

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ  
НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ МЕДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ  
УКРАЇНСЬКИЙ ЦЕНТР НАУКОВОЇ МЕДИЧНОЇ ІНФОРМАЦІЇ ТА  
ПАТЕНТНО-ЛІЦЕНЗІЙНОЇ РОБОТИ

**АЛГОРИТМ ДІАГНОСТИКИ ХІМІОРЕЗИСТЕНТНОГО ТУБЕРКУЛЬОЗУ З  
КОМПЛЕКСНИМ ВИКОРИСТАННЯМ ГЕНО – ТА ФЕНОТИПІЧНИХ МЕТОДІВ В  
БАКТЕРІОЛОГІЧНИХ ЛАБОРАТОРІЯХ ПРОТИТУБЕРКУЛЬОЗНИХ ЗАКЛАДІВ  
УКРАЇНИ**

(методичні рекомендації)

Київ – 2013

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ  
НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ МЕДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ  
УКРАЇНСЬКИЙ ЦЕНТР НАУКОВОЇ МЕДИЧНОЇ ІНФОРМАЦІЇ ТА ПАТЕНТНО-  
ЛІЦЕНЗІЙНОЇ РОБОТИ

“УЗГОДЖЕНО”  
Начальник  
лікувально-організаційного  
управління НАМН України  
член-кореспондент НАМН України, професор

\_\_\_\_\_ В. В. Лазоришинець

“ \_\_\_ ” \_\_\_\_\_ 2013 р.

“УЗГОДЖЕНО”  
Директор  
Департаменту реформ та розвитку  
медичної допомоги МОЗ України

\_\_\_\_\_ М. К. Хобзей

“ \_\_\_ ” \_\_\_\_\_ 2013 р.

**АЛГОРИТМ ДІАГНОСТИКИ ХІМІОРЕЗИСТЕНТНОГО ТУБЕРКУЛЬОЗУ З  
КОМПЛЕКСНИМ ВИКОРИСТАННЯМ ГЕНО – І ФЕНОТИПОВИХ МЕТОДІВ В  
БАКТЕРІОЛОГІЧНИХ ЛАБОРАТОРІЯХ ПРОТИТУБЕРКУЛЬОЗНИХ ЗАКЛАДІВ  
УКРАЇНИ**

(методичні рекомендації)

**Заклад-розробник:**

Державна установа «Національний інститут фтизіатрії і пульмонології ім. Ф. Г. Яновського НАМН України»

**Укладачі:**

Журило Олександр Анатолійович – зав. лабораторією мікробіології ДУ «Національний інститут фтизіатрії і пульмонології ім. Ф. Г. Яновського НАМН України», д-р. мед. наук, (044) 270 – 35 – 41

Барбова Анна Іванівна – ст. наук. співроб. лабораторії мікробіології ДУ «Національний інститут фтизіатрії і пульмонології ім. Ф. Г. Яновського НАМН України», керівник Референс-лабораторії з мікробіологічної діагностики туберкульозу МОЗ України, канд. мед. наук, (044) 270 – 35 – 41

Черенко Світлана Олександрівна – керівник відділу фтизіатрії ДУ «Національний інститут фтизіатрії і пульмонології ім. Ф. Г. Яновського НАМН України», д-р. мед. наук, професор (044) 275 – 41 – 33

Попова Крістіна Євгеніївна – спеціаліст з лабораторної діагностики туберкульозу програми «Зупинимо туберкульоз в Україні», Благодійний фонд «Розвиток України», (044) 502 52 11

Павленко Олена Миколаївна – керівник групи впровадження проекту «Зниження захворюваності на туберкульоз в Україні за рахунок розширення та покращення доступу до високоякісних послуг з профілактики та лікування туберкульозу», (044) 270 – 02 – 64

Чайка Алевтина Олександрівна – в.о. завідуючої бактеріологічною лабораторією з діагностики туберкульозу КРУ «Протитуберкульозний диспансер № 1» (АР Крим), (044) 275 – 41 – 33

**Рецензенти:**

Мельник В. М., заступник директора з науково-організаційної та науково-методичної роботи ДУ «Національний інститут фтизіатрії і пульмонології ім. Ф. Г. Яновського НАМН України», д-р мед. наук, професор.

Поліщук О. І., зав. лабораторією медичної мікробіології з музеєм патогенних для людей мікроорганізмів ДУ «Інститут епідеміології та інфекційних хвороб імені Л. В. Громашевського НАМН України», д-р мед. наук, професор.

**Голова профільної проблемної комісії МОЗ та НАМН України** – академік НАМН України, доктор медичних наук, професор Ю. І. Фещенко.

**Голова експертної комісії** – доктор медичних наук, професор В. М. Мельник.

## ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

ПТП	– протитуберкульозні препарати,
ВДТЛ	– вперше діагностований туберкульоз легень,
МР ТБ	– мультирезистентний туберкульоз,
МС	– медикаментозна стійкість,
МБТ	– мікобактерії туберкульозу,
Кат.	– категорія,
КСБ	– кислотостійкі бактерії,
ПЛР	– полімеразна ланцюгова реакція,
ПТЗ	– протитуберкульозні заклади,
РМР ТБ	– ризик мультирезистентного туберкульозу,
ТМЧ	– тест медикаментозної чутливості,
ХТ	– хіміорезистентний туберкульоз,
ЦЛКК ХР ТБ	– Центральна лікарська консультативна комісія із хіміорезистентного туберкульозу,
Н	– Ізоніазид,
Р	– Рифампіцин,
Z	– Піразинамід,
Сm	– Капреоміцин,
Et	– Етіонамід,
Pt	– Протіонамід,
Cs	– Циклосерин,
Pas	– Парааміносаліцилова кислота,
Q	– Препарати групи фторхінолонів,
Am	– Амікацин,
Lfx	– Левофлоксацин.

## ЗМІСТ

	С.
ВСТУП.....	5
1 Загальні підходи до діагностики туберкульозу та хіміорезистентного туберкульозу з використанням сучасних гено- фенотипових методів.....	5
2 Молекулярно-генотипові методи діагностики туберкульозу, які використовуються в бактеріологічних лабораторіях протитуберкульозних закладів України.....	6
3 Використання тест-системи GeneXpert MTB/RIF.....	8
3.1 Показання до використання тест-системи GeneXpert MTB/RIF.....	8
3.2 Алгоритм дій після отримання результату дослідження з тест-системи GeneXpert MTB/RIF.....	9
3.3 Направлення пацієнтів на проведення дослідження в тест-системі GeneXpert MTB/RIF.....	11
3.4 Реєстрація пацієнтів після проведення дослідження в тест-системі GeneXpert MTB/RIF.....	11
3.5 Приклад формулювання діагнозу.....	11
4 Використання тест-системи гібридизації з типоспецифічними зондами (тест-система GenoType®).....	12
4.1 Показання до використання тест-системи GenoType®.....	12
4.2 Алгоритм дій після отримання результату дослідження з тест-системи GenoType®.....	13
4.3 Направлення пацієнтів на проведення дослідження в тест-системі GenoType®....	16
4.4 Реєстрація пацієнтів після проведення дослідження в тест-системі GenoType®...	16
4.5 Приклад формулювання діагнозу.....	17
ВИСНОВКИ.....	18
ПЕРЕЛІК РЕКОМЕНДОВАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ.....	19
Додаток 1 Клініко-діагностичний алгоритм діагностики туберкульозу з використанням тест-системи GeneXpertMTB/RIF.....	20
Додаток 2 Клініко-діагностичний алгоритм діагностики туберкульозу з використанням тест-системи GenoType®.....	21
Додаток 3 Форма-направлення на дослідження в тест-системі GeneXpert MTB/RIF...	22
Додаток 4 Форма-направлення на дослідження в тест-системі GenoType®.....	23

## ВСТУП

Негативний вплив на зростання захворюваності на туберкульоз має збільшення питомої ваги хіміорезистентних форм, що з одного боку погіршує перебіг хвороби, а з іншого – призводить до поширення випадків мультирезистентного туберкульозу.

