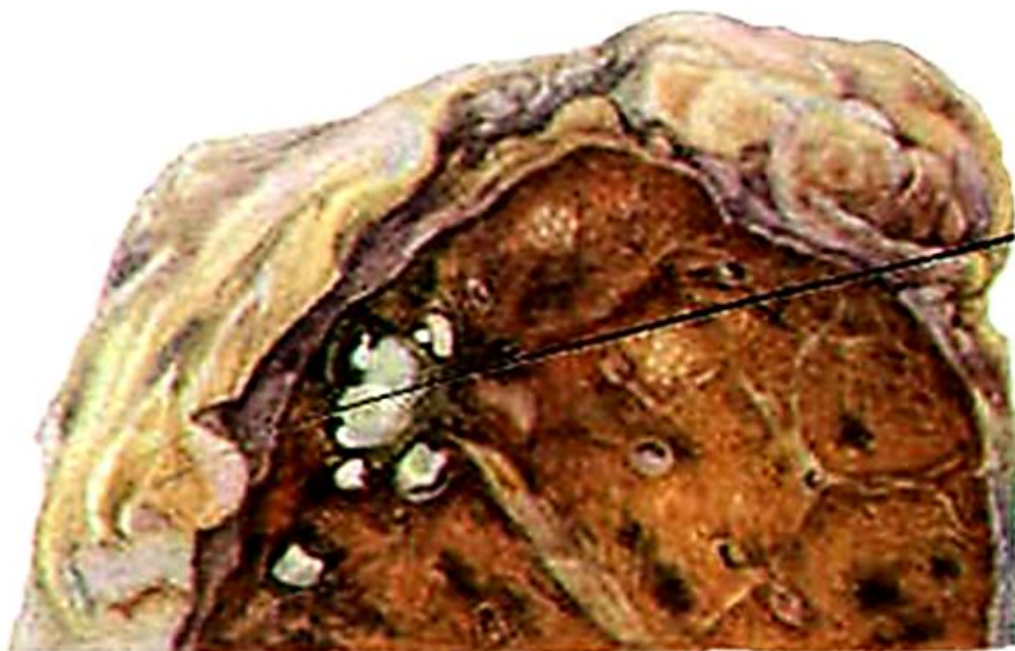


Рис. 44. Вогнищевий туберкульоз легень.

При вогнищевому туберкульозі клінічна картина слабо виражена або відсутня, що пов'язано з обмеженим процесом. Тому цю форму часто виявляють лише при профілактичних флюорографічних оглядах. Симптоми інтоксикації частіше зустрічаються при свіжому м'яко-вогнищевому туберкульозі, легеневі – при фіброзно-вогнищевому. Перкуторних і аускультативних змін над легенями зазвичай не знаходять.

Гемограма у таких хворих не змінена. Лімфопенія буває ознакою ексудативного характеру процесу, його прогресування, лімфоцитоз свідчить про схильність до обмеження. У мокротинні МБТ виявляють вкрай рідко. Туберкулінова проба позитивна.

Основні рентгенологічні критерії вогнищевого туберкульозу: наявність у легнях вогнищ (тіні розміром до 10 мм) та поширеність у межах 2-х сегментів (рис. 45). Свіжий вогнищевий туберкульоз характеризується

наявністю м'яких вогнищевих тіней з дещо розмитими краями. Фіброзно-вогнищевий туберкульоз проявляється наявністю щільних вогнищ, інколи з включенням вапна на тлі деформованого легеневого рисунка, фіброзними змінами у вигляді тяжів і ділянок гіперпневматозу. В період загострення можливе також виникнення свіжих м'яких вогнищ.



У підключичній області визначається кілька вогнищ в легеневій тканині до 1 см в діаметрі – нечітко окреслених середньої інтенсивності тіней.

При прогресуванні визначається збільшення кількості свіжих вогнищ ураження, посилення лімфангоїту, з'являються порожнини розпаду.

Рис. 45. Рентгенологічні прояви вогнищевого туберкульозу легень.

Інфільтративний туберкульоз

Інфільтративний туберкульоз легень – це вторинна форма туберкульозу, яка характеризується зоною специфічного запалення, переважно ексудативного характеру, розміром більше 10 мм зі схильністю до прогресуючого перебігу і розпаду.

Клінічні прояви інфільтративного туберкульозу залежать від поширеності інфільтративно-запальних (перифокальних і казеозно-некротичних) змін в легенях. Одна з найпоширеніших форм туберкульоз легень (30-40 %). В патогенезі та морфології інфільтративного туберкульозу

легень значну роль відіграє запально-алергічна реакція на тлі гіперсенсibiliзації легеневої тканини.

Зміни в гемограмі залежать від поширеності інфільтративних змін, наявності розпаду, ступеня інтоксикації. Визначається незначний зсув лімфоцитарної формули вліво, ШОЕ прискорена (20-35 мм/год), лімфопенія. В мокротинні знаходять МБТ. Туберкулінова проба нормергічна. При бронхоскопії у 5 % діагностується туберкульоз бронха.

Рентгенологічно при інфільтративному туберкульозі легень на рентгенограмі визначається тінь діаметром більше 10 мм, що має ряд особливостей:

- локалізація в 1, 2 або 6 сегментах;
- негомогенна структура, за рахунок інтенсивних вогнищ на його тлі, обумовлених старими фіброзно-вогнищевими утвореннями, навколо яких розвився інфільтрат, або ж з казеозними фокусами;
- вогнищеві тіні з нечіткими контурами навколо інфільтрату і в інших ділянках цієї ж або другої легені як наслідок лімфо- або бронхогенної дисемінації;
- «доріжка» до кореня у вигляді подвійної смужки інфільтрації стінок бронха – діагностується при туберкульозному інфільтраті у фазі розпаду.

За характером рентгенологічних змін виділяють такі клініко-рентгенологічні варіанти інфільтративного туберкульозу легень:

- бронхолобулярний,
- круглий,
- хмароподібний (сегментарний, полі сегментарний, перисцисурит),
- лобарний (лобіт),
- псевдопухлинна форма.

Бронхолобулярний інфільтрат характеризується наявністю в I і II сегментах фокусної тіні діаметром від 1 до 3 см, яка обмежена, неправильно витягнутої форми у напрямку до кореня (рис. 46). Зовнішні контури

інфільтрату нечіткі. При томографічному дослідженні у ньому вдається виявити пряму або вилкоподібну смугу бронхів. Навколишня легенева тканина мало змінена, має вигляд конгломерату вогнищ.

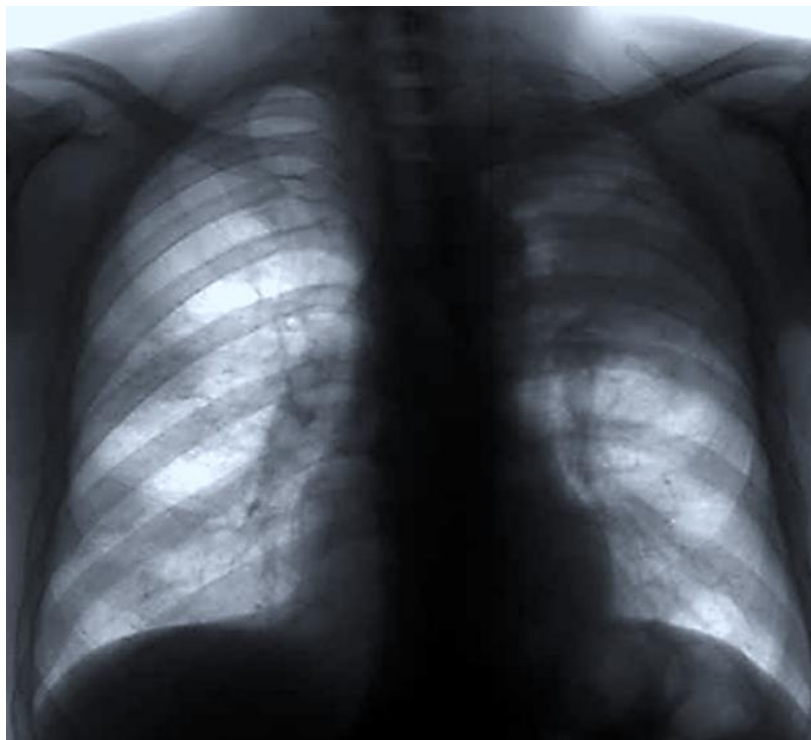


Рис. 46. Бронхолобулярний інфільтративний туберкульоз легень.

Круглий інфільтрат. Рентгенологічно інфільтрати такого типу мають нечіткі контури, фокуси неправильної округлої або овальної форми, діаметром 1,5-2,5 см і більше. Вони локалізуються у I, II, VI сегментах легені. До кореня легені від них відходить запальна «доріжка» (рис. 47).

Виділяють 2 види круглого інфільтрату:

- інфільтрат Ассмана,
- інфільтрат Редекера

Обидва утворення вважаються одним і тим же варіантом інфільтративного туберкульозу, але знаходяться у різних фазах розвитку. Інфільтрат Ассмана характеризується малоінтенсивною тінню без чітких контурів і найчастіше розташовується в позаключичному просторі. Інфільтрат Редекера – це інфільтрат круглої форми з досить чіткими контурами. При томографічному дослідженні іноді виявляють деструкції,

включення щільних або звапнених вогнищ, тяжисті та рубцеві утворення, плевральні зміни.



Рис. 47. Круглий інфільтративний туберкульоз легень (у верхній частці лівої легені під ключицею визначається слабо інтенсивна гомогенна округла тінь з чіткими контурами).

Хмароподібний інфільтрат має вигляд нерівномірного затемнення без чітких меж (рис. 48). Процес займає один або два сегмента, локалізується частіше у верхній частці легені.

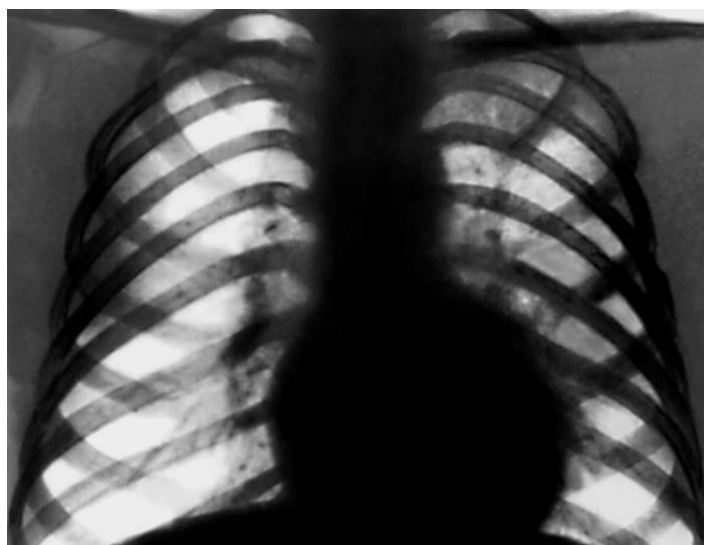


Рис. 48. Хмароподібний інфільтративний туберкульоз легень (у лівій легені на рівні першого і другого міжреберних проміжків визначається ділянка слабо інтенсивного затінення з нечіткими контурами).

Перисцисурит – це інфільтрат, який локалізується в легеневій тканині вздовж міжчасткової щілини (рис. 49). Верхівка направлена до кореня легені, а основа – назовні. Його межа, яка проходить по міжчастковій плеврі, чітка, а протилежна її – розмита.



Рис. 49. Перисцисурит.

Псевдопухлинна форма – зустрічається вкрай рідко. Цю форму відносять до обмежених фокусів специфічного процесу. Локалізація інфільтратів – сегменти верхньої і задньої зон легень (I, II і VI) (рис. 50).



