

На правах рукописи

СЕВАСТЬЯНОВА

Элина Викторовна

**СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ
ТУБЕРКУЛЕЗА В УЧРЕЖДЕНИЯХ ПРОТИВОТУБЕРКУЛЕЗНОЙ
СЛУЖБЫ И ОБЩЕЙ ЛЕЧЕБНОЙ СЕТИ**

03.00.07 – микробиология

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
доктора биологических наук

Москва, 2009

Работа выполнена в Центральном научно-исследовательском институте туберкулеза Российской Академии Медицинских Наук (ЦНИИТ РАМН), Москва.

Научный консультант:

доктор медицинских наук, профессор

Валентина Ивановна Голышевская

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук, профессор

Владимир Иванович Кочеровец

доктор медицинских наук, профессор

Диана Тимофеевна Леви

доктор биологических наук

Лев Евгеньевич Поспелов

Ведущая организация:

Федеральное государственное учреждение «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии Федерального агентства по высокотехнологичной медицинской помощи».

Защита состоится «_____» _____ 2009 г. в _____ часов на заседании диссертационного совета Д 208.046.01 при Федеральном государственном учреждении науки «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека» по адресу: 125212, г. Москва, ул. Адмирала Макарова, 10.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке ФГУН Московский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского.

Автореферат разослан «_____» _____ 2009 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
доктор медицинских наук

О.Ю. Борисова

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы

Микробиологические исследования имеют чрезвычайно важное значение в системе выявления больных туберкулезом и являются одним из основных критериев верификации диагноза туберкулез (ТБ). Несмотря на это, в нашей стране организационные методы выявления туберкулеза прошлых лет были в основном направлены на использование рентгенологических исследований, в то время как микробиологическая диагностика ТБ играла второстепенную роль.

Ухудшение эпидемиологической ситуации по ТБ и изменение экономических условий в РФ способствовали повышению значимости выявления бациллярных больных туберкулезом традиционными микробиологическими методами (Хоменко А.Г., 1996, 1999; Гольшевская В.И., 1997; Гольшевская В.И. с соавт., 1999), которым в настоящее время, в условиях эпидемии лекарственно-устойчивого ТБ, уделяется особое внимание при проведении, как диагностических исследований, так и контроля химиотерапии.

В связи с этим, особенно актуальным становится вопрос совершенствования микробиологической диагностики ТБ, поскольку показатели эффективности и качества работы лабораторий России, выполняющих исследования с целью диагностики ТБ, заметно ниже, чем общепринятые мировые стандарты (Капков Л.П. с соавт., 2004, 2006; Аналитический обзор основных статистических показателей по туберкулезу в РФ. – М., 2007, 2008).

Совершенствование микробиологической диагностики ТБ невозможно без изучения биологических свойств возбудителя, стандартизации и унификации используемых рутинных методик, оптимальной организации микробиологических исследований и внедрения в лабораторную практику всех составляющих системы обеспечения качества (Вишневский Б.И. с соавт., 1991, 2002; Гольшевская В.И. с соавт., 1995; Гольшевская В.И., 2001; Шульгина М.В., 2005; Капков Л.П., 2006; Малахов В.Н., Шульгина М.В., 2008).

В условиях напряженной эпидемиологической ситуации по туберкулезу в РФ особенно остро стоит проблема лекарственно-устойчивого туберкулеза (Чуканов В.И. с соавт., 1995; Марьяндышев А.О. с соавт., 2002; Шилова М.В., 2001, 2006). В связи с широким распространением в последние годы штаммов *M. tuberculosis* с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ), весьма актуальными задачами являются изучение биологических особенностей этих штаммов, оценка уровня их распространенности и разработка эффективных методов микробиологической диагностики туберкулеза с МЛУ.