На сучасному етапі є дуже важливим ідентифікація саме тих штамів *M. tuberculosis*, які з різних причин вже зазнали змін. Впровадження в практику охорони здоров'я молекулярно-генетичних методів у поєднанні з сучасними фенотиповими дозволить покращити якість і своєчасність діагностики туберкульозу в Україні.

В теперішній час в світі впроваджуються в практику роботи лабораторій різноманітні схеми гено- фенотипової діагностики туберкульозу. Комбіноване використання цих методів дозволяє суттєво скоротити терміни індикації і ідентифікації збудника, швидко визначати медикаментозну стійкість (МС) *M. tuberculosis*, отримувати більш повну інформацію, щодо збудника туберкульозу та здійснювати його індикацію із організму людини у випадках захворювання на олігобацилярний туберкульоз. Одночасне використання молекулярно-генотипового і культурального методів дослідження сприяє швидкій постановці діагнозу, ізоляції пацієнта і своєчасному початку лікування, дозволяє поліпшити клінічний результат і економічність терапії. Але дуже важливим є розробка алгоритмів комбінованого застосування цих методів.

Впровадження сучасних молекулярно-генотипових і фенотипових методів в практику роботи бактеріологічних лабораторій протитуберкульозних закладів (ПТЗ) України істотно підвищить ранню виявляемість хворих, у тому числі з малими формами туберкульозу і позалегеневим туберкульозом. Вони є перспективними при обстеженні дітей, контактних і олігобацилярних хворих.

Методичні рекомендації «Алгоритм діагностики хіміорезистентного туберкульозу з комплексним використанням гено- і фенотипових методів в бактеріологічних лабораторіях протитуберкульозних закладів України» розроблені для лікарів-фтизіатрів, лікарів-бактеріологів, наукових і педагогічних працівників, які займаються проблемами діагностики і лікування хворих на туберкульоз. Видаються вперше.

### 1 ЗАГАЛЬНІ ПІДХОДИ ДО ДІАГНОСТИКИ ТУБЕРКУЛЬОЗУ ТА ХІМІОРЕЗИСТЕНТНОГО ТУБЕРКУЛЬОЗУ З ВИКОРИСТАННЯМ СУЧАСНИХ ГЕНО-ФЕНОТИПОВИХ МЕТОДІВ

Генотипові методи використовуються з метою виявлення, диференціальної діагностики і визначення чутливості мікобактерій до протитуберкульозних препаратів (ПТП) I-го і II-го ряду.

Генотипові методи обов'язково паралельно супроводжуються класичними культуральними дослідженнями на рідких та/або щільних живильних середовищах.

Генотипові методи не використовуються для бактеріологічного моніторингу лікування хворих на туберкульоз (для цього застосовуються бактеріоскопія мазків мокротиння і культуральні дослідження на рідких та/або щільних живильних середовищах).

## 2 МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНОТИПОВІ МЕТОДИ ДІАГНОСТИКИ ТУБЕРКУЛЬОЗУ, ЯКІ ВИКОРИСТОВУЮТЬСЯ В БАКТЕРІОЛОГІЧНИХ ЛАБОРАТОРІЯХ ПРОТИТУБЕРКУЛЬОЗНИХ ЗАКЛАДІВ УКРАЇНИ

Скорочення термінів виявлення збудника, видової ідентифікації і визначення МС мікобактерій може бути досягнена за рахунок застосування у лабораторній практиці молекулярно-генотипових методів. Їх використання у діагностиці туберкульозу дозволяє при госпіталізації хворого в стаціонар у найкоротші терміни детектувати МС мікобактерій, виявляти нетуберкульозні мікобактерії і призначати адекватний режим хіміотерапії в інтенсивну фазу лікування, що скорочує терміни абацилювання, підвищує ефективність лікування, запобігає поширенню штамів мікобактерій, стійких до ПТП.

В основі молекулярно-генотипових методів діагностики туберкульозу лежить полімеразна ланцюгова реакція (ПЛР), що набула широкого поширення в діагностиці різних інфекційних агентів, в тому числі мікобактерій.

Принцип методу ПЛР полягає в ампліфікації – багаторазовому збільшенні ділянок специфічної послідовності ДНК мікобактерій в пробірковому мікрооб'ємі при циклічному повторенні трьох стадій реакції, кожна з яких проходить в умовах різного температурного режиму:

- 1-а 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 фрагменту ДНК, специфічного для мікобактерій туберкульозу;
- 3-я стадія – синтез або добудова ланцюга обмеженого по флангах фрагменту ДНК за допомогою термостабільної ДНК-полімерази.

Багаторазове подвоєння специфічних фрагментів ДНК призводить до збільшення їх кількості в геометричній прогресії до рівня, який дозволяє здійснити детекцію існуючими методами. Результати ПЛР оцінюють як з допомогою агарозного гелелектрофорезу, при якому оцінюється розмір фрагменту ДНК, що утворився в порівнянні зі стандартними фрагментами ДНК з відомим числом пар нуклеотидів (за відстанню пробігу від старту у

вигляді флуоресцюючої смужки), так і за допомогою різних методів гібридизації продукту зі специфічними комплементарними міченими ДНК-зондами.

У 1998 році був повністю розшифрований геном *M. tuberculosis*. Це дозволило виділити специфічні для генома *M. tuberculosis* нуклеотидні послідовності ДНК, які використовуються при ПЛР-виявленні збудника в різних видах діагностичного матеріалу.

Сьогодні за рекомендаціями ВООЗ в Україні запропоновано два методи молекулярно-генотипової діагностики, які можуть бути використані для вирішення питання своєчасної діагностики туберкульозу – тест-система GeneXpertMTB/RIF та тест-система гібридизації з типоспецифічними зондами – тест-система GenoType® (технологія ДНК-стрипів).

Тест-система GeneXpertMTB/RIF рекомендована ВООЗ до застосування у діагностиці туберкульозу лише з 2010 року. Дозволяє наступне:

- виділення та ампліфікація проводиться в картриджі, попередня обробка діагностичного матеріалу зводиться до мінімальних маніпуляцій;
- можливість контамінації значно скорочується;
- визначає стійкість МБТ лише до рифампіцину.