Рис. 50. Псевдопухлинна форма інфільтративного туберкульозу легень.

Лобіт – це інфільтрат, що локалізується на всю або більшу частину частки легені. В залежності від локалізації процесу рентгенологічна картина лобіту буває різною. При ураженні верхньої частки правої легені на передньо-задніх знімках визначається клиноподібна тінь з верхівкою у кореня легені та широкою основою у латеральному відділі. Середньочастковий лобіт має вигляд трикутника з широкою основою у межистинній верхівки, направленої назовні. У боковій проекції тінь інфільтрату у середній частці має вигляд трикутника чи клина з верхівкою у кореня легені.

Казеозна пневмонія

Казеозна пневмонія – це гостра специфічна пневмонія, яка характеризується швидко наростаючими казеозно-некротичними змінами та тяжким перебігом, нерідко швидко прогресуючим, що призводить до летального наслідку (рис. 51).

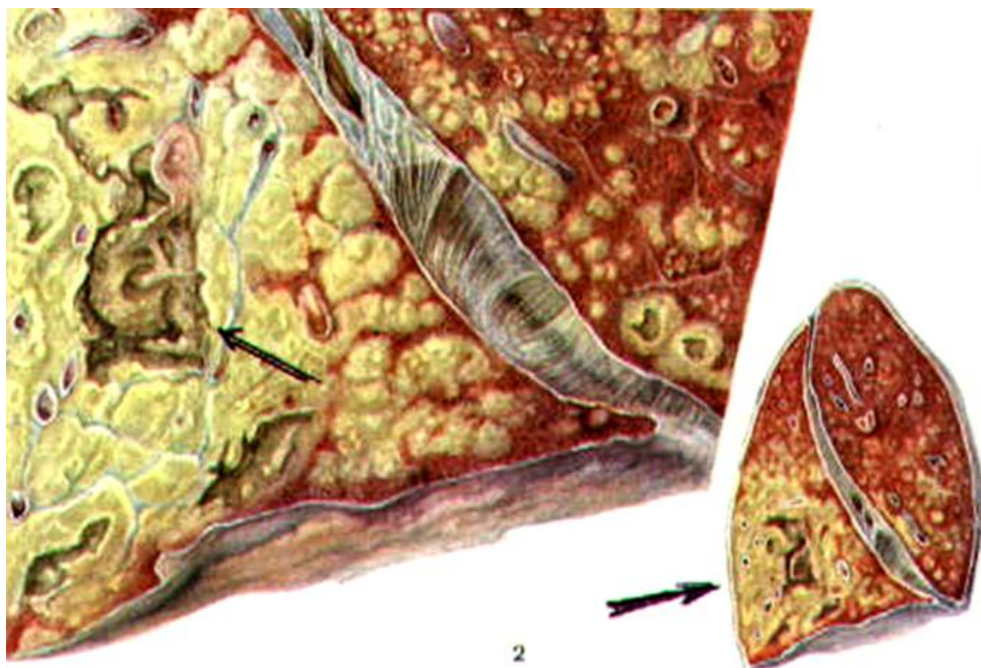


Рис. 51. Казеозна пневмонія.

Для казеозної пневмонії характерна перевага казеозних змін над перифокальним запаленням. При цьому спостерігається ацинозна лобулярна або лобарна пневмонія. В альвеоли випотіває багатий білком ексудат,

переповнений фагоцитами, лейкоцитами і фібрином. Ділянки легені в цьому місці піддаються швидкому казеозному некрозу. Коліквація і подальше відторгнення казеозних мас призводить до утворення множинних порожнин розпаду або гігантської каверни, яка займає всю частку легені. Далі інфекція у легенях може поширюватися бронхогенним шляхом.

В патогенезі важливу роль відіграє виражена імунна недостатність, яка характеризується глибокими структурно-метаболічними змінами й апоптозом імунокомпетентних клітин. Ці клітини в зоні специфічного запалення не витримують надмірного мікробного навантаження, так як функціонально мало активні і нежиттєздатні, тому швидко і в великій кількості руйнуються, створюючи умови для бурхливого і масивного розмноження МБТ.

Казеозній пневмонії притаманні: тяжкий стан хворого, фібрильна температура, значні симптоми інтоксикації, рясні катаральні прояви в легенях. При фізичному обстеженні виявляють над ураженими ділянками притуплення перкуторного звуку, бронхіальне дихання, звучні «казеозні» вологі хрипи. Перебіг захворювання бурхливий, прогресуючий.

У гемограмі визначається характерна гіпсохромна анемія, лейкоцитоз $12,0 \cdot 10^9/\text{л}$ - $20,0 \cdot 10^9/\text{л}$, ШОЕ збільшена 50-70 мм/год, лімфопенія, різкі зрушення вліво в лейкоцитарній формулі. Може спостерігатися патологічна зернистість нейтрофілів. Коли настає розрідження і виділення казеозних мас у харкотинні знаходять МБТ. Туберкулінова проба – анергія.

Рентгенологічно патологічні зміни займають не менш двох часток легенів, часто відзначається двобічне ураження (рис. 52). Казеозна пневмонія рентгенологічно спочатку виглядає як нерівномірне, а потім густо дифузне затемнення великої ділянки без суттєвої зміни її обсягу. Місцями у ній можливо виявити окремі більш щільні вогнища, проекції бронхів і ділянки просвітлення, що виникають внаслідок швидкого розпаду казеозних мас. Повне гомогенне затемнення обумовлене супутнім ателектазом.

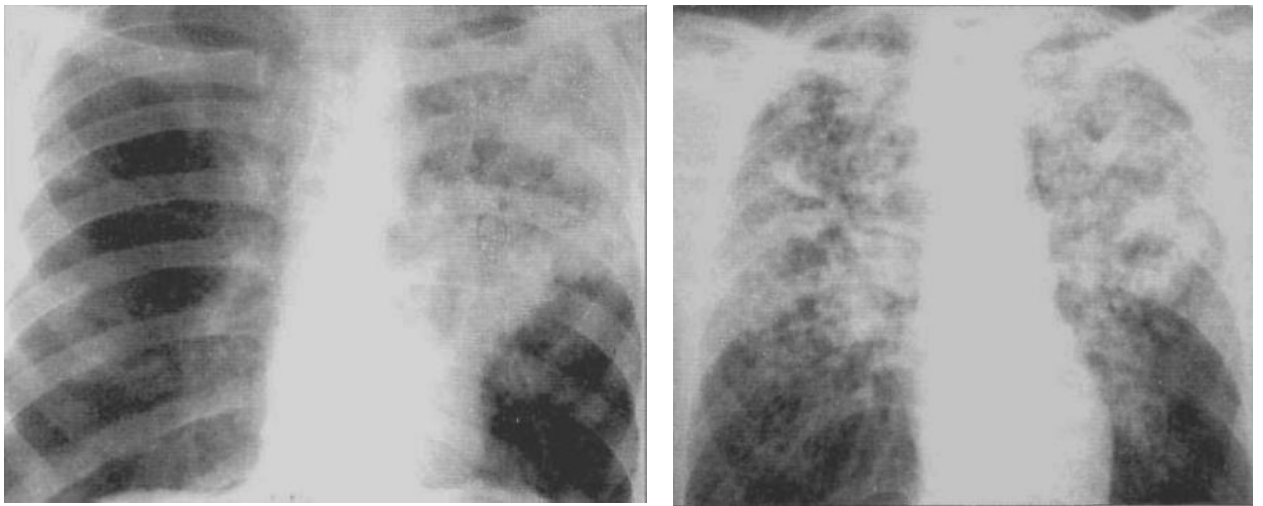


Рис. 52. Казеозна пневмонія.

Туберкульома легень

Туберкульома легень – це інкапсульований фокус казеозу діаметром більше 10 мм з хронічним торпідним перебігом та малосимптомною клінікою (рис. 53). Туберкульома відноситься до так званих «кулястих» утворень у легенях.

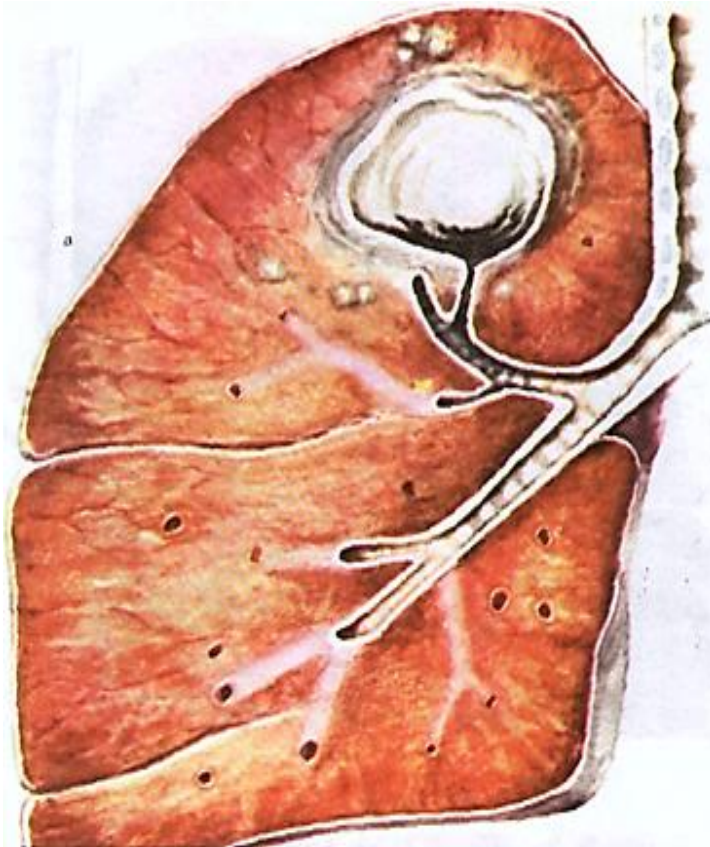


Рис. 53. Туберкульома легень.

Особливістю цієї форми туберкульозу легень є низька ефективність хіміотерапевтичного лікування, у зв'язку з чим нерідко виникає необхідність хірургічного втручання.

Туберкульома – це подальша еволюція інших форм туберкульозу легень (інфільтративного, вогнищового, рідше дисемінованого і первинного комплексу). Складність патогенезу зумовлює різноманітність морфологічних типів туберкульом. Виділяють 5 типів туберкульом:

1. Гомогенна – продукт інволюції інфільтративної форми туберкульозу, коли розсмоктується перифокальне запалення і навколо фокуса, що складається з казеозного некрозу і грануляційної тканини, утворюється капсула.

2. Інфільтративно-пневмонічний тип – це продукт інволюції туберкульозного інфільтрату і являє собою округлий фокус специфічної пневмонії з обмеженими ділянками казеозу і схильністю до продуктивної реакції.

3. Конгломератна – відбувається шляхом злиття кількох вогнищ і (або) туберкульом.

4. Шарувата – утворюється внаслідок загострення старих туберкульозних вогнищ і поетапного досягнення розмірів туберкульоми або внаслідок одноразового або багаторазового загострення гомогенної туберкульоми з наступною стабілізацією процесу.

5. «Псевдотуберкульоми» (блоковані каверни) – це утворення, схожі на туберкульому, можуть формуватися з каверни, коли порушується прохідність дренажного бронха і порожнина заповнюється казеозними масами, лімфою, клітинними елементами.

При розрідженні казеозу туберкульоми можливе утворення порожнини розпаду, яка у вигляді щілини розташовується біля гирла бронха. У туберкульомі містяться МБТ, іноді у вигляді L-форм. У зв'язку з відсутністю у ній кровоносних судин, проникнення протитуберкульозних препаратів у казеоз мізерне.

Туберкульози бувають одиничні і множинні. Розрізняють дрібні туберкульози (до 2 см в діаметрі), середні (2-4 см) і значні (більше 4 см в діаметрі).