Показатели лекарственной устойчивости микобактерий туберкулеза (ЛУ МБТ) на территории РФ неравномерны, и колеблются в достаточно широком диапазоне (Дорожкова И.Р. с соавт., 2000; Вишневский Б.И., Вишневская Е.Б., 2003; Самойлова А.Г., Марьяндышев А.О., 2005). Значительные колебания в частоте ЛУ МБТ, в том числе – в частоте МЛУ МБТ, в различных регионах обусловлены разными причинами – в первую очередь не окончательно стандартизованными методами определения лекарственной резистентности. В связи с этим, разработка и внедрение в рутинную лабораторную практику

стандартизованных унифицированных методик микробиологической диагностики ТБ и контроль качества их выполнения являются необходимыми условиями для получения достоверных статистических данных и проведения качественного мониторинга результатов микробиологических исследований, в том числе – мониторинга ЛУ МБТ, регулярное осуществление которого позволяет прогнозировать развитие эпидемиологической ситуации, наблюдать за тенденциями развития ЛУ МБТ и контролировать распространение ТБ с МЛУ.

Значительное повышение эффективности и качества исследований может быть осуществлено за счет разработки и внедрения в практику здравоохранения РФ современных требований к управлению лабораториями и основных принципов рациональной организации процессов микробиологических исследований, выполняемых для диагностики и контроля химиотерапии туберкулеза (Centers for Disease Control and Prevention (CDC), 1995; World Health Organization (WHO), 1998, 2001, 2003, 2005, 2007; International Union Against Tuberculosis and Lung Disease (IUATLD), 2000, 2005; Association of Public Health Laboratories (APHL), 2002, 2004; Laszlo A., 1996; Shinnick T.M., Iademarco M.F., Ridderhof J.C., 2005; Drobniowski F.A., Hoffner S., Rusch-Gerdes S., et al., 2006; Rieder H.L. et al. – IUATLD, 1998, 2007). Для нашей страны это новое направление исследований, которое недостаточно изучено, несмотря на то, что оно имеет большую практическую значимость и актуальность.

В РФ диагностика ТБ осуществляется как в клиничко-диагностических лабораториях общей лечебной сети (КДЛ ОЛС), где проводится первичное выявление бациллярных больных туберкулезом, так и в специализированных бактериологических лабораториях противотуберкулезной службы (БЛ ПТС), осуществляющих диагностические исследования и верификацию диагноза «туберкулез». В связи с этим, возникает необходимость изучить возможность создания в РФ единой лабораторной сети по диагностике ТБ, включающей в себя лаборатории различной ведомственной подчиненности, и провести исследования по оптимизации её структуры.

Весьма актуальной задачей, решение которой позволит улучшить качество и повысить надежность микробиологической диагностики ТБ в учреждениях ПТС и ОЛС является разработка и внедрение в полном объеме в лабораторную практику РФ всех элементов системы обеспечения качества исследований. Изучение факторов, способствующих повышению эффективности и достоверности микробиологической диагностики ТБ в лабораториях ПТС и ОЛС, в том числе – разработка требований к материально-техническому обеспечению процессов микробиологических исследований и к обучению лабораторного персонала, а также рекомендаций по проведению кураторских визитов, представляет большой практический интерес.

Важной частью исследований, направленных на улучшение качества работы лабораторий в учреждениях ПТС и ОЛС, является детальный анализ и тщательное изучение и обобщение опыта работы экспериментальных регионов РФ, которые являлись участниками пилотных проектов по борьбе с ТБ, основанных на рекомендациях ВОЗ (Хоменко А.Г., 1999; Гришина Т.А., 1999; Пунга В.В., Ерохин

В.В. и др., 2006, 2008). Эти исследования необходимы для оценки эффективности реализации лабораторного компонента Программы ВОЗ по борьбе с ТБ в РФ и результатов внедрения в экспериментальных территориях системы обеспечения качества, что позволит разработать конкретные рекомендации по дальнейшему совершенствованию микробиологической диагностики туберкулеза в России.

Цель исследования

Разработка и внедрение научно обоснованного комплекса мероприятий, направленных на повышение эффективности и улучшение качества микробиологической диагностики и контроля химиотерапии туберкулеза в учреждениях противотуберкулезной службы и общей лечебной сети РФ.

Задачи исследования

1. Провести сравнительный анализ используемых в лабораторной практике РФ методов микробиологической диагностики ТБ. В дополнение к Приказу МЗ РФ от 21.03.2003г. № 109 «О совершенствовании противотуберкулезных мероприятий в Российской Федерации» разработать стандартные унифицированные методы диагностики, проведя модификацию существующих методик с учетом современных требований и международных рекомендаций.