Тест-система GeneXpertMTB/RIF є напівкількісною гніздовою ПЛР в реальному часі в картриджі, що проводиться з метою виявлення:

- ДНК МБТ у зразках мокротиння або концентрованих осадів мокротиння;
- мутацій резистентності до рифампіцину гена *rpoB* у зразках, отриманих від пацієнтів з ризиком резистентності до даного препарату.

Тест призначений для дослідження зразків від пацієнтів, у яких є клінічні ознаки туберкульозу легенів.

За даними ВООЗ резистентність до рифампіцину корелює з резистентністю до ізоніазиду. Резистентність до рифампіцину і ізоніазиду (мультирезистентність) зазвичай свідчить про необхідність одночасного проведення повного тестування на чутливість до препаратів I-го і II-го ряду, але це можливо тільки після виділення культури мікобактерій.

Тест-система GeneXpert Dx (власне прилад для тестування) включає автоматизовану обробку зразків, ампліфікацію нуклеїнових кислот і визначення послідовності в зразках, яка нас цікавить, з використанням методів ПЛР у реальному часі та ПЛР із зворотною транскриптазою. Тест-система вимагає використання одноразових картриджів GeneXpert, що містять реагенти для ПЛР, в яких і відбувається реакція. Оскільки картриджі є автономними, перехресна контамінація зразків не можлива.

Принцип методу гібридизації з типоспецифічними зондами (тест-система GenoType®) полягає в тому, що на ДНК-стрип нанесені специфічні проби, які комплементарні до отриманих в результаті ПЛР ампліконів. Після денатурації одноланцюгові амплікони



зв'язуються з пробами на стрипах (гібридизуються), а потім візуалізуються у послідовній ензиматичній реакції зі стрептавідином і лужною фосфатазою.

Процедура проведення тесту передбачає три етапи:

- виділення ДНК з культивованого матеріалу (щільне/рідке середовище) або з клінічних зразків (матеріал із легенів, деконтаміновані позитивні зразки мокротиння);
- мультиплексна ампліфікація з біотильованими праймерами в присутності термостабільної ДНК полімерази;
- реверс-гібридизація.

Ця методологія дозволяє швидко визначити збудника туберкульозу і його чутливість до ПТП. Оцінка результатів гібридизації може здійснюватися візуально шляхом порівняння отриманого результату з шаблоном, але й можливо автоматичне зчитування результату. Для виявлення мікобактерій і визначення їх МС до ПТП I-го і II-го ряду ДНК-стрипова технологія використана у тест-системі GenoType<sup>®</sup> виробництва Hain Lifescience (Німеччина). Тривалість власне дослідження як такого невелика і становить 4 – 5 годин.

### 3 ВИКОРИСТАННЯ ТЕСТ-СИСТЕМИ GeneXpertMTB/RIF

#### 3.1 Показання до використання тест-системи GeneXpertMTB/RIF

Застосовують в Україні в лабораторіях з мікробіологічної діагностики туберкульозу II – III рівнів для швидкого виявлення мікобактерій туберкульозу (без ідентифікації) та визначення стійкості до рифампіцину.

Тест-система GeneXpertMTB/RIF призначається для обстеження наступних груп пацієнтів із суворим дотриманням наступної послідовності та пріоритетності:

В якості первинного діагностичного тесту незалежно від результату бактеріоскопії на КСБ (М + чи М –):

- ВІЛ-інфіковані пацієнти з підозрою на ТБ.
- Пацієнти з підозрою на легеневий туберкульоз з ризиком наявності МР ТБ (групи ризику відповідно до національного керівництва):
  - 1) пацієнти із числа контактних з МР ТБ хворими;
  - 2) пацієнти, які лікувались раніше від туберкульозу, і яким повторно був встановлений діагноз легеневого туберкульозу (невдале лікування, рецидив, відрив) (пацієнти з рецидивом, після невдачі лікування чи відриву) і в анамнезі немає даних про стійкість до рифампіцину;
  - 3) пацієнти, які народжені в іноземній країні із високим рівнем захворюваності.
- Діти-підлітки (вікова група 0-17 років) з підозрою на ТБ.

В якості вторинного діагностичного тесту після бактеріоскопії на КСБ (М + ):

- хворі на туберкульоз з негативною клініко-рентгенологічною динамікою та/або продовженням чи відновленням бактеріовиділення (з метою прискорення виявлення вторинної медикаментозної резистентності МБТ під час лікування);
- пацієнти з соціальних груп ризику, в яких виявлений легеневий ТБ методом бактеріоскопії;
- хворі з вперше діагностованим туберкульозом методом бактеріоскопії;
- пацієнти з підозрою на легеневий ТБ, які отримали негативний результат бактеріоскопії мазка мокроти, але мають клінічні симптоми захворювання на ТБ.

Для якісної діагностики і достовірності даних результатів тест-системи GeneXpert MTB/RIF необхідно досліджувати правильно зібраний діагностичний матеріал. Пацієнт обов'язково повинен збирати мокротиння під наглядом медичного працівника. У разі відсутності мокротиння у дітей як досліджуваній матеріал можна використовувати промивні води бронхів або змив з ротоглотки.

Схематичний клініко-діагностичний алгоритм з використанням тест-системи GeneXpertMTB/RIF наведений у додатку 1.

### 3.2 Алгоритм дій після отримання результату дослідження з тест-системи GeneXpertMTB/RIF

Виявлені МБТ. Встановлена стійкість до рифампіцину. Випадок з ризиком розвитку мультирезистентного туберкульозу (РМР ТБ)

В день проведення дослідження результат і медична документація хворого мають бути передані лікуючому лікарю та подані на найближче засідання Центральної лікарської консультативної комісії (консиліуму) із хіміорезистентного туберкульозу (ЦЛКК ХР ТБ).

ЦЛКК ХР ТБ має оперативно прийняти рішення щодо початку лікування хворого згідно зі стандартним режимом терапії хіміорезистентного туберкульозу (ХТ) за 4 категорією: 8 Z Cm Lfx Et Cs 12Lfx Et Cs відповідно до діючої нормативно-правової бази.

Після отримання результатів дослідження з тест-системи GeneXpert MTB/RIF щодо наявності МБТ і стійкості до рифампіцину, бактеріологічна лабораторія обов'язково паралельно проводить культуральні дослідження на рідких та щільних живильних середовищах, тест медикаментозної чутливості (ТМЧ) проводиться одночасно до ПТП I-го і II-го ряду.

Після отримання росту культури і результатів ТМЧ до ПТП I-го і II-го ряду, необхідно повторно представити результати аналізів і медичну документацію хворого на ЦЛКК ХР ТБ з метою корекції режиму лікування хворого відповідно до спектру МС.

При відсутності росту та/або резистентності мікобактерій до ПТП на рідкому та/або щільному живильних середовищах необхідно результати дослідження і медичну документацію хворого представити на найближче засідання ЦЛКК ХР ТБ та розпочати лікування стандартним режимом ХТ за 1–2 категоріями згідно з типом випадку захворювання.