Нерідко формування туберкульоз відбувається без клінічних проявів і в таких випадках виявляються лише при профілактичних флюорографічних оглядах. У частини хворих спостерігають слабо виражені симптоми інтоксикації у вигляді нездужання, погіршення апетиту, субфебрильної температури. Фізикальні методи майже не виявляють патології.

Виділяють три варіанти перебігу туберкульоз:

1. Прогресуючий, при якому на певному етапі хвороби виникає розпад, перифокальне запалення навколо туберкульозу, бронхогенний засів легеневої тканини, що оточує туберкульозу.

2. Стабільний (стаціонарний) – з відсутністю рентгенологічних змін у процесі спостереження за хворим; а також – нечасті загострення без ознак збільшення туберкульозу, що навпаки характеризується її повільним зменшенням з наступним утворенням на місці туберкульозу вогнища (групи вогнищ), індураційного поля чи поєднання цих змін.

3. Регресивний – добре самопочуття хворого супроводжується зменшенням розмірів туберкульозу. Може відбуватися її фрагментація на окремі вогнища, які ущільнюються, петрифікуються. Такий перебіг буває при порівняно свіжих туберкульозах, коли навколо казеозу немає ще вираженого склерозу, лімфатичні шляхи не заблоковані та можливий частковий фагоцитоз казеозних мас.

Перебіг туберкульоз носить циклічний характер. Вони протягом тривалого часу можуть залишатися стабільними, нічим себе не виявляти.

Гемограма у більшості хворих не має відхилень від норми. При активних, прогресуючих туберкульозах можливо прискорення ШОЕ до 20-25 мм/год, незначний лейкоцитоз, лімфопенія, збільшення паличкоядерних нейтрофілів. МБТ виявляється лише у хворих у фазу розпаду. Характерна ознака – гіперергічний характер туберкулінових проб.

Рентгенологічно туберкульози мають вигляд тіней округлої форми з чіткими контурами розміром від 1,5 до 8 см частіше розміщеними в 1, 2 або 6 сегментах (рис. 54). В центрі може визначатися серповидне прояснення за рахунок розпаду, іноді перифокальне запалення і незначна кількість бронхогенних вогнищ, а також ділянки заупнення. При конгломератних туберкульозах форма неправильна, контури бувають поліциклічні. Характерний також «туберкульозний» фон – інтенсивні вогнища і пневмосклероз навколо туберкульози або в інших відділах легень, кальцинати в корені.

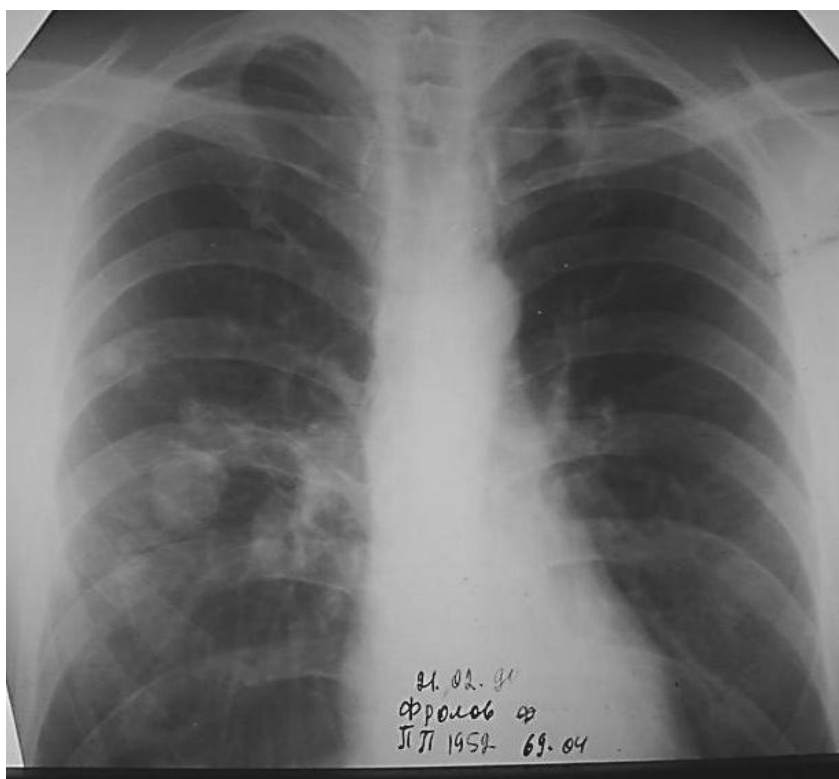


Рис. 54. Туберкульоз легень (в правій легені визначається чітко окреслене однорідне затемнення поєднане «доріжкою» з коренем легеневої тканини).

Фіброзно-кавернозний туберкульоз

Фіброзно-кавернозний туберкульоз легень – це завершальний етап прогресуючого перебігу деструктивного специфічного процесу, основними ознаками якого є (рис. 55):

- наявність старої фіброзної каверни,
- розвиток фіброзних змін в прилеглий легеневої тканині,

- вогнища бронхогенного відсіву різної давнини у тій же та/або протилежній легені,
- постійне або періодичне бактеріовиділення,
- хронічний хвилеподібний, як правило, прогресуючий перебіг.

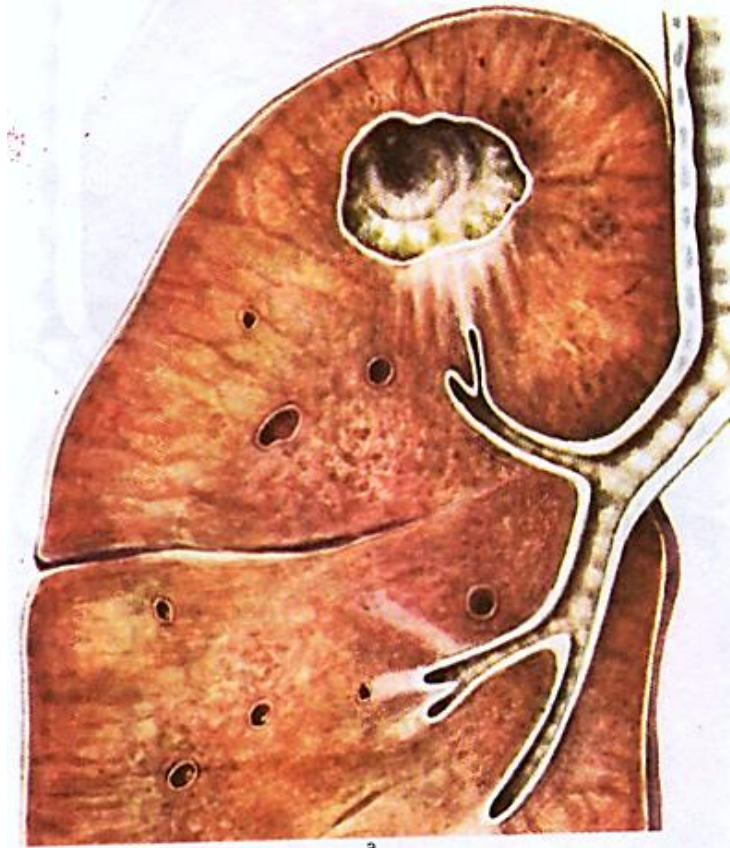


Рис. 55. Фіброзно-кавернозний туберкульоз легень.

Ураженими виявляються бронхи, що дрениують каверну, виникають й інші морфологічні зміни в легенях: пневмосклероз, емфізема, бронхоектази. Поширеність змін в легенях може бути різною, процес буває одnobічний і двобічний з наявністю однієї або багатьох каверн.

Морфологічні зміни при фіброзно-кавернозному туберкульозі легень дуже характерні. Найважливішою його ознакою є стара фіброзна каверна, яка локалізується переважно у верхніх відділах легень, і стінка якої складається з трьох шарів. Внутрішній шар (піогенний) – містить маси казеозного некрозу, гній, слиз, велику кількість МБТ. В грануляційному шарі багато епітеліоїдних і гігантських клітин, кровonosні і лімфатичні судини. При

прогресуванні туберкульозного процесу грануляції некротизуються, перетворюються у піогенний шар. Фіброз виражений також по ходу дренажних бронхів і навколо судин, які йдуть до бронхів, а це є другою важливою ознакою фіброзно-кавернозного туберкульозу легень, так як зумовлює деформацію каверни, звуження бронхів, виникнення бронхоектазів. Всі ці процеси негативно впливають на функцію зовнішнього дихання, гемодинаміку в малому колі кровообігу. Третя особливість фіброзно-кавернозного процесу – це поширення МБТ із каверни по лімфатичним судинам і бронхам. Внаслідок чого поблизу каверни та/або протилежній легені формуються ацинозні, ацинозно-нодозні та глобулярні вогнища. Вони можуть зливатися, утворюючи так звані «дочірні» інфільтрати, при казеозному розпаді яких формуються нові «дочірні» каверни. Так виникає полікавернозний туберкульоз легень.

Клінічні прояви зумовлені не тільки туберкульозом, а також і змінами в легеневій тканині навколо каверни, ускладненнями. При фіброзно-кавернозному туберкульозі найчастіше хворі скаржаться на кашель з харкотинням слизового-гнійного характеру, яке важко відкашлюється. При значному поширенні процесу, фіброзних змінах розвивається задишка. У період загострення процесу температура тіла підвищується до фебрильної. При утворенні нових казеозних фокусів або порушення дренажу каверни – температура може стати гектичною і супроводжується нічними профузними потами. Частим симптомом при цій патології є кровохаркання і легеневі кровотечі в результаті розриву дрібних капілярів і венозних аневризм у ділянках фіброзу і в стінках каверн. При порушенні цілісності стінок судин більшого калібру можуть виникнути смертельні профузні кровотечі.

При огляді хворого з тривалим процесом визначається блідість, виснаженість, западання над- і підключичних ямок, звуження однієї половини грудної клітки. Пальпаторно – зміщення трахеї. Дихання: над масивними циротичними змінами бронхіальне або послаблене; над великою каверною – амфоричне; над порожниною з рідким вмістом – середньо- або

великоміхурчасті вологі хрипи; над старою ригідною порожниною – деколи можна вислухати звуки, які нагадують «скрип».

Гемограма змінюється у період загострення процесу: посилюється гіпохромна анемія, прискорюється ШОЕ до 30-50 мм/год, збільшується кількість лейкоцитів, паличкоядерних нейтрофілів, лімфопенія. Поява в сечі лейкоцитів, еритроцитів, циліндрів може бути результатом токсичного ураження нирок або амілоїдозу. Розвивається диспротеїнемія. При поширених процесах порушується функція зовнішнього дихання за рестриктивним, обструктивним чи змішаним типами. У частини хворих виявляються електрокардіографічні ознаки хронічного легеневого серця. У 8-15 % хворих з цим процесом при бронхоскопії знаходять специфічні або неспецифічні ураження бронхів. У харкотинні виявляють МБТ, часто резистентні до одного або кількох протитуберкульозних препаратів.

Рентгенологічна картина при фіброзно-кавернозному туберкульозі легень різноманітна і відповідає патологоанатомічним змінам. Основні його ознаки: наявність товстостінної, іноді деформованої кільцеподібної тіні з чіткими внутрішніми контурами, оточеної фіброзними тяжами, а при загостренні процесу – зоною інфільтративного затемнення. Корені деформовані. Міжреберні проміжки звужені. Стара каверна розміщена у верхніх відділах легень. Нижче в тій же або іншій легені – вогнищеві або інфільтративні тіні (результат бронхогенної дисемінації), які можуть мати у центра просвітлення неправильної форми за рахунок розпаду.