2. Изучить биологические свойства штаммов *M. tuberculosis* с множественной лекарственной устойчивостью, выделенных от больных туберкулезом. Для оценки эпидемиологической ситуации и реального уровня распространенности лекарственно-устойчивых штаммов, в ряде регионов РФ, имеющих высокое качество микробиологической диагностики туберкулеза, провести мониторинг лекарственной устойчивости *M. tuberculosis*, включающий статистический анализ частоты и спектра первичной и приобретенной ЛУ МБТ.

3. Разработать требования к материально-техническому обеспечению процессов микроскопических и культуральных исследований, выполняемых с целью выявления, диагностики и контроля химиотерапии туберкулеза.

4. Разработать современную концепцию обучения персонала лабораторий, выполняющих микробиологическую диагностику ТБ, в том числе – стандартные программы, учебные пособия и требования к проведению курсов обучения.

5. Обобщить опыт реализации в пилотных проектах лабораторного компонента Программы по борьбе с ТБ. Оценить эффективность и результаты внедрения в экспериментальных территориях РФ системы обеспечения качества микробиологических исследований, выполняемых с целью диагностики ТБ.

6. Определить критерии оценки качества и эффективности микробиологических исследований в учреждениях противотуберкулезной службы и общей лечебной сети. Провести сравнительный анализ работы лабораторий, выполняющих микробиологическую диагностику туберкулеза, в ряде экспериментальных и контрольных регионов РФ.

7. Провести анализ современного состояния лабораторной службы РФ по диагностике туберкулеза, выявить основные имеющиеся проблемы и наметить пути их преодоления. Выработать рекомендации по дальнейшему совершенствованию микробиологической диагностики туберкулеза в РФ.

Научная новизна исследования

Выполнен сравнительный анализ эффективности современных методов микробиологической диагностики ТБ, определено их оптимальное сочетание для лабораторий различных уровней. Проведены исследования по стандартизации и унификации микробиологических методов, используемых в РФ для диагностики ТБ, и усовершенствованы методики микробиологических исследований.

Изучены биологические свойства лекарственно-устойчивых, в том числе – с множественной лекарственной устойчивостью, штаммов *M. tuberculosis*. Выявлены основные причины неадекватного тестирования ЛУ МБТ и разработаны меры по их устранению. После выполнения в экспериментальных регионах РФ всех составляющих системы обеспечения качества исследований проведен мониторинг ЛУ МБТ, впервые получены достоверные статистические данные и осуществлен детальный анализ распространенности и спектра ЛУ МБТ.

Впервые в отечественных исследованиях комплексно изучена проблема оптимальной организации процессов микроскопических и культуральных исследований, выполняемых с целью выявления, диагностики и контроля химиотерапии ТБ. Разработаны новые организационно-методические подходы к совершенствованию микробиологической диагностики ТБ в России и изучена эффективность их использования. Определены основные принципы организации сети лабораторий, участвующих в микробиологической диагностике ТБ.

Впервые обобщен и систематизирован 10-летний опыт и подведены итоги реализации в РФ лабораторного компонента пилотных проектов по борьбе с ТБ. Впервые оценены эффективность и результаты внедрения в экспериментальных регионах РФ системы обеспечения качества микробиологических исследований, выполняемых с целью диагностики ТБ. Проведен анализ деятельности лабораторий и показателей работы лабораторной службы по микробиологической диагностике ТБ опытных регионов РФ по сравнению с контрольными. Исследована проблема низкой эффективности и качества микробиологической диагностики ТБ в учреждениях ПТС и ОЛС, обоснованы направления повышения эффективности работы лабораторий и установлены требования, выполнение которых является необходимым условием для проведения качественной диагностики ТБ микробиологическими методами.

Практическая значимость работы

Определена оптимальная структура лабораторной сети по диагностике ТБ, включая перечень выполняемых функций для лабораторий различных уровней; разработаны подходы к решению проблемы централизации исследований.

Предложена рациональная схема микробиологического обследования пациентов с целью диагностики ТБ и последующего контроля химиотерапии в процессе лечения, позволяющая исключить дублирование анализов в лабораториях различного уровня и выполнение нецелесообразных исследований, не дающих дополнительной информации в клиническую практику.