Подальший бактеріологічний моніторинг лікування необхідно проводити бактеріоскопічним і культуральним методами дослідження відповідно до діючої нормативно-правової бази.

Виявлені МБТ. Стійкість до рифампіцину не встановлена. Випадок туберкульозу зі збереженою чутливістю до рифампіцину. Категорія 1–2.

В день проведення дослідження результат має бути переданий лікуючому лікарю і поданий на найближче засідання ЦЛКК.

ЦЛКК має оперативно прийняти рішення щодо початку лікування хворого на туберкульоз згідно з режимом ХТ в залежності від типу випадку захворювання.

Після отримання результату тесту з тест-системи GeneXpert MTB/RIF щодо наявності МБТ бактеріологічна лабораторія обов'язково паралельно проводить культуральні дослідження на рідких та/або щільних живильних середовищах.

Після отримання росту культури і результатів ТМЧ до ПТП I-го ряду, лікар подає повторно документи на засідання ЦЛКК (МБТ чутливі до ПТП) чи ЦЛКК ХР ТБ (МБТ стійкі до ПТП), де призначається лікування хворого відповідно до спектру МС до ПТП та діючої нормативно – правової бази.

Подальший бактеріологічний моніторинг лікування необхідно проводити бактеріоскопічним і культуральним методами дослідження відповідно до діючої нормативно-правової бази.

Тест-системою GeneXpertMTB/RIF не виявлено МБТ

Необхідно провести обстеження мокротиння пацієнта бактеріоскопічним і культуральним методами дослідження з використанням рідких та/або щільних живильних середовищ. При позитивному результаті культурального дослідження необхідно провести ТМЧ до ПТП I-го ряду. В залежності від результатів посіву мокротиння і дослідження МС

призначити лікування на ЦЛКК (МБТ чутливі до ПТП) чи ЦЛКК ХР ТБ (МБТ стійкі до ПТП).

### 3.3 Направлення пацієнтів на проведення дослідження в тест-системі GeneXpert MTB/RIF

Лікар може направити пацієнтів для проведення дослідження в тест-системі GeneXpertMTB/RIF згідно представлених показань щодо використання тест-системи GeneXpertMTB/RIF.

Лікар, який направляє пацієнта для проведення дослідження, повинен заповнити форму «Направлення на дослідження в тест-системі GeneXpertMTB/RIF», що додається (додаток 3).

### 3.4 Реєстрація пацієнтів після проведення дослідження в тест-системі GeneXpert MTB/RIF

- При отриманні позитивних результатів дослідження в тест-системі GeneXpertMTB/RIF щодо наявності МБТ та стійкості до рифампіцину, пацієнт має бути зареєстрований як:

GeneXpert MTB/RIF позитивний (ПЛР+) із стійкістю до рифампіцину:

випадок РМР ТБ МБТ+ (ПЛР+) Резист I+ (ПЛР/R+) Кат 1.

- При отриманні позитивних результатів дослідження з тест-системи GeneXpertMTB/RIF щодо наявності МБТ і відсутності стійкості до рифампіцину, пацієнт має бути зареєстрований як:

GeneXpert MTB/RIF позитивний (ПЛР+) із чутливістю до рифампіцину:

випадок туберкульозу МБТ+ (ПЛР+) Резист I- (ПЛР/R-) Кат 1-2.

- При отриманні результатів дослідження в тест-системі GeneXpertMTB/RIF щодо відсутності МБТ, пацієнту має бути виданий результат:

GeneXpert MTB/RIF негативний (ПЛР-) і немає даних щодо резистентності до рифампіцину:

МБТ- (ПЛР-) Резист 0 (ПЛР/R0).

### 3.5 Приклад формулювання діагнозу

Виявлені МБТ і визначена їх стійкість до рифампіцину за результатами дослідження в тест-системі GeneXpert MTB/RIF з позитивним результатом бактеріоскопії на КСБ:

РМР ТБ (02.02.2012) інфільтративний верхньої долі правої легені Дестр+ МБТ+(ПЛР+) М+К0 Резист I+ (ПЛР/R+) Гіст0 Кат1 КоГ1 (2012).

Виявлені МБТ і визначена їх стійкість до рифампіцину за результатами тесту GeneXpert MTB/RIF з негативним результатом бактеріоскопії на КСБ:

МРМ ТБ (02.02.2012) інфільтративний верхньої долі правої легені Дестр+МБТ+(ПЛР+) М- К0 Резист I+ (ПЛР/R+) Гіст0 Кат1 КоГ1 (2012).

Виявлені МБТ і стійкість до рифампіцину відсутня за результатами дослідження в системі GeneXpert MTB/RIF з негативним результатом бактеріоскопії на КСБ:

ВДТБ (02.02.2012) інфільтративний верхньої долі правої легені Дестр+ МБТ+ (ПЛР+) М- К0 Резист I- (ПЛР/R-) Гіст0 Кат1 КоГ1 (2012).

Якщо не виявлені МБТ за результатами дослідження в тест-системі GeneXpert MTB/RIF з негативним результатом бактеріоскопії на КСБ пацієнту видається результат:

МБТ- (ПЛР-) М- К0 Резист0 (ПЛР/R0).

#### 4 ВИКОРИСТАННЯ ТЕСТ-СИСТЕМИ ГІБРИДИЗАЦІЇ З ТИПОСПЕЦИФІЧНИМИ ЗОНДАМИ (ТЕСТ-СИСТЕМА GenoType®)

##### 4.1 Показання до використання тест-системи GenoType®

Тест-система GenoType® використовується тільки в лабораторіях з мікробіологічної діагностики туберкульозу III рівня і призначена для діагностики туберкульозу із ідентифікацією мікобактерій та визначенням чутливості до рифампіцину, ізоніазиду, фторхінолонів, аміноглікозидів/циклічних пептидів і етамбутолу.

Тест-система GenoType® призначається для обстеження наступних груп пацієнтів із суворим дотриманням наступної послідовності та пріоритетності:

В якості первинного діагностичного тесту незалежно від результату бактеріоскопії на КСБ (М + чи М -):

- ВІЛ-інфіковані пацієнти з підозрою на ТБ.
- Пацієнти з підозрою на легеневий туберкульоз з ризиком наявності МР ТБ (групи ризику відповідно до національного керівництва):
  - пацієнти із числа контактних з МР ТБ хворими;
  - пацієнти, які лікувались раніше від туберкульозу, і яким повторно був встановлений діагноз легеневого туберкульозу (невдале лікування, рецидив, відрив) (пацієнти з рецидивом, після невдачі лікування чи відриву) і в анамнезі немає даних про стійкість до рифампіцину і ізоніазиду;
  - пацієнти, які народжені в іноземній країні із високим рівнем захворюваності.
- Діти-підлітки (вікова група 0-17 років) з підозрою на ТБ.