Якщо фіброзно-кавернозний процес став наслідком дисемінованого туберкульозу легень, то процес зберігає певну симетричність: товстостінні кільцеподібні тіні старих каверн розміщені симетрично у фіброзно змінених верхніх відділах легень. Нижче визначаються вогнища різної інтенсивності, корені підтягнуті ввєрх («гілки плакучої верби»). Нижні відділи легень підвищеної прозорості, емфізематозні.



Рис. 55. Фіброзно-кавернозний туберкульоз легень.

Циротичний туберкульоз

Циротичний туберкульоз легень характеризується масивним розростанням грубої сполучної тканини в легені і плеврі, серед якої зберігаються активні туберкульозні вогнища, що обумовлюють періодичні загострення та можливе мізерне бактеріовиділення (рис. 56).

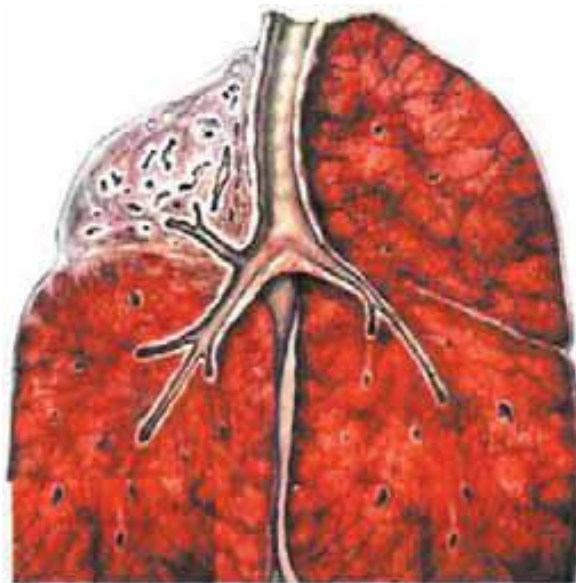


Рис. 56. Циротичний туберкульоз легень.

Циротичний туберкульоз легень є результатом інволюції фіброзно-кавернозного, хронічного дисемінованого, масивного інфільтративного туберкульозу легень, уражень плеври. До циротичного туберкульозу відносять процеси, при яких зберігаються туберкульозні зміни в легенях з клінічними проявами активності процесу, схильність до періодичних загострень, часом спостерігається мізерне бактеріовиділення. Циротичний туберкульоз буває сегментарний і лобарний, обмежений і поширений, однобічний і двобічний. Він характеризується розвитком бронхоектазів, емфіземи легенів, симптомів легеневої і легенево-серцевої недостатності.

Циротично змінена ділянка легені зменшується в об'ємі, плевра над нею стовщена. Сполучнотканинне ущільнення легеневої тканини змінює положення і будову бронхів і судин легені. Бронхи не лише змінюють своє положення, але й деформуються, внаслідок чого можуть виникнути бронхоектази. Дрібні судини частково облітеруються в зоні ураження, а місцями розширюються, що є причиною частих кровотеч. В оточуючій цироз легеневій тканині часто відзначається бульозна емфізема. Положення органів середостіння різко змінене: підтягнення органів середостіння в сторону циротично зміненої легені.

За патогенезом циротичний туберкульоз легень може бути: пневмогенний, бронхогенний (постателектатичний), плеврогенний.

Клінічна картина визначається в першу чергу симптомами порушення функції зовнішнього дихання і серцево-судинної системи. Хворі скаржаться на задишку. Серцебиття, що помітно посилюється при фізичному навантаженні. При огляді хворих визначається деформація грудної клітки: на стороні ураження спостерігається її западання, звуження міжреберних проміжків, опущення плеча. Перкуторно над ділянкою цирозу – притуплення перкуторного звуку, а нижче від нього – коробковий відтінок. Аускультативно над ділянкою цирозу вислуховується везико-бронхіальне дихання. Сухі та вологі хрипи зумовлені бронхоектазами та бронхітом.

У період загострення в гемограмі спостерігається: збільшення кількості лейкоцитів, зсув лейкоформули вліво, лімфопенія, прискорення ШОЕ (20-35 мм/год). При тривалому перебігу захворювання з явищами гіпоксії – збільшуються кількість еритроцитів і вміст гемоглобіну. МБТ в харкотинні знаходять рідко і лише методом посіву. При бронхоскопії діагностуються рубцеві і запальні стенози бронхів, дифузний неспецифічний ендобронхіт. Реакція на туберкулінову пробу – позитивна.

Рентгенологічно (рис. 57). Якщо двобічний дифузний цироз став наслідком дисемінованого туберкульозу легень, у верхніх відділах помітне неомогенне зниження прозорості, плевральні нашарування на верхівках. Нижче на фоні тяжистого або петлистого склерозу, видно розсіяні вогнища великої щільності, в нижніх відділах – емфізема. Куполи діафрагми сплюснені. При цирозі верхніх відділів легень – середостіння підтягується доверху, серце набуває вертикального положення (нагадує «крапельне»). Водночас підтягуються доверху корені легень («гілки плакучої верби»).



Рис. 57. Циротичний туберкульоз легень.

Якщо цироз розвинувся після інфільтративного туберкульозу легень верхньої частки, то характерне масивне затемнення зменшеної в об'ємі частки із нижнім увігнутим контуром. Корінь легені підтягнутий вгору, тіні судин випрямлені.

При тотальному однобічному цирозі, окрім масивного негомogeneous затемнення зменшеної в об'ємі легені, звуження міжреберних проміжків, спостерігається зміщення органів середостіння в уражений бік. Протилежна легеня емфізематозна.

Туберкульоз внутрішньогрудних лімфатичних залоз

Туберкульоз внутрішньогрудних лімфатичних залоз (туберкульозний бронхоаденіт) – це специфічне ураження лімфатичних залоз кореня легень і середостіння (рис. 58). Виникає в результаті первинного зараження туберкульозом дітей, підлітків і дорослих молодого віку. Рідше він виникає в результаті ендогенної реактивації туберкульозних змін, що вже мали місце у внутрішньогрудних лімфатичних залозах.

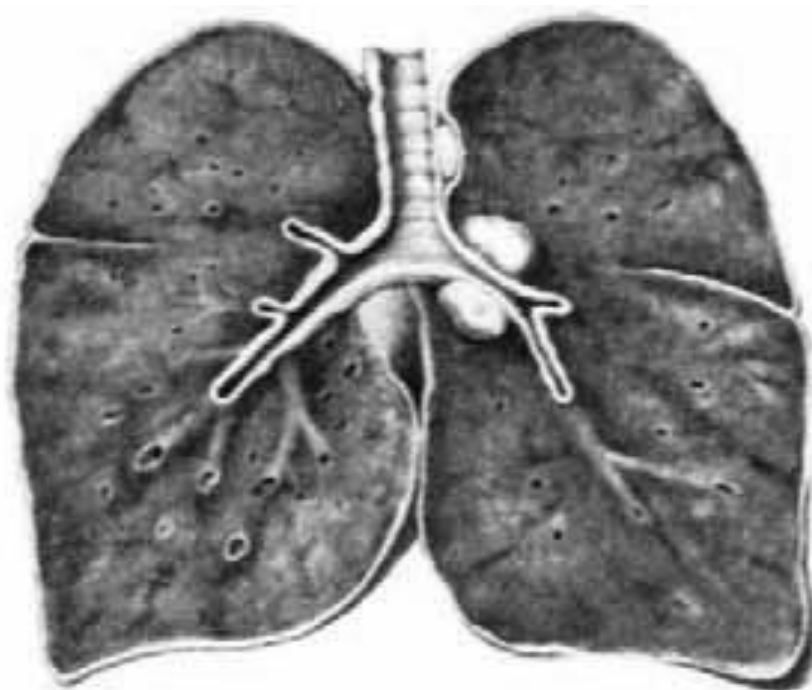


Рис. 58. Туберкульозний бронхоаденіт.

Розрізняють інфільтративний, пухлиноподібний і, так звані, «малі» форми туберкульозного бронхоаденіту. Інфільтративний варіант характеризується не лише збільшенням вузлів, а також і розвитком інфільтративних змін в прилеглій легеневій тканині.

Пухлиноподібний (туморозний) туберкульозний бронхоаденіт – це варіант первинного туберкульозу, при якому переважає казеозне ураження лімфатичних залоз і яке виявляється збільшенням розміру окремих лімфатичних вузлів або їх груп.

«Малі» форми – характеризуються їх незначним збільшенням. У разі пізнього виявлення і неефективного лікування можливий перехід у первинний туберкульоз з хронічним перебігом, що характеризується тривалим хвилеподібним плином і поліморфізмом морфологічних змін у лімфатичних вузлах (кальциновані, фіброзні, свіжі запальні).

При виникненні бронхоаденіту початок може бути гострим, підгострим і безсимптомним. При огляді такі діти не відрізняються від здорових, іноді спостерігається блідість, знижена трофіка, кон'юктивіти, параспецифічні кератокон'юктивіти, фліктени, вузлувата ерітема. При пальпації часто мікрополіаденія. Перкуторних і аускультативних змін не спостерігається.

При всіх варіантах бронхоаденіту, особливо при його хронічному перебігу, можливе виникнення ускладнень: запальна реакція плеври, специфічне ураження бронхів з розвитком сегментарних або дольових ателектазів, дисемінація в легені й інші органи.

Лабораторні дослідження мають такі ж самі зміни, як і при первинному туберкульозним комплексом.

Рентгенодіагностика «малих» форм можлива лише за непрямими ознаками (зниження структури тіні кореня, подвійний контур серединної тіні та збагачення легеневого малюнка в межах прикореневої зони).

При туморозній формі на рентгенограмі й томограмах виявляють переважно одnobічне або двобічне асиметричне розширення середостіння або кореня легені з поліциклічними чіткими контурами (рис 59). Без

видимого перифокального запалення має перебіг туберкульоз паратрахеальних, трахеобронхіальних і біфуркаційний залоз.

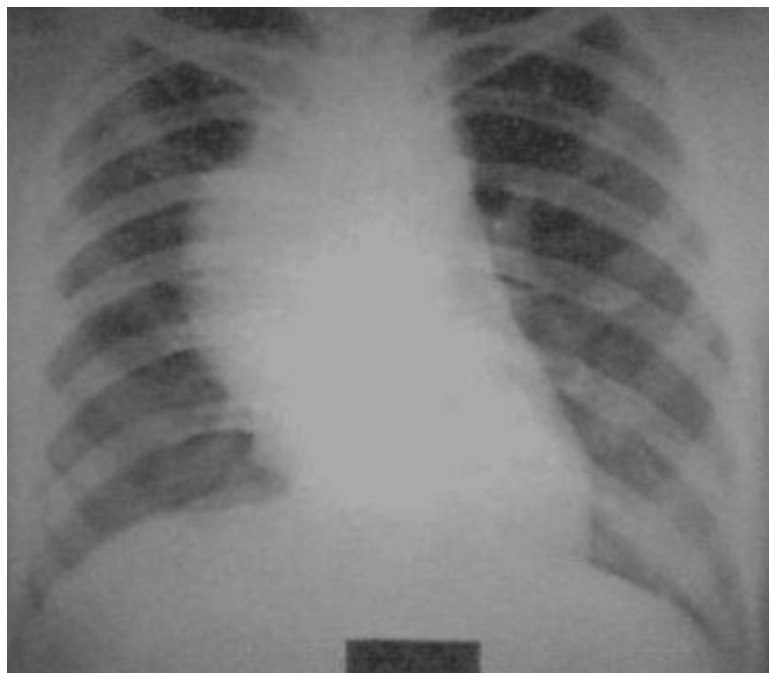


Рис. 59. Туморозна форма туберкульозного бронхоаденіту.