Разработаны рекомендации по материально-техническому обеспечению процессов микроскопических и культуральных исследований, выполняемых для диагностики ТБ в лабораториях ПТС и ОЛС. Систематизированы требования к

устройству и помещениям лабораторий ПТС и ОЛС, составлены стандартные списки современного оборудования и расходных материалов, необходимых для оснащения БЛ ПТС и КДЛ ОЛС.

Разработаны рекомендации по обучению лабораторных специалистов ПТС и ОЛС с учетом современных подходов к обучению. Составлены стандартные программы обучения персонала лабораторий унифицированным методам микробиологической диагностики ТБ, разработаны требования к проведению курсов обучения, подготовлены комплекты учебных пособий, которые рекомендованы УМО РФ и изданы.

Обобщен опыт проведения кураторских визитов. Разработаны опросные листы для проверки работы лабораторий ОЛС и ПТС в ходе кураторских визитов и составлены рекомендации по их проведению. Предложены стандартные отчетные формы для оценки работы КДЛ ОЛС и учетно-отчетные формы для ведения документации в специализированных БЛ ПТС.

Определены оптимальные критерии оценки качества и эффективности работы КДЛ ОЛС и БЛ ПТС, выполняющих микробиологические исследования для диагностики туберкулеза.

Внедрение в практику результатов исследования

Проведенные исследования позволили разработать комплекс мер, направленных на совершенствование микробиологической диагностики ТБ, среди которых наибольшее практическое значение имеют мероприятия по внедрению системы обеспечения качества исследований. Выполнение разработанных рекомендаций в ходе реализации в РФ пилотных проектов по борьбе с ТБ привело к повышению эффективности и улучшению качества микробиологической диагностики ТБ в экспериментальных регионах и как следствие – к возрастанию достоверности, точности и надежности получаемых результатов исследования.

Разработанные рекомендации по рациональной организации процессов микробиологической диагностики ТБ и обеспечению качества микробиологических исследований внедрены в практику работы учреждений ПТС и ОЛС таких экспериментальных территорий РФ, как Орловская, Псковская, Белгородская области, Республики Марий Эл, Хакасия, и в настоящее время постепенно внедряются в регионах, входящих в зону курации ЦНИИТ РАМН.

Разработанные рекомендации по устройству и материально-техническому обеспечению специализированных БЛ ПТС были использованы в период с 2002 по 2006 гг. при создании и оснащении новых, а также при проведении реконструкции и ремонта с последующим дооснащением уже существующих лабораторий гражданского и пенитенциарного секторов РФ: центральная БЛ РПТД Республики Марий Эл (г. Йошкар-Ола); центральная БЛ ОПТД г. Пскова; БЛ межрайонного ПТД г. Великие Луки; БЛ ФСИН Псковской области; центральная БЛ ОПТД г. Белгорода; БЛ областной ПТ больницы г. Старый Оскол; БЛ ФСИН Белгородской области; центральная БЛ РПТД Республики Хакасия (г. Абакан); БЛ ФСИН Республики Хакасия; центральная БЛ ОПТД г. Пензы.

Результаты диссертационного исследования были использованы при разработке учебных пособий для профессиональной переподготовки лабораторных

специалистов и составлении стандартных программ обучения унифицированным методам микробиологической диагностики туберкулеза.

В рамках реализации в РФ Проекта «Профилактика, диагностика, лечение туберкулеза и СПИДа», на Федеральном (2006-2007 гг.) и региональных (2008 г.) уровнях для лабораторных специалистов страны были проведены курсы обучения «Выявление туберкулеза методом микроскопии» и «Культуральные методы диагностики туберкулеза» с использованием разработанных учебных пособий.

В 2007г. по инициативе ВОЗ и при участии экспертов ВОЗ, с использованием разработанных учебных пособий был проведен семинар по подготовке преподавателей для курса обучения «Выявление туберкулеза методом микроскопии», в котором участвовали представители из различных регионов РФ, являющиеся преподавателями на региональном уровне.

Разработанное и изданное руководство для КДЛ ЛПУ «Унифицированный метод микроскопического выявления кислотоустойчивых микобактерий» используется в повседневной работе клинико-диагностических лабораторий ОЛС и ПТС, а также ведомственных служб и других подразделений, участвующих в оказании противотуберкулезной (ПТ) помощи населению на территории РФ.

