**ОРГАНИЗАЦИЯ И ПРОВЕДЕНИЕ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ И МОНИТОРИНГА ТУБЕРКУЛЁЗА В СООТВЕТСТВИИ С ФКР «ТУБЕРКУЛЁЗ У ВЗРОСЛЫХ» 2022 ГОДА (версия для сайта).**

**Первичные исследования на этапе диагностики.**

Первичными являются все исследования, выполняемые непосредственно из биологических материалов, взятых у пациентов.

Этапом диагностики считаются исследования, выполняемые пациентам, которые ранее не болели туберкулёзом или эффективно излечились от него и были сняты с диспансерного учёта, до установления диагноза «туберкулёз» (или, по крайней мере, до начала лечения противотуберкулёзными препаратами) либо до момента, когда подозрение на туберкулёз отвергнуто.

1. Рекомендовать медицинским учреждениям общелечебной сети для диагностики туберкулёза исследовать методом микроскопии по Циль-Нильсену 3 образца мокроты. При наличии возможности (если есть соответствующее оборудование и картриджи) исследовать 1 образец мокроты методом ПЦР GeneXpert (ПЦР GX).

Все МО, самостоятельно выполняющие ПЦР GX, обязаны подавать отчёты об их результатах в соответствии с действующими распоряжениями Комитета по здравоохранению Ленинградской области.

2. На этапе постановки диагноза все виды исследований (из районных амбулаторных учреждений, межрайонных больниц, туберкулёзных кабинетов), которые выполняются в Центральной бактериологичесой лаборатории (ЦБЛ) ГКУЗ «ЛОПТД», планируются и назначаются районным фтизиатром или специалистом, его замещающим. Если пациент на данном этапе госпитализирован в туберкулёзный стационар или находится в туберкулёзном санатории – исследования назначает врач-фтизиатр. Если пациент находится в областной больнице (детской или взрослой), обследование проводится по согласованию с заместителем главного врача по медицинской части или заведующим консультативным отделением ГКУЗ «ЛОПТД».

3. При планировании и проведении обследования на этапе постановки диагноза соблюдается принцип преемственности между ОЛС и противотуберкулёзными учреждениями, исключающий излишние затраты ресурсов при лабораторных исследованиях.

4. Этап диагностики в ЦБЛ, осуществляемый в плановом порядке, включает:

- комплексное исследование как минимум одного (первого) образца, соответствующего локализации процесса, с применением микроскопии по Циль-Нильсену, посева на жидкие и плотные питательные среды и ПЦР RT с возможностью определения мутаций к изониазиду, рифампицину и фторхинолонам.

(Примечание: такое комплексное исследование не применяется для мочи, кала, секционных материалов и материалов с обильной примесью крови).

- дополнительное исследование как минимум одного (второго) образца, соответствующего локализации процесса, с применением посева на плотные питательные среды.

(Примечания: а) понятие «образец, соответствующий локализации процесса» применяется в том числе для определения группы возможных материалов, соответствующих одной и той же локализации процесса. Так, для нижних дыхательных путей такими материалами являются мокрота, промывные воды бронхов, бронхолёгочные аспираты и т.д. Эти виды материалов считаются аналогами и при обследовании должен быть выбран для назначения наиболее информативный из них. Так, если пациент отделяет мокроту – целесообразно назначить исследование именно мокроты, а если не выделяет – не назначать бесполезное в данном случае исследование «мокроты», а направить промывные воды бронхов;

б) приведённое выше исследование двух образцов считается достаточным, если по микроскопии и ПЦР (или, по крайней мере, ПЦР, получен положительный результат. В остальных ситуациях необходимо руководствоваться приведёнными ниже диагностическими схемами. Схема обследования также меняется в случае, если у пациента есть особо экстренные показания для ПЦР-диагностики).

5. Плановый диагностический алгоритм при отрицательном результате ПЦР:

- выполняется дополнительный анализ ПЦР RT из сохранённого осадка второго образца или запрашивается дополнительный (третий) образец для этого исследования.

6. Диагностический алгоритм при выполненном в другом учреждении ПЦР GX с положительным результатом:

- применяется плановый диагностический алгоритм, но без ПЦР RT в первом образце.

7. Диагностический алгоритм при выполненном в другом учреждении ПЦР GX с отрицательным результатом:

- выполняется плановый диагностический алгоритм по п. 4, при отрицательном результате ПЦР дополнительный анализ ПЦР по п. 5 не делается.