При інфільтративному варіанті тінь кореня розширена, подовжена, випукла, з нечіткими розмитими контурами із перифокальною інфільтрацією легеневої тканини (рис. 60).

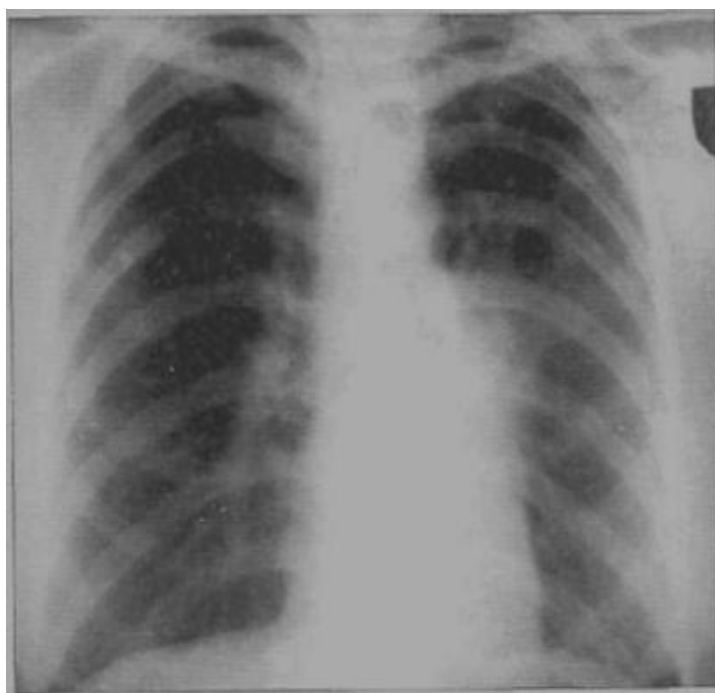


Рис. 59. Туморозна форма туберкульозного бронхоаденіту.

Лімфобронхіальні ускладнення на рентгенограмі проявляються вогнищами бронхогенної дисемінації, ознаками порушення бронхіальної прохідності (гіповентиляцією, локальною обструктивною емфіземою, ателектазом).

Туберкульозний плеврит

Плеврит – запалення плеври з утворенням на її поверхні фібрину чи накопичення у плевральній порожнині рідини. В залежності від характеру запальних змін у плеврі розрізняють сухі (фібринозні) і ексудативні плеврити. Патоморфологічно сухі плеврити відрізняються від ексудативних більш обмеженою кількістю рідини в плевральній порожнині.

За характером рідини ексудативні плеврити поділяються на:

- а) серозні;
- б) серозно-фібринозні;
- в) гнійні;
- г) геморагічні;
- д) хільозні.

За локалізацією плеврити бувають:

- а) реберної частини плеври;
- б) діафрагмальної;
- в) реберно-діафрагмальної;
- г) парамедіастинальні;
- д) міжчасткові.

За поширеністю – одно- і двобічні.

У клінічних проявах плевриту виділяють три основні синдроми:

- синдром сухого (фібринозного) плевриту;
- синдром випітного (негнійного) плевриту: серозний, серозно-фібринозний, рідше – геморагічний;
- синдром гнійного плевриту (емпієма плеври).

Основними клінічними симптомами фібринозного плевриту є плевральний біль та сухий кашель. Біль локалізується відповідно до місця ураження. В основному початок захворювання поступовий. При огляді хворого визначається деяке відставання ураженої половини грудної клітки; при перкусії обмежена рухливість нижнього легеневого краю; аускультативно – вислуховується шум тертя плеври.

Найчастішою формою ексудативного туберкульозного плевриту є серозний плеврит. Частіше початок захворювання поступовий. У міру накопичення серозного ексудату в плевральній порожнині, інтенсивність болю зменшується, проте наростає задишка. Зрушення органів середостіння призводить до зростання тахікардії, дихальної аритмії, підвищення тиску в легеневій артерії. При огляді хворого визначається різке відставання ураженої половини грудної клітки в акті дихання; притуплення перкуторного звуку; аускультативно – різко ослаблене дихання, задишка.

Гнійний плеврит утворюється внаслідок нагноєння ексудату і клінічно проявляється по-різному. Хронічна емпієма плеври характеризується хвилеподібним перебігом.

У гемограмі спостерігається зрушення лімфоцитарної формули вліво, лімфопенія і еозинопенія, помірний лейкоцитоз, ШОЕ різко прискорена.

Серозний плеврит характеризується появою прозорого світло-жовтого кольору ексудату, іноді з домішками фібрину, з питомою вагою 1015-1025 і вмістом білка 30 г/л і більше. Клітинний склад неоднаковий у різні періоди запального процесу. При схильності до нагноєння кількість лімфоцитів зниження і зростає вміст нейтрофілів. У серозно-фібринозних ексудатах визначається багато фібриногену.

Пошук МБТ у плевральній рідині здійснюють методом флотації і посіву. Туберкулінова проба позитивна або гіперергічна.

Рентгенологічно при ексудативному плевриті видно інтенсивну гомогенну тінь у задньо-нижніх і латеральних відділах легеневого поля (рис. 60). Верхній контур затемнення має вигляд косої дуги з найвищою точкою у

латеральних відділах і з поступовим зниженням до середостіння (лінія Дамуазо).

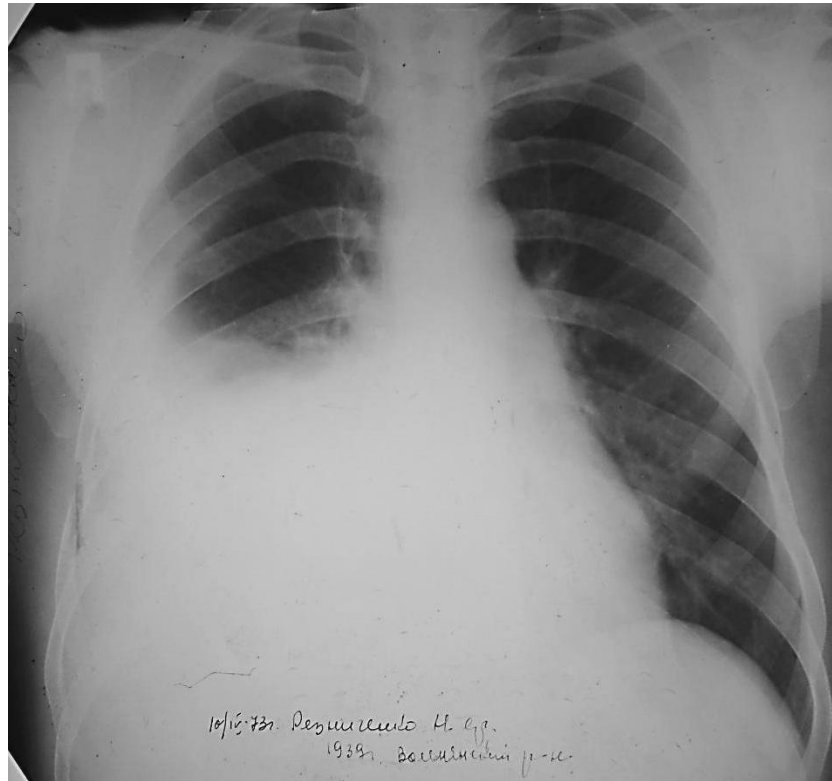


Рис. 60. Туморозна форма туберкульозного бронхоаденіту.

При значній кількості ексудату серце зміщується у протилежний бік. Якщо рідини не багато, видно лише затемнення в ділянці косто-діафрагмального синуса або високе положення діафрагми. Ексудат в міжчасткових щілинах на боковій рентгенограмі має вигляд лінзоподібних тіней.

Туберкульозний менінгіт

Туберкульозний менінгіт – це запалення м'якої мозкової оболонки, спричинене мікобактеріями туберкульозу. Серед факторів, що провокують розвиток туберкульозного менінгіту мають місце наступні: грип у дорослих і дітей, гостра вірусна інфекція, переохолодження, гіперінсоляція, часті захворювання бронхолегеневої системи, травма головного мозку або хребта, як наслідок БЦЖ інфекції в дітей, патологічні пологи, невстановлені причини.

Розрізняють:

- ✓ лептоменінгіт – запалення м'якою і павутиної оболонок,
- ✓ арахноїдит – запалення павутиної оболонки,
- ✓ пахіменінгіт – запалення твердої мозкової оболонки.

Туберкульозний менінгіт, як правило, є базиллярним менінгітом (рис. 61). Спочатку гематогенним шляхом уражуються судинні сплетіння шлуночків мозку з утворенням у них специфічної гранульоми. Потім відбувається лікворогенне поширення інфекції, МБТ по струмі спинномозкової рідини осідають на основі мозку, інфікують м'які мозкові оболонки і викликають різку алергійну реакцію в судинах, яка проявляється клінічно як гострий менінгеальний синдром.



Рис. 61. Туберкульозний менінгоенцефаліт.

У симптоматології менінгіту на перший план у клінічній картині виступають наступні синдроми:

- Синдром інтоксикації і нейротоксикозу.
- Менінгеальний синдром.

- Синдром ураження черепних нервів і спинномозкових корінців.
- Енцефалічний синдром.
- Лікворний синдром.

Менінгеальний синдром складається із двох симптомів: головного болю і контрактур. Головний біль, як правило, дуже інтенсивний, до почуття нестерпності. Вона підсилюється під впливом зовнішніх впливів і супроводжується блювотою без нудоти, без напруги, фонтаном. У механізмі виникнення головному болю основну роль відіграють два фактори:

- токсичне подразнення запальним процесом корінців трійничного і блукаючого нервів, що проходять через м'яку мозкову оболонку;
- підвищення внутрішньочерепного тиску внаслідок гіперсекреції спинномозкової рідини, що проводить до гідроцефалії. Блювота зумовлена безпосереднім або рефлекторним подразненням блукаючого нерва і його ядер, розміщених на дні IV шлуночка або блювотного центру в сітчастій субстанції довгастого мозку.

Контрактури обумовлені подразненням корінців запальним процесом і підвищенням тиску спинномозкової рідини, яка переповняє підпавутинний простір. Вони є вираженням підвищеної діяльності рефлекторного апарату спинного мозку. Подразнення корінців спинного мозку веде до підвищення тону м'язів потилиці, тулуба і живота, викликаючи ригідність потилиці, опістотонус і втягування живота. Наявність контрактур визначається симптомами: ригідністю м'язів потилиці і симптомом Керніга.

Ригідність м'язів потилиці – ранній і постійний симптом менінгіту. Спроба пасивно пригнути голову до грудей дає можливість вловити напругу м'язів, що розгинають голову (рис. 62). Ригідність потилиці маніфестується характерним закиданням голови; всіляка спроба змінити це фіксоване положення і нагнути голову вперед викликає різкий біль.



Рис. 62. Ригідність м'язів потилиці.

Симптом Керніга полягає в неможливості розігнути ногу в колінному суглобі, коли вона зігнута в кульшовому і колінному суглобах. Якщо зробити спробу зігнути ногу в кульшовому суглобі при розігнутім коліні – хворий рефлекторно згинає її в колінному суглобі.



Рис. 63. Симптом Керніга.

Менш постійні симптоми Брудзинського:

- верхній симптом Брудзинського: при пасивному нагинанні голови хворого вперед відбувається «захисне» згинання ніг у кульшовому і колінному суглобах (рис. 64);

- нижній симптом Брудзинського: при пасивному згинанні однієї ноги в кульшовому і розгинанні в колінному суглобі хворий мимоволі згинає іншу ногу.



Рис. 64. Верхній симптом Брудзинського.

У маленьких дітей визначають симптом підвішування Лесажа. Якщо підняти під пахви дитину, вона згинає ноги в кульшовому і колінних суглобах і фіксує їх у такому положенні.