В якості вторинного діагностичного тесту після бактеріоскопії на КСБ (М + ):

- Хворі на туберкульоз з негативною клініко-рентгенологічною динамікою та/або продовженням чи відновленням бактеріовиділення (з метою прискорення виявлення вторинної медикаментозної резистентності МБТ під час лікування).
- Пацієнти з соціальних груп ризику, в яких виявлений легеневий ТБ методом бактеріоскопії.
- Хворі з вперше діагностованим туберкульозом методом бактеріоскопії.

Для дослідження використовується дослідний матеріал (позитивний зразок мокротиння, підтверджений бактеріоскопічно; культура мікобактерій, що виросла на рідкому та/або щільному живильному середовищі).

Схематичний клініко-діагностичний алгоритм застосування тест-системи гібридизації з типоспецифічними зондами та форма-направлення представлені в додатках 2 і 4.

#### 4.2 Алгоритм дій після отримання результату дослідження з тест-системи GenoType®

Не залежно від отриманого результату дослідження в тест-системі GenoType® бактеріологічна лабораторія обов'язково паралельно проводить культуральні дослідження на рідких та/або щільних живильних середовищах.

- Виявлені МБТ. Встановлена стійкість до рифампіцину і ізоніазиду. Випадок з ризиком розвитку мультирезистентного туберкульозу (PMР ТБ)

Після отримання результатів дослідження в тест-системі GenoType® щодо наявності МБТ і стійкості до рифампіцину та ізоніазиду, необхідно одночасно, обов'язково визначати МС до ПТП I-го і II-го ряду на рідких та/або щільних живильних середовищах. Також необхідно використати тест-систему GenoType® для визначення стійкості до фторхінолонів, аміноглікозидів/циклічних пептидів та етамбутолу. Ці дослідження необхідно провести в цей же день або в наступний. Використовується для дослідження таж проба дослідного матеріалу.

Результати дослідження в тест-системі GenoType® і медичну документацію хворого необхідно представити на найближче засідання ЦЛКК ХР ТБ.

ЦЛКК ХР ТБ має оперативно (в день отримання від лікаря медичної документації і результату дослідження в тест-системі GenoType®) призначити лікування хворого згідно з стандартним режимом ХТ за 4 категорією: 8 Z Cm Lfx Et Cs 12Lfx Et Cs відповідно до діючої нормативно-правової бази.

Після отримання росту культури і результатів тесту МС до ПТП I-го та II-го ряду, необхідно повторно представити результати аналізів та медичну документацію хворого на ЦЛКК ХР ТБ з метою корекції режиму лікування хворого відповідно до спектру МС.

При відсутності росту та/або резистентності мікобактерій до ПТП на рідкому та/або щільному живильних середовищах необхідно результати дослідження і медичну документацію хворого представити на найближче засідання ЦЛКК ХР ТБ та розпочати лікування стандартним режимом ХТ за 1–2 категоріями згідно з типом випадку захворювання.

Подальший бактеріологічний моніторинг лікування необхідно проводити бактеріоскопічним і культуральним методами дослідження відповідно до діючої нормативно-правової бази.

- Виявлені МБТ. Встановлена стійкість їх до рифампіцину і чутливість до ізоніазиду.

Випадок туберкульозу зі збереженою чутливістю до ізоніазиду. Категорія 1.

Необхідно за допомогою тест-системи GenoType<sup>®</sup> визначити стійкість до фторхінолонів, аміноглікозидів/циклічних пептидів і етамбутолу та визначити одночасно МС до ПТП I-го і II-го ряду на рідких та/або щільних живильних середовищах. Ці дослідження необхідно провести в цей же день або в наступний. Використовується для дослідження таж проба дослідного матеріалу.

Результати дослідження і медичну документацію хворого необхідно представити на найближче засідання ЦЛКК ХР ТБ.

ЦЛКК ХРТБ має оперативно (в день отримання від лікаря медичної документації і результату дослідження в тест-системі GenoType<sup>®</sup>) призначити лікування хворого згідно з режимом ХТ при монорезистентності до рифампіцину.

Після отримання росту культури і результатів ТМЧ до ПТП I-го і II-го ряду, необхідно повторно представити результати аналізів та медичну документацію хворого на ЦЛКК ХР ТБ з метою корекції режиму лікування хворого відповідно до спектру МС.

При відсутності росту та/або резистентності мікобактерій до ПТП на рідкому та/або щільному живильних середовищах необхідно результати дослідження і медичну документацію хворого представити на найближче засідання ЦЛКК ХР ТБ та розпочати лікування стандартним режимом ХТ за 1–2 категоріями згідно з типом випадку захворювання.

Подальший бактеріологічний моніторинг лікування необхідно проводити бактеріоскопічним і культуральним методами дослідження відповідно до діючої нормативно-правової бази.

- Виявлені МБТ. Встановлена стійкість їх до ізоніазиду і чутливість до рифампіцину: випадок туберкульозу зі збереженою чутливістю до рифампіцину. Кат. 1–2.

Необхідно за допомогою тест-системи GenoType<sup>®</sup> визначити стійкість до фторхінолонів, аміноглікозидів/циклічних пептидів і етамбутолу і визначити МС одночасно до ПТП I-го і II-го ряду на рідких та/або щільних живильних середовищах.

Результати дослідження і медичну документацію хворого необхідно представити на найближче засідання ЦЛКК ХР ТБ.

ЦЛКК ХР ТБ має оперативно (в день отримання від лікаря медичної документації і результату дослідження в тест-системі GenoType<sup>®</sup>) призначити лікування хворого згідно з режимом ХТ при монорезистентності до ізоніазиду.

Після отримання росту культури і результатів ТМЧ до ПТП I-го і II-го ряду, необхідно повторно представити результати аналізів та медичну документацію хворого на ЦЛКК ХР ТБ з метою корекції режиму лікування хворого відповідно до спектру МС.

При відсутності росту та/або резистентності мікобактерій до ПТП на рідкому та/або щільному живильних середовищах необхідно результати дослідження і медичну документацію хворого представити на найближче засідання ЦЛКК ХР ТБ та розпочати лікування стандартним режимом ХТ за 1–2 категоріями згідно з типом випадку захворювання.

Подальший бактеріологічний моніторинг лікування необхідно проводити бактеріоскопічним і культуральним методами дослідження відповідно до діючої нормативно-правової бази.

- Виявлені МБТ. Встановлено, що мікобактерії чутливі до рифампіцину і ізоніазиду. Кат. 1–2.

Результати дослідження і медичну документацію хворого необхідно представити на найближче засідання ЦЛКК та розпочати лікування стандартним режимом ХТ за 1–2 категоріями згідно з типом випадку захворювання.

Бактеріологічна лабораторія обов'язково паралельно проводить культуральні дослідження на рідких та/або щільних живильних середовищах.

Після отримання росту культури і результатів ТМЧ до ПТП I-го ряду, лікар подає повторно документи на засідання ЦЛКК (МБТ чутливі до ПТП) чи ЦЛКК ХР ТБ (МБТ стійкі до ПТП), де призначається лікування хворого відповідно до спектру МС до ПТП та діючої нормативно – правової бази.