Утвержденные Санкт-Петербургским НИИ фтизиопульмонологии и Комитетом здравоохранения Псковской области и опубликованные методические рекомендации для врачей-фтизиатров «Протоколы лечения больных туберкулезом с использованием стратегии Всемирной организации здравоохранения в Псковской области» используются в практической работе ОПТД Псковской области.

В результате проведенных исследований подготовлены и переданы в МЗиСР РФ материалы для внесения изменений и дополнений в Приложения к Приказу МЗ РФ от 21.03.2003 г. № 109 «О совершенствовании противотуберкулезных мероприятий в РФ».

Составлены методические рекомендации «Ускоренный метод определения лекарственной устойчивости микобактерий туберкулеза» (утверждены Ученым советом ЦНИИТ РАМН 5.12.2000г., протокол № 14), которые используются в практической работе отдела микробиологии ЦНИИТ РАМН.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Использование в рутинной лабораторной практике предложенных стандартных унифицированных методов исследования, разработанных в соответствии с международными рекомендациями, обеспечивает получение достоверных и воспроизводимых результатов микробиологической диагностики туберкулеза.

2. Штаммы *M. tuberculosis* с множественной лекарственной устойчивостью существенно различаются между собой по скорости роста и степеням лекарственной резистентности и характеризуются наличием большого диапазона вирулентности. Показатели удельного веса штаммов с МЛУ, выделяемых от впервые выявленных больных туберкулезом, являются высокими и имеют тенденцию к росту.

3. Улучшению качества микробиологической диагностики туберкулеза способствует реализация на уровне субъекта РФ комплекса разработанных

организационных мероприятий, включающих в себя создание единой лабораторной сети по диагностике туберкулеза, возглавляемой региональной референс-лабораторией, централизацию исследований, а также использование рациональной схемы обследования.

4. Внедрение в лабораторную практику системы обеспечения качества исследований с использованием разработанных рекомендаций по материально-техническому обеспечению процессов микробиологических исследований, обучению лабораторного персонала и проведению кураторских визитов, повышает показатели эффективности и качества работы лабораторий по диагностике ТБ.

Личный вклад автора

Исследования выполнены в ЦНИИТ РАМН в течение 1995-2007 гг. в рамках 6 плановых научных тем (номера государственной регистрации 01.9.50.000742; 01.9.7.000221; 01.200.200875; 01.200.201017; 01.200.600831; 01.200.800744), в двух из которых автор являлся исполнителем и в четырех – ответственным исполнителем. Исследования в субъектах РФ проводились в ходе реализации пилотных проектов по борьбе с ТБ, выполнявшихся при финансовой поддержке международных организаций, и Проекта «Профилактика, диагностика, лечение туберкулеза и СПИДа», финансируемого в рамках Соглашения о займе между Международным банком реконструкции и развития и Правительством РФ.

Основные результаты работы получены лично автором, непосредственно участвовавшим в организации и проведении исследований по всем разделам диссертации, включая формулировку целей и задач исследования, определение методик исследования, планирование и проведение экспериментов, сбор и анализ первичного материала, оценку лабораторной и статистической информации, обобщение и математико-статистический анализ результатов исследования. Автор лично проводила сравнительный анализ качества микробиологической диагностики ТБ в 5-ти экспериментальных и 4-х контрольных регионах РФ в ходе регулярных выездов в изучаемые территории и самостоятельно анализировала отчетные формы и лабораторные журналы лечебно-профилактических учреждений.

В работах, выполненных в соавторстве, соискатель лично принимала участие в проведении исследований, интерпретации полученных результатов, подготовке научных публикаций и проектов нормативных документов, делала доклады на международных конференциях и семинарах. Имена соавторов указаны в соответствующих публикациях.