Менінгеальний синдром супроводжується супутніми симптоми:

- підвищеною температурою;
- дисоціацією між пульсом і температурою, аритмією, коливанням артеріального тиску;
- порушеннями ритму дихання;
- вазомоторними розладами (різкий дермографізм, «плями Трусо»);
- секреторними розладами (збільшення пото - і слиновиділення);
- гіперстезія органів почуттів;

- порушеннями психічної сфери: загальмованість на перших етапах з наступної в міру прогресування хвороби сплутаністю свідомості і з переходом у коматозний стан.

При паралічі окодвигального нерва [III пара черепно-мозкових нервів (ЧМН)] спостерігаються такі симптоми (рис. 65):

- птоз, розширення зіниці, косоокість, яка розходиться;
- очне яблуко на здоровій стороні дивиться прямо, а на ураженій – повернене убік і злегка вниз;
- диплопія і параліч акомодациї;
- іноді екзофтальм.



Рис. 65. Параліч окодвигального нерва.

Параліч відводного нерва (VI пара ЧМН) (рис. 66):

- збіжна косоокість;
- неможливість повороту даного очного яблука убік;
- двоїння в очах, особливо при погляді убік ураженого м'яза;
- іноді запаморочення і змушене положення голови.



Рис. 66. Параліч відводного нерва.

Периферичний параліч лицевого нерва (VII пара ЧМН) (рис. 67):

- різка асиметрія обличчя. Уражена сторона маскоподібна, складки чола і носогубні складки згладжені, очна щілина ширша, кут рота опущений. При наморщуванні чола на стороні паралічу, не утворюється складок, при зажмурюванні очна щілина не змикається (лагофтальм - «заяче око»);
- частіше спостерігається центральний параліч лицевої мускулатури, який може сполучатися з геміплегією.

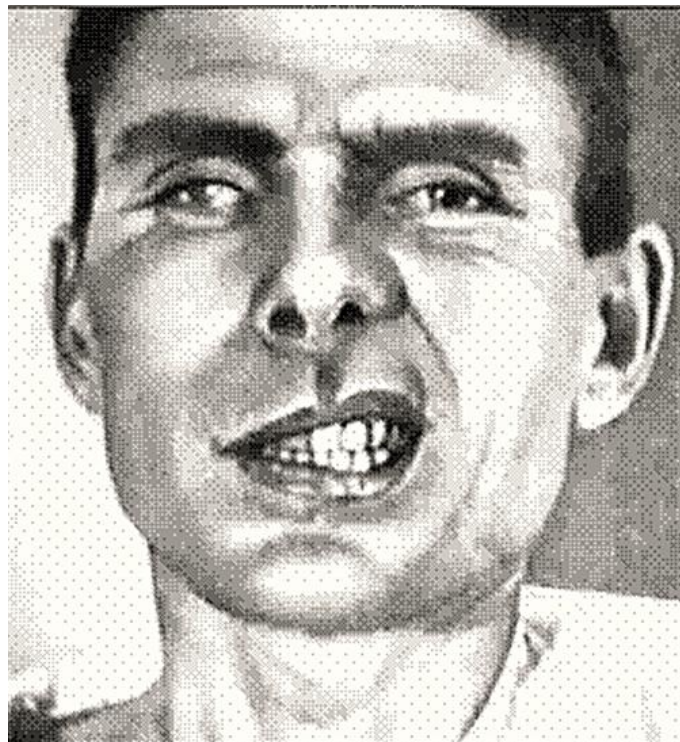


Рис. 67. Параліч лицевого нерва.

Параліч під'язичного нерва (XII пара ЧМН) (рис. 68):

- периферичний параліч або парез відповідної половини язика з атрофією і потоншенням м'язів. При висовуванні язика з рота він відхиляється своїм кінцем убік ураження.

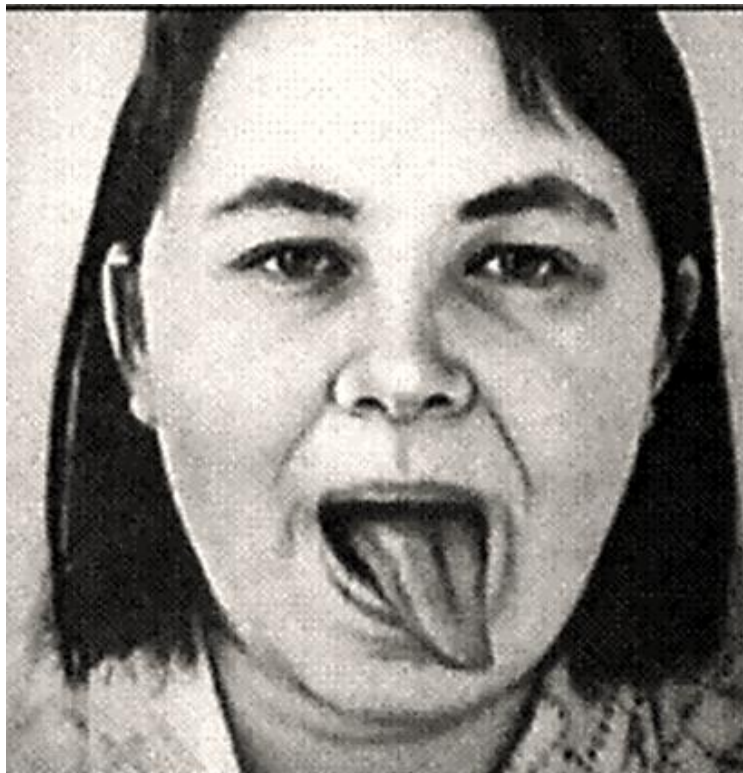


Рис. 68. Параліч під'язичного нерва.

Паралельно діагностуються клінічні порушення, пов'язані із залученням у патологічний процес речовини головного мозку. В основі цих уражень лежить прогресуючий ендартеріт мозкових судин з їхньою облітерацією, що веде до ішемії з наступним розм'якшенням відповідної ділянки мозку і ураженням пірамідного шляху з появою «пірамідних знаків».

Розгинальні патологічні рефлекси:

- Рефлекс Бабинського: подразнюючи шкіру підшви тупою голкою або рукояткою перкуторного молоточка, одержують у осіб з ураженим пірамідним пучком: тильне згинання великого пальця і розбіжність інших.

- Рефлекс Опенгейма: надавлюючи м'якоттю великого пальця руки на внутрішню поверхню гомілки, при ураженні пірамідного пучка виявляють тильну флексію великого пальця.
- Рефлекс Гордона: при здавлюванні ікроніжних м'язів відзначається рефлекторне розгинання великого пальця або всіх пальців.
- Рефлекс Шефера: при стисканні ахілового сухожилля відзначається розгинання великого пальця.
- Згинальні патологічні рефлекси
- Рефлекс Расолимо: короткі удари пальцями руки по м'якоті кінцевих фаланг 2 і 5 пальців ноги хворого викликають швидке підошовне згинання пальців.
- Рефлекс Жуковського-Корнілова: короткий удар перкуторним молоточком посередині підошви викликає підошовне згинання усіх пальців ноги.
- Патологічний рефлекс Менделя-Бехтерева: постукування перкуторним молоточком по бічній поверхні тилу стопи в основі 3 і 4 плюсневих кісток викликає при ураженні пірамідного шляху підошовне згинання 2 і 5 пальців.

Клінічні прояви туберкульозного менінгіту

По локалізації виділяють основні форми туберкульозного менінгіту:

- ✓ базилярний менінгіт;
- ✓ менінгоенцефаліт;
- ✓ спінальний менінгіт.

Розрізняють 3 періоду розвитку туберкульозного менінгіту:

- 1) продромальний;
- 2) подразнення;
- 3) термінальний (парезів і паралічів).

Продромальний період туберкульозного менінгіту характеризується поступовим (1-8 тижнів) розвитком. Спочатку з'являються головний біль,

запаморочення, нудота, іноді блювота, лихоманка. Температура тіла субфебрильна, рідше – фебрильна.

В період подразнення відбувається різке посилення симптомів, температура тіла 38-39°C, біль у лобній і потиличній області голови. Наростають сонливість, млявість, запаморення свідомості, ладьєвидний живіт. Світлобоязнь, гіперестезія шкіри, підвищена чутливість слуху. Вегетативно-судинні розлади: стійкий червоний дермографізм.

Наприкінці першого тижня періоду подразнення з'являється нечітко виражений менінгеальний синдром.

При запаленні менінгеальних оболонок спостерігаються головні болі, нудота і ригідність потиличних м'язів. При нагромадженні серозного ексудату в основі мозку може виникнути подразнення краніальних нервів з наступними ознаками: погіршення зору, параліч повік, косоокість, неоднаково розширені зіниці, глухота. набряк сосочка очного дна діагностується в 40 % пацієнтів.

При залученні мозкових артерій у патологічний процес може виникнути втрата мови або слабкість у кінцівках. При цьому може бути ушкоджена будь-яка область мозку. При гідроцефалії відбувається блокування ексудатом деяких цереброспінальних з'єднань з мозком. Гідроцефалія – головна причина втрати свідомості. Патологічні прояви можуть бути постійними і вказувати на поганий прогноз для хворих. При блокаді спинного мозку ексудатом може виникнути слабкість рухових нейронів або параліч нижніх кінцівок.

Термінальний період у клінічній картині переважають ознаки енцефаліту: відсутність свідомості, тахікардія, дихання Чейна-Стокса, температура тіла 40°C, парези, паралічі центрального характеру. При спінальній формі в 2-м і 3-м періодах спостерігаються оперізуючі сильні корінцеві болі, мляві паралічі, пролежні.

Дослідження ліквору. При базилярному менінгіті ліквор прозорий, безбарвний, витікає під підвищеним тиском – частими краплями або

струменем. Тиск ліквору іноді досягає 300-500 мм вод. ст.; підвищується зміст білка до 1,5-2 г/л; цитоз від 100 до 600 кліток в. Плеоцитоз на початку хвороби буває змішаним – нейтрофільно-лімфоцитарним, надалі – лімфоцитарний. Знижений рівень глюкози і хлоридів. При стоянні рідини, в ній випадає характерна фібринозна плівка у вигляді легкої павутинки; позитивні білкові реакції Панди і Нонні-Апельта. Плівка утворюється через 12-24 годин стояння ліквору у пробірці. Спинномозкова рідина досліджується також методом посіву на МБТ й неспецифічну флору.

Гемограма характеризується помірним лейкоцитозом, лімфопенією, збільшенням кількості паличкоядерних лейкоцитів, нормальне або прискорене ШОЕ.

Підтвердженням туберкульозної природи менінгіту є знаходження горбикових висипань на очному дні. Реакція туберкулінової проби позитивна, а в тяжких хворих на тлі ареактивності – негативна.

Міліарний туберкульоз

Міліарний туберкульоз – це гематогенна, майже завжди генералізована форма туберкульозу, що характеризується рівномірним густим висипом дрібних, з просяне зерно, туберкульозних горбків. Він переважно буває генералізованим з утворенням вогнищ в легенях, печінці, селезінці, кишечнику, мозкових оболонках. Рідше міліарний туберкульоз зустрічається як ураження лише легень.

В легенях формуються множинні дрібні вогнища завбільшки із просяне зерно (рис. 69), появі яких передують ураження капілярів легенів, що проявляється гіперергічною реакцією з дезорганізацією колагену капілярної стінки, фібриноїдним некрозом, що підвищує її проникність. Всі вогнища переважно ексудативного або продуктивного характеру. При міліарному туберкульозі інфекція також попадає у велике коло кровообігу з утворенням вогнищ у легенів, печінки, селезінці, кишечнику, мозкових оболонках. Рідше міліарний туберкульоз зустрічається як ураження лише легенів.



Рис. 69. Міліарний туберкульоз легень.