Подальший бактеріологічний моніторинг лікування необхідно проводити бактеріоскопічним і культуральним методами дослідження відповідно до діючої нормативно-правової бази.

#### 4.3 Направлення пацієнтів на проведення дослідження в тест-системі GenoType®

Лікар може направити пацієнтів для проведення дослідження в тест-системі GenoType® згідно представлених показань щодо використання тест-системи GenoType®.

Лікар, який направляє пацієнта для проведення дослідження, повинен заповнити форму «Направлення на проведення дослідження з використанням тест-системи гібридизації з типоспецифічними зондами» (додаток 4).

#### 4.4 Реєстрація пацієнтів після проведення дослідження в тест-системі GenoType®:

- При отриманні результатів дослідження в тест-системі GenoType® і позитивної відповіді про те, що виявлена стійкість до рифампіцину та ізоніазиду, а також даних МС до фторхінолонів, аміноглікозидів/циклічних пептидів і етамбутолу, пацієнт має бути зареєстрований як:

GenoType позитивний (ПЛР+) із стійкістю до рифампіцину і ізоніазиду:

випадок РМР ТБ МБТ+(ПЛР+) М+К0 РезистІ+ (ПЛР/R+/H+) РезистІІ (ПЛР/Q+Am/Cs-/Et-) Кат1.

- При отриманні результатів дослідження в тест-системі GenoType® щодо наявності МБТ і позитивної відповіді про те, що виявлена стійкість до рифампіцину і негативної відповіді про те, що виявлена стійкість до ізоніазиду, а також даних МС до фторхінолонів, аміноглікозидів/циклічних пептидів і етамбутолу, пацієнт має бути зареєстрований як:

GenoType позитивний (ПЛР+) із стійкістю до рифампіцину і чутливістю до ізоніазиду:

випадок туберкульозу МБТ+ (ПЛР+) М+К0 РезистІ (ПЛР/H-/R+) РезистІІ (ПЛР/Q-Am/Cs+/Et+) Кат1.

- При отриманні результатів дослідження в тест-системі GenoType® щодо наявності МБТ і позитивної відповіді про те, що виявлена стійкість до ізоніазиду і негативної відповіді про те, що виявлена стійкість до рифампіцину, а також даних МС до фторхінолонів, аміноглікозидів/циклічних пептидів і етамбутолу, пацієнт має бути зареєстрований як:

GenoType позитивний (ПЛР+) із стійкістю до ізоніазиду і чутливістю до рифампіцину:

випадок туберкульозу МБТ+(ПЛР+) М+К0 РезистI (ПЛР/Н+/R-) РезистII+ (ПЛР/Q+Am/Cs+/Et+) Кат 1–2.

- При отриманні результатів дослідження в тест-системі GenoType® щодо наявності МБТ та негативної відповіді про те, що виявлена стійкість до рифампіцину і ізоніазиду, пацієнт має бути зареєстрований, як:

GenoType позитивний (ПЛР+) із чутливістю до рифампіцину і ізоніазиду:

випадок туберкульозу МБТ+ (ПЛР+) М+ К0 РезистI– (ПЛР/R–/Н–) РезистII0 Кат 1–2.

#### 4.5 Приклад формулювання діагнозу

Виявленні МБТ і визначена їх стійкі до рифампіцину і ізоніазиду за результатами дослідження в тест-систем GenoType® з позитивним результатом бактеріоскопії на КСБ:

РМР ТБ (02.02.2012) інфільтративний верхньої долі правої легені Дестр+МБТ+ (ПЛР+) М+ К0 РезистI+(ПЛР/R+ /Н+) РезистII (ПЛР/Q+/Am/Cs–/Et–) Гіст0 Кат1 Ког1 (2012).

Виявлені МБТ стійкі до рифампіцину (чутливість до ізоніазиду збережена) за результатами дослідження в тест-систем GenoType® з позитивним результатом бактеріоскопії на КСБ:

РМР ТБ (02.02.2012) інфільтративний верхньої долі правої легені Дестр+МБТ+ (ПЛР+) М+К0 РезистI (ПЛР/R+/Н–) РезистII (ПЛР/Q- /Am/Cs+/Et+) Гіст0 Кат1 Ког1 (2012).

Виявлені МБТ стійкі до ізоніазиду (чутливість до рифампіцину збережена) за результатами дослідження в тест-систем GenoType® з позитивним результатом бактеріоскопії на КСБ:

РМР ТБ (02.02.2012) інфільтративний верхньої долі правої легені Дестр+МБТ+ (ПЛР+) М+ К0 РезистI (ПЛР/R–/Н+) РезистII (ПЛР/Q+/Am/Cs–/Et+) Гіст0 Кат1–2 Ког1 (2012).

Виявлені МБТ за результатами дослідження в тест-систем GenoType®, відсутня стійкість до рифампіцину і ізоніазиду з позитивним результатом бактеріоскопії на КСБ:

ВДТБ (02.02.2012) інфільтративний верхньої долі правої легені Дестр+ МБТ+(ПЛР+) М+ К0 РезистI– (ПЛР/R–/Н–) РезистII0 Гіст0 Кат1 Ког1 (2012).

## ВИСНОВКИ

Запропоновані методичні рекомендації присвячені актуальній проблемі фтизіатрії – діагностиці хіміорезистентного туберкульозу з комплексним використанням гено- та фенотипових методів в бактеріологічних лабораторіях протитуберкульозних закладів України, а саме – сучасним алгоритмам їх комплексного застосування.

На сучасному етапі є дуже важливим ідентифікація саме тих штамів *M. tuberculosis*, які з різних причин вже зазнали змін. Впровадження в практику охорони здоров'я молекулярно-генетичних методів у поєднанні з сучасними фенотиповими дозволить покращити якість і своєчасність діагностики туберкульозу в Україні. Одночасне використання молекулярно-генетичного і культурального методів дослідження сприятиме швидкій постановці діагнозу, ізоляції пацієнта і своєчасному початку лікування, дозволить поліпшити клінічний результат і економічність терапії. Але дуже важливим є розробка алгоритмів комбінованого застосування цих методів.

Авторами наведено алгоритми використання системи GeneXpert MTB/RIF і тест-системи гібридизації з типоспецифічними зондами (технологія ДНК-стріпів) з сучасними бактеріологічними методами.