8. Диагностический алгоритм при особо экстренных показаниях для ПЦР-диагностики и невозможности проведения ПЦР GX на месте (особо экстренными показаниями служат тяжёлое состояние пациента, ВИЧ-инфекция с угрозой быстрого прогрессирования процесса, необходимость срочного перевода в другую медицинскую организацию и т.д.):

- один (первый) образец исследуется ПЦР GX;

- один (второй) образец исследуется методами микроскопии, посева на плотные и жидкие среды, а при отрицательном результате ПЦР GX также выполняется ПЦР RT;

- дополнительный (третий) образец (при наличии) исследуется методом посева на плотные среды.

9. Исследование кала и секционного материала выполняется только методами ПЦР, при необходимости двукратно.

10. Исследование мочи и материалов с примесью крови проводится без посева на жидкие среды в связи с каталитическими свойствами этих материалов. Метод микроскопии при исследовании мочи не используется. Предпочтительно использование следующих алгоритмов:

Моча:

- первый образец – ПЦР GX

- второй образец – посев на плотные среды и ПЦР RT;

- третий образец – посев на плотные среды.

Кровянистые образцы:

- первый образец – микроскопия и ПЦР GX

- второй образец – посев на плотные среды и ПЦР RT;

- третий образец – посев на плотные среды.

11. Во всех случаях, когда этап диагностики разделён с этапом «перед началом лечения» небольшим временным интервалом (менее месяца), дополнительное обследование перед началом лечения не проводится, за исключением следующих случаев:

- первичное диагностическое обследование может быть признано недостаточно эффективным (отрицательные микроскопии и ПЦР, пророст посторонней микрофлорой как минимум в посеве на жидкие среды или во всех посевах);

- быстро развивающаяся отрицательная клинико-рентгенологическая динамика с момента первичного обследования при отрицательных результатах микроскопии и ПЦР, а также отсутствии роста в сделанных ранее посевах.

Если дополнительное обследование признано целесообразным, оно проводится по тем же алгоритмам, что и первичное.

12. Если после первичного обследования прошло более месяца, диагноз «туберкулёз» пациенту не установлен и не верифицирован, лечение не начато, назначаемое новое обоснованное обследование является повторным. Такое обследование проводится по обычным (приведённым выше) алгоритмам, но без применения ПЦР GX.

**Исследования при наличии выделенных культур МБТ на этапе диагностики.**

1. Все культуры, выросшие на жидких средах, подлежат дополнительной верификации на принадлежность к туберкулёзному комплексу. В зависимости от возможностей снабжения ЦБЛ для этого может использоваться любой из нижеперечисленных методов (в сочетании с микроскопией мазка по Циль-Нильсену из культуральной жидкости):

- иммунохроматографический тест (ИХ-тест) MPT64 (наиболее предпочтительный);

- ПЦР GX

- гибридизация с применением биологических микрочипов.

2. Такой же верификации подлежат культуры, выросшие на плотных средах и имеющие нехарактерные для МБТ ростовые свойства при наличии КУМ в мазке из культуры.

3. Для культур, полученных у пациентов, у которых ПЦР при первичном обследовании были отрицательными, необходимо провести углублённый комплекс верификации для предварительной оценки устойчивости к препаратам и планированию фенотипического определения теста на лекарственную чувствительность (ТЛЧ):

- ИХ-тест положительный – проводится ПЦР GX культуры. При наличии устойчивости к рифампицину дополнительно проводится гибридизация с применением биологических микрочипов для подтверждения устойчивости к рифампицину, а также определения устойчивости к изониазиду и фторхинолонам.

4. Для культур пациентов, у которых на любом этапе (первичное исследование или исследование культуры) не определены гены устойчивости к изониазиду и/или рифампицину, планируется постановка ТЛЧ только к препаратам 1 ряда. Данный анализ может быть выполнен методом абсолютных концентраций или пропорций на плотных средах к S, H, R, E или методом пропорций на жидких средах к S, H, R, E и Z.