Клінічно міліарний туберкульоз поділяється на п'ять типів:

1. **Гострий туберкульозний (міліарний) сепсіс** – це найгостріший ареактивний туберкульозний сепсіс. Стан хворого вкрай тяжкий. Хвороба перебігає за типом септицемії. Клінічна картина схожа на тифоїдну форму, але перебігає швидко, з визначеною інтоксикацією, швидким порушенням функції всіх органів і систем. Хворі непритомні. Через декілька днів настає смерть за повної відсутності захисних сил організму з негативною туберкуліновою пробою, лейкопенією, агранулоцитозом.

2. **Тифоїдна форма.** При цій формі гострого міліарного туберкульозу просоподібні горбки локалізуються майже в усіх органах – легенях, серці, нирках, серозних оболонках, печінці та інших. Головним симптомом захворювання є тяжкий загальний стан хворого. Захворювання починається раптово, після помірних продромальних явищ (слабкість, головний біль) і супроводжується високою температурою тіла до 40°C і вище, яка носить пілоподібний характер, пітливістю, тахікардією, помірним ціанозом.

Поступово ці явища зростають, задишка та інтоксикація стають найтяжчими ознаками. За прогресуванням хвороби порушується свідомість. Прояви ураження інших органів і систем виражені не значно. Перкуторно над легеньми визначається тимпанічний звук, можливі ознаки дифузного бронхіту перифокального походження, іноді вислуховуються крепітувальні хрипи. харкотиння дуже мало. На ранніх стадіях захворювання (перші 7-14 днів) тіні можуть не визначатися, проте спостерігається загальне зниження пневматизації легенів – симптом «павутиння», потім з'являються дифузні, рівномірно розподілені, часто ланцюгом по ходу судин, дрібні малоінтенсивні тіні, переважно діаметром 1-2 мм, проте при їх злитті можуть визначатися тіні до 5-10 мм. У крові спостерігається лейкопенія, лімфопенія, анеозинофілія, агранулоцитоз, іноді анемія. Туберкулінові проби можуть бути негативні через анергію.

3. Менінгіальна форма. Частіше спостерігається у дітей при первинному туберкульозі, хоча зустрічається і у дорослих. Виражені симптоми загальної інфекції та інтоксикації. З перших днів відзначається різкий головний біль, що посилюється при найменшому порушенні спокою. З підвищенням внутрішньочерепного тиску порушується свідомість. Далі приєднуються симптоми ураження черепних нервів, парези і паралічі центрального типу, пізніше виникають гіперкінези, розлад мовлення.

4. Легенева форма. Проявляється різко наростаючою задишкою, цианозом, сухим кашлем, тахікардією на тлі вираженої інтоксикації. У легеньках виникає емфізема і перкуторно виявляють коробковий відтінок легеневого звуку. Аускультативно визначається ослаблене, жорстке дихання, інколи прослуховуються сухі і дрібнопухирчасті вологі хрипи. Рентгенологічно виявляють тотальну дисемінацію дрібних малоінтенсивних вогнищ, переважно діаметром 1-2 мм.

5. Хронічний міліарний туберкульоз. Має дуже мізерні клінічні прояви, часто не помітні для хворого. Іноді спостерігається періодичний

субфебрилітет, задишка при фізичному навантаженні. На рентгенограмі легень визначаються множинні міліарні вогнища різної інтенсивності.



Рис. 70. Рентгенологічні прояви міліарного туберкульозу легень.

Туберкульоз невстановленої локалізації

Туберкульоз невстановленої локалізації (туберкульозна інтоксикація) у дітей виникає при інфікуванні туберкульозом і розвитку первинної туберкульозної інфекції без локальних проявів, що підтверджується результатами рентгенологічного та інших методів дослідження.

Туберкульозна інтоксикація виявляється у дітей з вперше позитивними реакціями на туберкулін, що посилюється в процесі спостереження, а також з гіперергічними реакціями. Вона характеризується активністю туберкульозного процесу, що проявляється:

- погіршенням загального стану,
- періодичним підвищенням температури тіла до субфебрильної,
- погіршенням апетиту,
- появою нейровегетативних розладів (підвищена нервова збудженість або її пригнічення, головні болі, тахікардія),

- незначним збільшенням периферичних лімфатичних залоз (мікрополіаденія) з проявами периаденіту,
- незначним збільшенням печінки, рідше селезінки,
- зупинкою фізіологічного приросту або дефіцитом маси тіла,
- схильністю до інтеркурентних захворювань,
- змінами в картині крові (незначним прискоренням швидкості осідання еритроцитів, зсувом нейтрофілів вліво, еозинофілією, лімфопенією),
- зміною імунологічного статусу (зниженням числа Т-лімфоцитів та їх функціональної активності).

Специфічність зазначених функціональних порушень повинна бути підтверджена ретельним обстеженням дитини з метою виключення неспецифічних захворювань. Для цього слід використовувати сучасні методи діагностики, в тому числі пряму та бокову рентгенографію легень, томограми межистіння в різних проекціях, комп'ютерну томографію легень, бронхоскопію, туберкуліно-провокаційні проби перед і після підшкірного введення туберкуліну, а також бактеріологічне дослідження. У сумнівних випадках рекомендується застосовувати пробне лікування протитуберкульозними препаратами тривалістю до 3 місяців.

До туберкульозу невстановленої локалізації не відноситься латентну туберкульозну інфекцію у дітей, бо це не захворювання на туберкульоз, а лише інфікування дітей мікобактеріями. Проявами латентної туберкульозної інфекції у дітей слід вважати всі випадки позитивної туберкулінової проби, в т.ч. віражу та гіперергічної туберкульозної реакції.

ОСНОВНІ ЗАКОНОДАВЧІ ДОКУМЕНТИ ЩОДО РОБОТИ БАКТЕРІОЛОГІЧНОЇ ЛАБОРАТОРІЇ ПРОТИТУБЕРКУЛЬОЗНОЇ СЛУЖБИ УКРАЇНИ

1. Наказ МОЗ України від 06.02.2006 р. № 50 «Про затвердження типових положень про лабораторії і пункти з діагностики туберкульозу та пункти збору мокротиння». – Київ, 2006.
2. Наказ МОЗ України від 16.08.2010 № 684 (zareєстрованим у Міністерстві юстиції України 10.09.2010 за № 803/18098) «Стандарт інфекційного контролю за туберкульозом в лікувально-профілактичних закладах, місцях довгострокового перебування людей та проживання хворих на туберкульоз».
3. Наказ МОЗ України від 06.02.2002 № 45 "Про затвердження інструкції з бактеріологічної діагностики туберкульозної інфекції".
4. Наказ МОЗ України від 16.07.2008 № 388 "Про затвердження нормативів оснащення лабораторій з мікробіологічної діагностики туберкульозу 1–4 рівнів", zareєстрований Міністерством юстиції України 04.08.2008 за № 719/1510.
5. Наказ МОЗ України від 10.06.2010 № 478 "Про реорганізацію лабораторної мережі з мікробіологічної діагностики туберкульозу".
6. Наказ МОЗ України від 14.12.92 р. № 183 "Про режим роботи з патогенними мікроорганізмами".
7. Положення про порядок проведення атестації лікарів, затвержене наказом МОЗ України від 19.12.97 № 359, zareєстроване в Міністерстві юстиції України 14.01.98 за № 14/2454.
8. Положення про Свідоцтво про проходження підвищення кваліфікації та перепідготовки молодших медичних та фармацевтичних спеціалістів, затверженого наказом МОЗ України від 07.09.93 № 198, zareєстровано в Міністерстві юстиції України 31.12.93 за № 208.

9. Наказ МОЗ України від 28.12.2002 № 500 "Про затвердження примірних положень в бактеріологічній службі системи МОЗ України".
10. Державні санітарні правила ДСП 9.9.5.-080-2002 "Правила влаштування і безпеки роботи в лабораторіях (відділах, відділеннях) мікробіологічного профілю".
11. Державні санітарні правила ДСП 9.9.5-064-2000 "Порядок видачі дозволів на роботу з мікроорганізмами I–IV груп патогенності та рекомбінантними молекулами ДНК".
12. Державні санітарні норми і правила ДСанПін 9.9.5-153-2008 "Організація роботи лабораторій при дослідженні матеріалу, що містить біологічні патогенні агенти I–IV груп патогенності, молекулярно-генетичними методами".
13. Стандарти бактеріологічної діагностики туберкульозу в лабораторіях протитуберкульозних закладів України: навчальний посібник для фахівців бактеріологічних лабораторій закладів протитуберкульозної служби України / Журило О.А., Барбова А.І., Глушкевич Т.Г., Третякова Л.В. – Київ, 2012. – 188 с.
14. Порядок використання молекулярно-генетичних методів у лабораторіях з діагностики туберкульозу в Україні: методичні рекомендації / Барбова А.І., Журило О.А., Жеребко Н.М. [та ін.]. – Київ, 2014. – 17 с.
15. Алгоритм діагностики хіміорезистентного туберкульозу з комплексним використанням гено – та фенотипічних методів в бактеріологічних лабораторіях протитуберкульозних закладів України: методичні рекомендації / Журило О.А. [та ін.]. – Київ, 2013. – 21 с.
16. Лабораторная служба в программах борьбы с туберкулезом. Часть I. Организация и менеджмент. WHO/TB/98.258. ВООЗ. Женева, Швейцария, 1998.
17. Лабораторная служба в программах борьбы с туберкулезом. Часть II. Бактериоскопия. WHO/TB/98.258. ВОЗ. Женева, Швейцария, 1998.

18. Лабораторная служба в программах борьбы с туберкулезом. Часть III. Культуральное исследование. WHO/TB/98.258. ВООЗ. Женева, Швейцария, 1998.
19. Руководство по программному ведению лекарственно устойчивого туберкулеза. ISBN 978 92 4 454695 6 (NLM classification: WF 310). ВООЗ. Женева, Швейцария, 2007.
20. Инструмент оценки лаборатории по туберкулезу. ВООЗ, Женева, 2003.
21. Национальная референс-лаборатория по туберкулезу в системе общественного здравоохранения и национальная лабораторная сеть. Минимальные потребности, роль и организация работы в стране с ограниченными возможностями. – Международной союз по борьбе с туберкулезом и заболеваниями легких, 1998.

СПИСОК РЕКОМЕНДОВАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

Базова

- Фтизіатрія : підручник для студентів ВМНЗ / О.С. Шальмін, Р.М. Шевченко, О.А. Растворов [та ін.]. – Запоріжжя [ЗДМУ], 2010. – 324 с.
- Фтизіатрія : підручник / За ред. В.І. Петренка. - Вінниця: “Нова книга”, 2006. – 503 с.
- Фтизіатрія : національний підручник / В.І. Петренко, Л.Д. Тодоріко, Л.А. Грищук [та ін.]. - К.: ВСВ «Медицина», 2015. – 472 с.