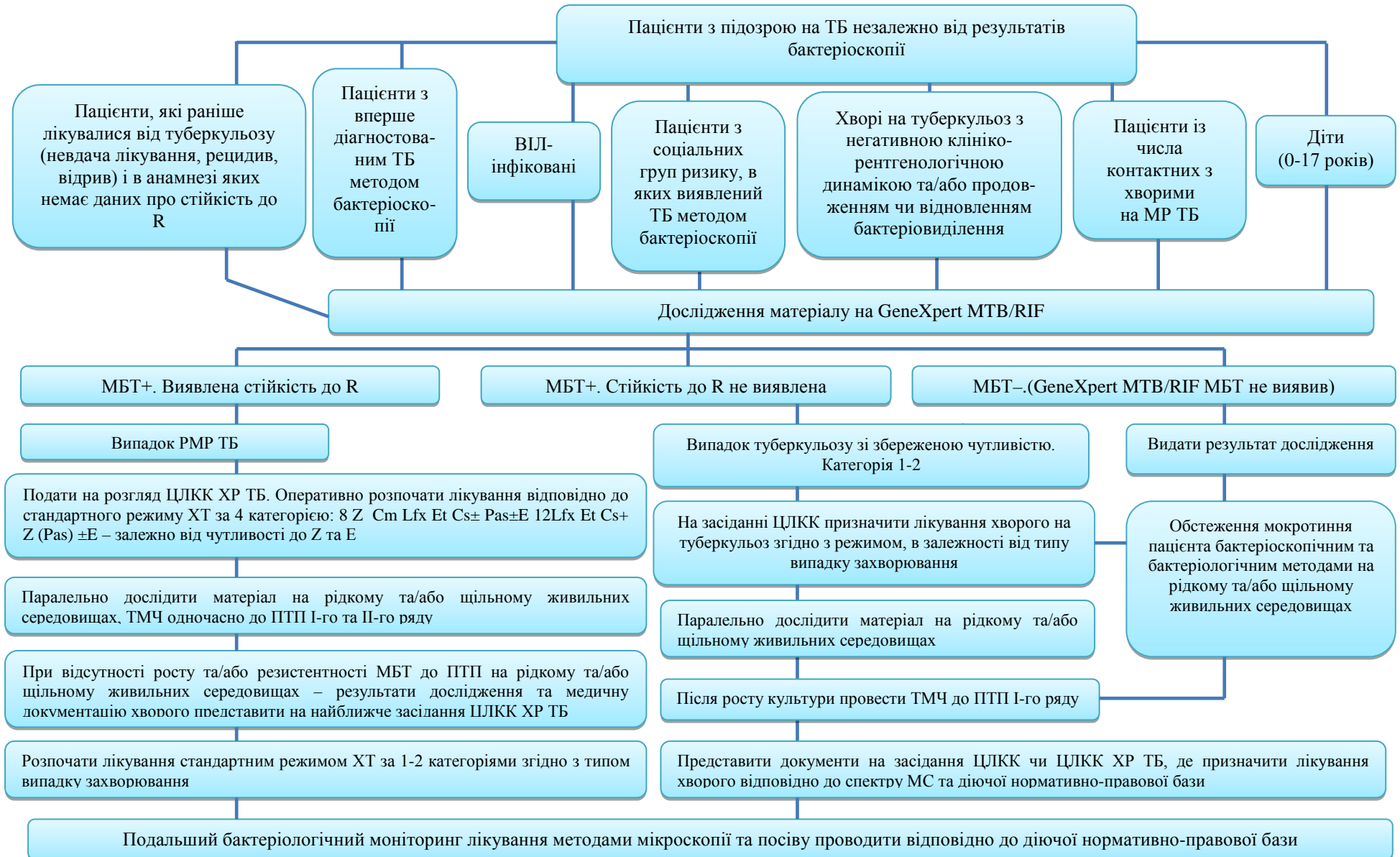
Вперше пропонується впровадити в практику роботи бактеріологічних лабораторій протитуберкульозних закладів України молекулярно-генетичні методи діагностики туберкульозу у поєднанні з сучасними фенотиповими. Це дозволить покращити якість і своєчасність діагностики туберкульозу. Методичні рекомендації рекомендовані для лікарів-бактеріологів і лікарів-фтизіатрів ПТЗ України.

Методичні рекомендації розроблені за вимогами ВООЗ і Міжнародного Союзу по боротьбі з легеневиими захворюваннями для бактеріологічної діагностики туберкульозу.