Апробация работы

Основные положения работы были представлены и обсуждены на заседаниях научного общества эпидемиологов, микробиологов и паразитологов, секция «Микробиология и иммунология туберкулеза» (Москва, 1996, 1999, 2001, 2005, 2006, 2008 гг.); на международном семинаре для врачей-бактериологов по современным проблемам бактериологической диагностики туберкулеза (Гомель, 2000); на международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы пенитенциарной медицины» (Минск, 2001); на международном региональном семинаре ВОЗ повышенного уровня для руководителей национальных туберкулезных лабораторных служб (Рига, 2005); на 4 Конгрессе

Европейского региона Международного союза по борьбе с туберкулезом и заболеваниями легких (МСБТБЗЛ) (Рига, 2007); на 38 и 39 всемирных конференциях МСБТБЗЛ (Кейптаун, 2007; Париж, 2008). Апробация диссертации состоялась на совместном межотделенческом заседании ЦНИИТ РАМН.

Публикации

По материалам диссертации опубликовано 56 научных работ, в том числе – 15 статей (из них 11 – в изданиях, рекомендованных ВАК РФ), 6 учебно-методических пособий, утвержденных УМО РФ, руководство для КДЛ ЛПУ, методические рекомендации для врачей-фтизиатров.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 368 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, главы, посвященной материалам и методам исследования, трех глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка литературы, содержащего 265 источников (в том числе – 108 отечественных и 157 иностранных), и приложения, включающего акты внедрения. Диссертация иллюстрирована 49 таблицами и 34 рисунками.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

В работе были использованы традиционные и современные методы микробиологической диагностики туберкулеза. Рутинные микробиологические исследования проводили в соответствии с методиками, изложенными в Приложениях 10, 11 к Приказу МЗ РФ от 21.03.2003 г. № 109.

Выявление *M. tuberculosis* проводили следующими методами: микроскопическое исследование мазков, окрашенных методом Циля-Нильсена, люминесцентная микроскопия, посеvy на плотные яичные питательные среды Левенштейна-Йенсена (Л-Й), Финна-П, Попеску, посев на жидкие питательные среды (модифицированные среды Middlebrook 7H12 и 7H9) для обнаружения возбудителя в системах бульонного культивирования ВАСТЕС-460ТВ и BVL MGIT manual в соответствии с прилагаемыми к ним инструкциями.

Исследование лекарственной чувствительности микобактерий (ЛЧ МБ) проводили традиционным непрямом методом абсолютных концентраций на плотной среде Л-Й, а также альтернативными методами исследования: метод пропорций, ускоренный биохимический метод абсолютных концентраций с применением реактива Грисса, прямые методы (на плотной среде Попеску и на жидких средах с использованием полуавтоматизированной радиометрической системы ВАСТЕС-460ТВ и мануальной системы BVL MGIT manual).

Для изучения биологических свойств возбудителя ТБ были использованы следующие штаммы микобактерий: *M. tuberculosis Erdman*, *M. tuberculosis H37Rv*, *M. bovis Bovinus-8*, *M. bovis BCG*, *M. avium*, чувствительные и устойчивые к противотуберкулезным препаратам (ПТП) клинические штаммы (в том числе – с МЛУ). Вирулентность штаммов исследовали методом внутрисердечного заражения морских свинок, определяя степень накопления МБ в паренхиматозных органах и сроки гибели животных. Количественную оценку вирулентности проводили по

числу колониеобразующих единиц (КОЕ) в органах морской свинки. Оценку ростовых свойств штаммов проводили с использованием системы ВАСТЕС-460ТВ. Максимальную степень устойчивости штаммов МБТ к ПТП определяли, исходя из соответствующих разведений ПТП в питательных средах.

Обобщение опыта и анализ результатов реализации лабораторного компонента Программы по борьбе с ТБ проводили в ряде экспериментальных регионов РФ, участвовавших в пилотных проектах: Томская, Ивановская, Орловская, Новгородская, Псковская, Белгородская области, Республики Марий Эл, Хакасия и др. Оценку эффективности и результатов внедрения системы обеспечения качества в экспериментальных территориях РФ проводили в сравнении с контрольными территориями, в качестве которых были выбраны некоторые из курируемых ЦНИИТ РАМН регионов, не участвовавших в реализации пилотных проектов по борьбе с ТБ.

Анализ результатов микробиологической диагностики ТБ в изучаемых регионах РФ осуществляли по материалам годовых отчетов баклабораторий противотуберкулезных диспансеров (ПТД) за период с 1996 по 2007 гг., а также по данным статистических отчетных форм (№ 8, № 33, № 7-ТБ), предоставляемых оргметодотделами региональных ПТД в МЗ РФ.