Допоміжна

1. Аляпкина Ю.С., Алексеев Я.И., Варламов Д.А. и др. Разработка технологии ПЦР в реальном времени для экспресс-определения лекарственной устойчивости микобактерий туберкулеза к противотуберкулезным препаратам резервного ряда: фторхинолонам, амикацину и капреомицину // Туберкулёз и болезни лёгких. – 2014. – № 12. – С. 69-75.
2. Баранов А.А., Марьяндышев А.О. Применение методов молекулярной биологии для исследования микобактерий туберкулеза // Проблемы туберкулеза и болезней легких. – 2008. – № 4. – С. 3-7.
3. Барбова А.І., Журило О.А., Жеребко Н.М., Чайка А.О. Порядок використання молекулярно-генетичних методів у лабораторіях з діагностики туберкульозу в Україні : методичні рекомендації. – Київ, 2014. – 17 с.
4. Белоусова К.В., Кравченко М.А., Бердников Р.Б. и др. Сравнительный анализ клинически значимых биологических свойств *Mycobacterium tuberculosis*, выделенных из резецированных участков легких и респираторного материала // Биологические науки. – 2014. – № 9. – С. 2452-2455.
5. Воронкова О.В., Уразова О.И., Хасанова Р.Р. и др. Генотипическая характеристика *M. tuberculosis* – возбудителей остро прогрессирующего

- деструктивного туберкулеза легких // Бюллетень сибирской медицины. – 2011. – № 1. – С. 11-18.
6. Глик Б., Пастернак Дж. Молекулярная биотехнология. Принципы и применение. – Москва : Мир, 2002. – 589 с.
 7. Дмитриев В.А. Глобальная проблема туберкулеза и современная стратегия ВОЗ борьбы с ним // Антибиотики и химиотерапия. – 2008. – № 5-6. – С. 3-6.
 8. Ерохин В.В., Черноусова Л.Н. Значение молекулярно-генетических исследований в модернизации фтизиатрии // Фтизиатрия и пульмонология. – 2011. – № 2 (2). – С. 52-53.
 9. Журило О.А., Барбова А.І., Глушкевич Т.Г., Третьякова Л.В. Стандарты бактеріологічної діагностики туберкульозу в лабораторіях протитуберкульозних закладів України: навчальний посібник для фахівців бактеріологічних лабораторій закладів протитуберкульозної служби України. – Київ, 2012. – 188 с.
 10. Журило О.А., Барбова А.І., Черенько С.О. та ін. Алгоритм діагностики хіміорезистентного туберкульозу з комплексним використанням гено – та фенотипічних методів в бактеріологічних лабораторіях протитуберкульозних закладів України : методичні рекомендації. – Київ, 2013. – 21 с.
 11. Исакова Ж.Т. Практическое значение тест-системы «ТБ-Биочип MDR» в экспресс-идентификации штаммов *M.tuberculosis* с множественной лекарственной устойчивостью // Клиническая лабораторная диагностика. – 2009. – № 2. – С. 50-51.
 12. Концепции химиотерапии и этиологической (микробиологической и молекулярно-биологической) диагностики туберкулеза в Российской Федерации на современном этапе // Медицинский альянс. – 2013. – № 1. – С. 31-33.
 13. Лаврова О.И., Фигероа Альварес М.В., Творогова М.Г. HRM – новый молекулярный метод определения лекарственной устойчивости

- микобактерий туберкулеза // Клиническая лабораторная диагностика. – 2014. – № 7. – С. 62-64.
14. Мельник В.М., Матусевич В.Г., Новожилова І.О. та ін. Організація виявлення та лікування хворих на хіміорезистентний туберкульоз : методичні рекомендації. – Київ, 2014. – 20 с.
15. Недоспасова О.В., Павлова О.В., Щербінська А.М. та ін. Туберкульоз в Україні: аналітично-статистичний довідник. – Кіровоград: «ПОЛІУМ», 2014. – 106 с., 87 табл.
16. Николаєвський В.В. Оптимізація стратегії генотипування штамів *Mycobacterium tuberculosis* в Одеській області України: порівняння методів споліготипування та VNTR // Одеський медичний журнал – 2005. – Vol. 89, № 3. – С. 32-38.
17. Салина Т.Ю., Морозова Т.И. Клинические и эпидемиологические аспекты микробиологической диагностики туберкулеза с использованием биологических микрочипов // Медицинский альманах. – 2011. – № 4 (17). – С. 59- 62.
18. Скорняков С.Н., Умпелева Т.В., Вязовая А.А. и др. Генотипирование уральских изолятов *Mycobacterium tuberculosis* // Биологические науки. – 2014. – № 9. – С. 2485-2488.
19. Скотникова О.И. Молекулярно-биологические методы во фтизиатрии // Проблемы туберкулеза и болезней легких. – 2005. – № 8. – С. 5-10.
20. Сурикова О.В., Войтих Д.В., Курунов Ю.Н. Опыт использования VNTR-типирования: *Mycobacterium tuberculosis* для решения клинических задач: контроля за качеством лечения и работой лабораторной службы // Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. – 2005. – № 2. – С. 21-24.
21. Фещенко Ю.І., Мельник В.М. Організація контролю за хіміорезистентним туберкульозом. Виробниче видання. – К.: Здоров'я, 2013. – 704 с.

- 22.Фещенко Ю.І., Мельник В.М., Турченко Л.В. Концептуальні засади оптимізації протитуберкульозних заходів і реформування протитуберкульозної служби в Україні. – Режим доступа: <ftp://ftp1.ifp.kiev.ua/original/2015/feschenko2015.pdf>.
- 23.Фещенко Ю.І., Мельник В.М., Турченко Л.В., Лірник С.В. Туберкульоз: організація діагностики, лікування, профілактики та контролю за смерністю. – К.: Здоров'я, 2010. – 448 с.
- 24.Філатова О.В., Бойко М.Г. Роль генетичних досліджень в лікуванні туберкульозу // Вісник проблем біології і медицини – 2013 – Вип. 1, том 2 (99). – С. 221-223.
- 25.Фтизиатрия. Национальное руководство / Под ред. М.И. Перельмана. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2007. – С. 170.
- 26.Чередник Ю.О., Анопрієнко О.В., Горовенко Н.Г., Фещенко Ю.І. Генотипові та клініко-епідеміологічні характеристики ізолятів *Mycobacterium tuberculosis*, що циркулюють в м. Києві // Вісник проблем біології і медицини – 2013. – Вип. 4, Том 1 (104). – С. 220-225.
- 27.Чередник Ю.О., Анопрієнко О.В., Горовенко Н.Г., Фещенко Ю.І. ETR-VNTR та групоспецифічне SNP-типсування штамів *Mycobacterium tuberculosis*, що циркулюють у м. Києві // Вісн. Укр. тов-ва генетиків і селекціонерів. – 2013. – том 11, № 2. – С. 283-291.
- 28.Чередник Ю.О., Анопрієнко О.В., Горовенко Н.Г., Фещенко Ю.І. Проблеми комплексної лабораторної ПЛР-діагностики і генотипування штамів *Mycobacterium tuberculosis* в Україні // Досягнення і проблеми генетики, селекції та біотехнології: зб. наук. пр. – 2012. – Т. 3. – С. 398-403.
- 29.Черенько С.О. Проблема хіміорезистентного туберкульозу. – Режим доступа: <http://www.ifp.kiev.ua/doc/people/tubrezist.htm>.
- 30.Черенько С.О., Варицька А.О., Барбова А.І., Трофимова П.С. Контингенти хворих з груп високого ризику щодо мультирезистентного туберкульозу Rif⁺ за результатами обстеження хворих за допомогою

- Genexpert MTB/RIF // Туберкульоз, легеневі хвороби, ВІЛ-інфекція. – 2014. № 4 (19). – С. – 29-33.
31. Україна. МОЗ. Уніфікований клінічний протокол первинної, вторинної (спеціалізованої) та третинної (високоспеціалізованої) медичної допомоги: наказ МОЗ України від 21.12.2012 р. № 1091. – 166 с.
32. Україна. МОЗ. Уніфікований клінічний протокол первинної, вторинної (спеціалізованої) та третинної (високоспеціалізованої) медичної допомоги дорослим «Туберкульоз»: наказ МОЗ України від 04.09.2014 р. № 620. – 139 с.
33. Bustin S.A. Absolute quantification of mRNA using real-time reverse transcription polymerase chain reaction assays // *Journal of Molecular Endocrinology*. – 2000. – Vol. 25. – P. 169-193.
34. Cole S.T. Comparative and functional genomics of the *Mycobacterium tuberculosis* complex // *J Microbiol*. – 2002. - Vol. 148. – P. 2919-2928.
35. Dymova M.A., Liashenko O.O., Poteiko P.I. et al. Genetic variation of *Mycobacterium tuberculosis* circulating in Kharkiv Oblast, Ukraine // *BMC Infect. Dis*. – 2011. – Vol. 11. – P. 77-87.
36. Erali M., Palais R., Wittwer C.T. SNP genotyping by unlabeled probe melting analysis // *Methods in Molecular Biology*. – 2008. – Vol. 429. – P. 199-206.
37. Fenner L., Malla B., Ninet B. et al. «PseudoBeijing»: evidence for convergent evolution in the direct repeat region of *Mycobacterium tuberculosis* // *PLoS One*. – 2011. – Vol. 6, № 9. – P. 24737.
38. Genotyping of triallelic SNPs using TaqMan PCR // [Molecular and Cellular Probes](#). – 2007. – Vol. 21 (3). P. 171-176.
39. Giegling I., Hartmann A.M., Möller H.J., Rujescu D. Anger- and aggression-related traits are associated with polymorphisms in the 5-HT-2A gene // [Journal of Affective Disorders](#). – 2006. – Vol. 96 (1-2). – P. 75-81.

40. Hecker K., Roux K. High and low annealing temperatures increase both specificity and yield in touchdown and stepdown PCR // *Biotechniques*. – 1996. – Vol. 20 (3). – P. 478-485. [PMID 8679209](#).
41. Iwamoto T., Yoshida S., Suzuki K. et al. Hypervariable loci that enhance the discriminatory ability of newly proposed 15-loci and 24-loci variable-number tandem repeat typing method on *Mycobacterium tuberculosis* strains predominated by the Beijing family // *FEMS Microbiol. Lett.* – 2007. – Vol. 272. – P. 282-283.
42. Nolan T., Hands R.E., Bustin S.A. Quantification of mRNA using real-time RT-PCR // *Nat. Protoc.* – 2006. – Vol. 1. – P. 1559-1582.
43. Roux K. Using mismatched primer-template pairs in touchdown PCR // *Biotechniques*. – 1994. – Vol. 16 (5). – P. 812-814. [PMID 8068332](#).
44. Sharma N., Nautiyal S.C., Kumari S. et al. High Resolution Melt Curve Analysis- An Innovative Approach for Molecular Diagnosis // *WebmedCentral Biotechnology*. – 2013. - Vol. (3). WMC003998.
45. Stepashina V.N., Ivanov I.Iu., Lipin M.Iu., Shemiakin I.G. Characteristics of *Mycobacterium tuberculosis* clinical strains genotype A1 // *Mol. Gen. Mikrobiol. Virusol.* – 2006. – Vol. 2. – P. 29-33.
46. Supply P., Allix C., Lesjean S. et al. Proposal for standardization of optimized mycobacterial interspersed repetitive unit-variable-number tandem repeat typing of *Mycobacterium tuberculosis* // *J. Clin. Microbiol.* – 2006. – Vol. 44, № 12. – P. 4498-4510.
47. VanGuilder H.D., Vrana K.E., Freeman W.M. Twenty-five years of quantitative PCR for gene expression analysis // *Biotechniques*. – 2008. – Vol. 44. – P. 619-626.
48. WHO. Global Tuberculosis Control report. – Geneva, Switzerland: WHO, 2012. – 273 p.
49. Zheltkova E., Raddy M.C., Malomanova N. et al. Typing of *Mycobacterium tuberculosis* cultures from Samara region by the variable number of tandem

repeats // Zh. Mikrobiol. Epidemiol. Immunobiol. – 2004. – Vol. 1. – P. 35-37.

50. Наказ МОЗ України від 16.08.2010 № 684 (zareestrovanim у Міністерстві юстиції України 10.09.2010 за № 803/18098) «Стандарт інфекційного контролю за туберкульозом в лікувально-профілактичних закладах, місцях довгострокового перебування людей та проживання хворих на туберкульоз».

51. www.cdc.gov/od/ohs/biosfty/bmbl/section7.htm.

52. <http://www.who.int/tb/laboratory/resource>.