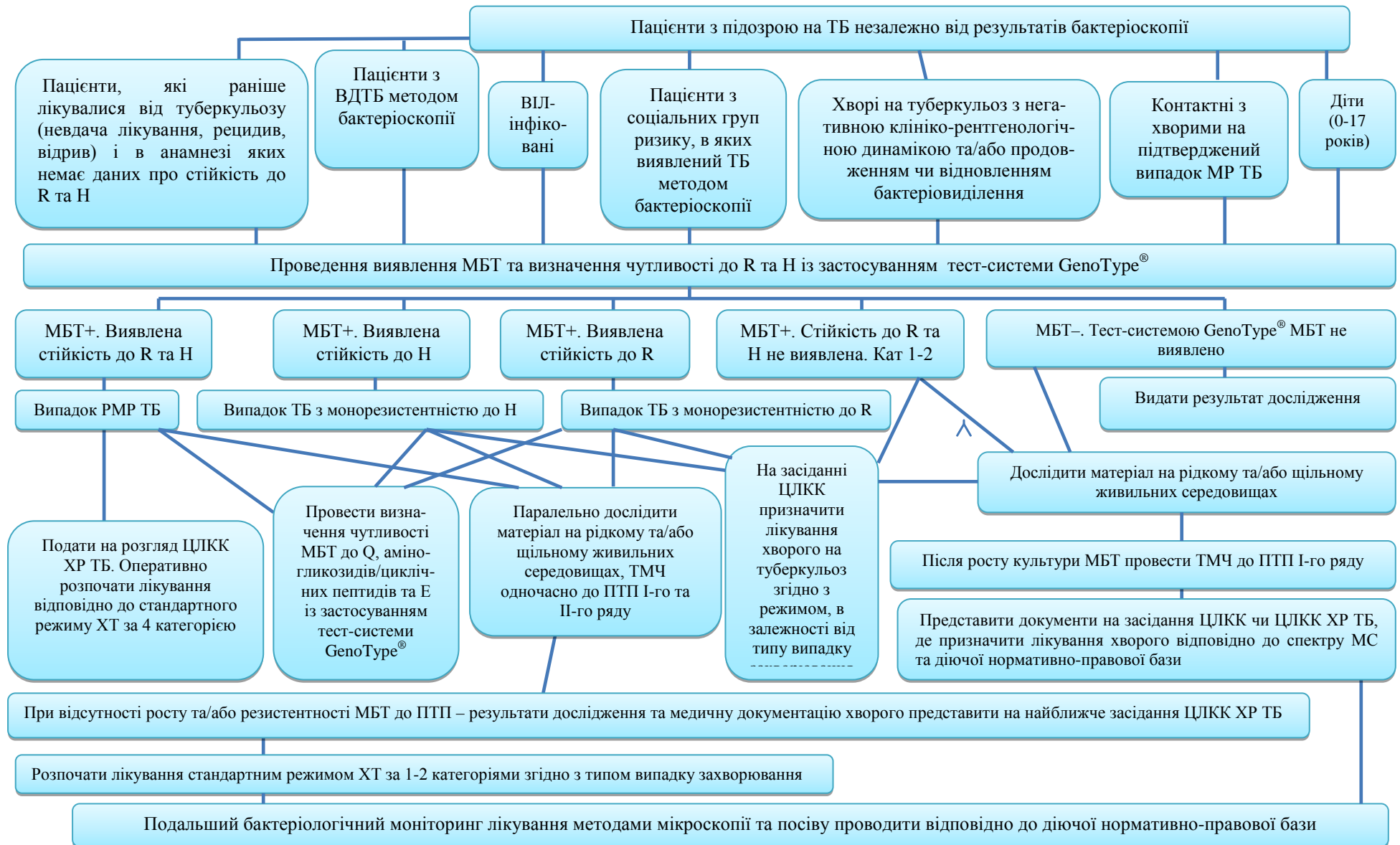
## РЕКОМЕНДОВАНА ЛІТЕРАТУРА

1. Бочкарёв, Е. Г. Генодиагностика во фтизиатрии [Текст] / Е. Г. Бочкарёв, Т. С. Денисова, Э. В. Генерозов. – М., 2000. – 25 с.
2. Молекулярно-генетические и бактериологические методы диагностики *M. tuberculosis* с множественной устойчивостью [Текст] / Ф. Ф. Агаев [и др.] // Туберкулез и болезни легких. – 2009. – № 10. – С. 32–35.
3. Оптимизация лабораторной диагностики туберкулёза с использованием современных бактериологических и молекулярно-генетических методов [Текст] / И. М. Федорин [и др.] // Туберкулез и болезни легких. – 2012. – № 2. – С. 36–43.
4. Туберкулез. Патогенез, защита, контроль : Пер. с англ. / Под ред. Барри Р. Блума. – М. : Медицина, 2002. – 696 с.
5. Туберкулез с множественной лекарственной устойчивостью : Пер. с англ. / Под ред. И. Бастиана, Ф. Порталс. – М. : Медицина и жизнь, 2003. – 368 с.
6. WHO Tuberculosis programme : Guidelines for surveillance of drug resistance in tuberculosis [Text] / WHO / HTM / TB. – Geneva, 2009. – 83 p.

## Клініко-діагностичний алгоритм діагностики туберкульозу з використанням тест-системи GeneXpert MTB/RIF



## Клініко-діагностичний алгоритм діагностики туберкульозу з використанням тест-системи GenoType®



**Форма-направлення на тест *Xpert MTB/RIF*:**

**Бланк-направлення на проведення тесту *Xpert MTB/RIF* в лабораторію \_\_\_\_\_**

П.І.П пацієнта \_\_\_\_\_ Дата народження \_\_\_\_\_ Вік \_\_\_\_\_

Пацієнт з підозрою на ТБ: (*відмітити одну*):

- Пацієнт з підозрою на ТБ, в тому числі з коінфекцією
- контакт з хворим на підтверджений випадок МР ТБ
- раніше лікувався від туберкульозу:
- невдале лікування  рецидив  відрив

Результати бактеріоскопії:

«+» «-»

- пацієнт, народжений в країні з високим тягарем ТБ
- дитина (0-17 років)
- хворий на туберкульоз з негативною клініко-рентгенологічною динамікою та/або продовженням чи відновленням бактеріовиділення
- пацієнти з соціальних груп ризику
- \_\_\_\_\_

Заклад: \_\_\_\_\_

П.І.П лікаря \_\_\_\_\_ Відділення \_\_\_\_\_  
 Підпис лікаря \_\_\_\_\_ Підпис завідуючого \_\_\_\_\_  
 Дата \_\_\_\_

---

**Лабораторні дані:** **Лабораторний номер** \_\_\_\_\_

Дата доставки матеріалу \_\_\_\_\_ Дата проведення тесту \_\_\_\_\_

Тип матеріалу:  Мокротиння  ий матеріал (промивні води шлунку, трахей, бронхів, змиви з рото глотки інший \_\_\_\_\_)

Виконавець \_\_\_\_\_

**Результати тесту**

- виявлені МБТ
- виявлена стійкість до R
- підлягає повторному дослідженню
- тест не проведений

----- ✂ -----

**Результати лабораторного тесту *Xpert MTB/RIF* (повертається лікарю)**

**Лабораторний номер** \_\_\_\_\_

П.І.П. пацієнта \_\_\_\_\_ Дата народження \_\_\_\_\_ Вік \_\_\_\_\_

Дата доставки матеріала \_\_\_\_\_ Дата проведення тесту \_\_\_\_\_

Виконавець \_\_\_\_\_

**Результати тесту:**

- виявлені МБТ
- виявлена стійкість до R
- підлягає повторному дослідженню
- тест не проведений

Заклад \_\_\_\_\_

Дата видачі результату \_\_\_\_\_

**Форма-направлення на дослідження з використанням тест-системи GenoType®**

**Бланк-направлення на дослідження з використанням тест-системи GenoType®**  
**ПТЗ:**

П.І.П пацієнта \_\_\_\_\_ Дата народження \_\_\_\_\_ Вік \_\_\_\_\_

Пацієнти з підозрою на ТБ/ МР ТБ: *(відмітити одну)*

- Пацієнт з підозрою на ТБ, в тому числі з коінфекцією
- контакт з хворим на підтверджений випадок МР ТБ
- раніше лікувався від туберкульозу  
невдале лікування  рецидив  відрив
- пацієнт, що народжений в країні з високим тягарем ТБ
- дитина (0-17 років)
- хворий на туберкульоз з негативною клініко-рентгенологічною динамікою та/або продовженням чи відновленням бактеріовиділення
- \_\_\_\_\_

Результати бактеріоскопії:



<<+>>



<<->>

Заклад: \_\_\_\_\_

П.І.П лікаря \_\_\_\_\_

Відділення \_\_\_\_\_

Підпис лікаря \_\_\_\_\_

Підпис завідуючого \_\_\_\_\_

Дата \_\_\_\_\_

**Лабораторні дані:**

Дата доставки матеріалу \_\_\_\_\_

**Лабораторний номер** \_\_\_\_\_

Дата проведення тесту \_\_\_\_\_

Тип матеріалу Мокротиння

Культура

Виконавець \_\_\_\_\_

**Результати тесту :**

виявлено МБТ

виявлена стійкість до R та H

виявлена стійкість до R

виявлена стійкість до H

виявлена стійкість до Et

виявлена стійкість до препаратів групи Q

виявлена стійкість до Am

виявлена стійкість до Cs

підлягає повторному дослідженню



**Результати лабораторного аналізу з використанням тест-системи GenoType®** *(повертається лікарю)*

Лабораторний номер \_\_\_\_\_

П.І.П. пацієнта \_\_\_\_\_ Дата народження \_\_\_\_\_ Вік \_\_\_\_\_

Дата доставки матеріалу \_\_\_\_\_ Дата проведення тесту \_\_\_\_\_

Виконавець \_\_\_\_\_

**Результати тесту :**

виявлено МБТ

виявлена стійкість до R та H

виявлена стійкість до R

виявлена стійкість до H

виявлена стійкість до Et

виявлена стійкість до препаратів групи Q

виявлена стійкість до Am

виявлена стійкість до Cs

підлягає повторному дослідженню

Заклад \_\_\_\_\_

Дата видачі результату \_\_\_\_\_