5. Для культур пациентов, у которых на любом этапе (первичное исследование или исследование культуры) определены гены устойчивости к изониазиду и/или рифампицину, но не определены гены устойчивости к фторхинолонам, планируется постановка ТЛЧ к препаратам как 1, так и 2 ряда. При этом возможно определять устойчивость к препаратам 1 ряда, а также этионамиду, аминогликозидам, капреомицину методом пропорций на плотных средах, а к пиразинамиду, фторхинолонам, линезолиду, бедаквилину и деламаниду (при наличии) – методом пропорций на жидких средах. Если возможности лаборатории не ограничены – возможно определять все перечисленные препараты на жидких средах.

6. Для культур пациентов, у которых определены гены устойчивости к изониазиду и/или рифампицину и фторхинолонам, планируется постановка ТЛЧ к препаратам 1 и 2 ряда на жидких средах.

7. В случаях, когда лаборатория ограничена в ресурсах по применению коммерческих жидких сред, она должна использовать любые доступные иные методы, позволяющие включить в число исследуемых наибольшее количество противотуберкулёзных препаратов.

8. В связи с отсутствием рекомендаций по исследованию ряда препаратов с 1 января 2023 года прекращаются постановки ТЛЧ на следующие препараты:

- офлоксацин;

- ПАСК;

- циклосерин.

9. В связи с высокой перекрестной устойчивостью с другими препаратами, к которым выработаны чёткие рекомендации по критическим концентрациям и имеются доступные чистые фармацевтические субстанции, с 1 января 2023 года прекращаются постановки ТЛЧ к рифабутину, и не применяются постановки ТЛЧ к протионамиду.

**Дополнительные исследования при выявлении противоречий по устойчивости, определяемой молекулярно-генетическими и фенотипическими методами.**

1. По различным причинам в процессе диагностики могут быть выявлены разночтения по результатам определения ТЛЧ фенотипическими и молекулярно-генетическими методами (МГМ) к наиболее значимым препаратам для назначения режима противотуберкулёзной терапии (изониазиду, рифампицину и фторхинолонам). Общая рекомендация в этом случае сводится к проведению двух дополнительных молекулярно-генетических и/или одного фенотипического контрольных исследований. На основании их результатов делается окончательное заключение о наличии или отсутствии устойчивости к данным препаратам.

2. При выявлении несоответствия результатов ТЛЧ к одному или нескольким препаратам ЦБЛ формирует соответствующую информацию об этом (заключение установленной формы) специалисту, направлявшему материалы для исследования, а также ответственным специалистам ГКУЗ «ЛОПТД» (заведующему консультативным отделением или заместителю главного врача по медицинской работе).

3. С целью выявления причин несоответствия результатов и их устранения ЦБЛ проводит внутреннюю проверку по результатам проблемных исследований, а также планирует контрольных исследований (обычно двух дополнительных молекулярно-генетических и/или одного фенотипического). Длительность проведения данных мероприятий в сложных случаях может достигать двух календарных месяцев.

4. После проведения мероприятий по предыдущему пункту ЦБЛ формирует окончательное заключение, в котором указывает дополнительные проведённые мероприятия, их результаты и сделанные выводы, а также рекомендации по дальнейшему ведению пациента. Заключение предоставляется тем же специалистам. которые указаны в п.2 настоящего раздела.

**Этап лечения.**

1. В интенсивной фазе лечения пациенту ежемесячно проводится следующее обследование:

- первый образец – микроскопия, посев на жидкие (при отсутствии ограничения ресурсов) и плотные среды.

- второй образец – посев на плотные среды.

ПЦР-исследования в плановом порядке не применяются, за исключением случаев, когда в процессе лечения на фоне отрицательной динамики возникает бактериовыделение (после его предшествующей негативации или отсутствия бактериовыделения при выявлении).

2. На фазе продолжения лечения не реже 1 раза в 2 месяца проводится следующее обследование:

- два посева на плотные среды (при условии выполнения микроскопий в направляющих учреждениях).

**Этап наблюдения.**

1. Пациенты, находящиеся на диспансерном наблюдении и не получающие в данный момент лечения, получают обследование по назначению фтизиатра в соответствии с планом диспансерного наблюдения (как правило, не реже 1 раза в 6 месяцев). Плановое обследование вне обострений процесса проводится с применением метода микроскопии (выполняется по месту наблюдения) и 1-2 посевов на плотные среды.

Документ подготовлен:

Заведующий ЦБЛ - врач-бактериолог Калиниченко С.Ю.

Врач-бактериолог ЦБЛ Исайчева Е.В.