Статистическую обработку полученных результатов проводили общеупотребительными методами, используя критерии t и χ^2 . В ходе статистической обработки материалов главными показателями служили средняя арифметическая и ее средняя ошибка, а также доверительный интервал. Статистическую достоверность различий (p) средних величин (M) рассчитывали по критерию Стьюдента (t). Достоверными считали результаты при $p \leq 0,05$.

В работе применялись современные программные комплексы Microsoft Windows. Обработка данных и оформление результатов исследования осуществлялась на персональном компьютере при помощи программного обеспечения Microsoft Windows XP (MS Office 2003, MS Excel 2003), а также программ «Статистика» и EpiInfo 2000.

Результаты исследований и их обсуждение

Сравнительная характеристика, стандартизация и совершенствование микробиологических методов диагностики туберкулеза

На первом этапе работы, посвященной совершенствованию микробиологической диагностики ТБ в РФ, были проведены исследования, направленные на стандартизацию и унификацию используемых методов.

Наиболее доступным и распространенным методом микроскопического исследования для выявления кислотоустойчивых микобактерий (КУМ) является метод приготовления мазков непосредственно из диагностического материала с последующей окраской их по Цилю-Нильсену и микроскопическим исследованием приготовленных препаратов в световом микроскопе проходящего света. Этот метод широко используется в КДЛ ОЛС для выявления КУМ при первичном обследовании на наличие туберкулезной инфекции и должен выполняться в соответствии с методикой, изложенной в Приказе МЗ РФ от 21.03.2003 г. № 109.

Однако проведенные нами исследования показали, что некоторые положения

методики, представленной в Приказе № 109, в настоящее время устарели и не соответствуют международным стандартам. Кроме того, в Приказе отсутствует либо недостаточно полно изложена информация, касающаяся сбора мокроты, обеспечения биологической безопасности и контроля качества микроскопических исследований. В связи с этим, нами были подготовлены соответствующие предложения по внесению изменений и дополнений в действующий Приказ № 109.

Составленная с учетом современных международных рекомендаций и рекомендуемая для использования в рутинной лабораторной практике унифицированная методика микроскопического исследования по Цилю-Нильсену (включая вопросы организации и проведения бактериоскопической диагностики ТБ в учреждениях ОЛС) детально изложена в подготовленном нами учебном пособии «Выявление туберкулеза методом микроскопии», утвержденном УМО РФ.

В специализированных БЛ ПТС, выполняющих исследования мазков, приготовленных из осадка материала, обработанного для культурального исследования, используется метод люминесцентной микроскопии. С целью его стандартизации и для получения сравнимых количественных результатов исследования при использовании различных увеличений люминесцентного микроскопа, проведена модификация техники просмотра препаратов и процедуры оценки полученных результатов люминесцентным методом.

В качестве альтернативы используемой в настоящее время методики разработан способ, исключающий деление полученных количественных результатов на 2-10 (так называемый «фактор увеличения»), как это регламентировано Приказом № 109. Вместо этого рекомендуется просматривать на люминесцентном микроскопе площадь мазка, равную 7–8 мм², что аналогично площади, просматриваемой при использовании метода Циля-Нильсена. В этом случае вне зависимости от используемых увеличений микроскопа будут получены сравнимые результаты микроскопического исследования.

Выполненные расчеты показали, что площадь одного поля зрения и количество просматриваемых полей зрения существенно зависят от используемого увеличения люминесцентного микроскопа (табл. 1). Исходя из этого, для применения предлагаемого способа в практической работе, определены количества полей зрения, просмотр которых обеспечивает исследование требуемой площади мазка при использовании различных увеличений люминесцентного микроскопа, и разработана техника просмотра препарата (табл. 2).

Разработанный способ позволяет стандартизовать процесс просмотра препаратов и проводить адекватный количественный учет результатов микроскопического исследования люминесцентным методом, а также достоверно сравнивать результаты, полученные с помощью различных методов микроскопического исследования.

Рекомендуемая для использования модифицированная методика микроскопического исследования препаратов люминесцентным методом изложена в разработанном нами учебном пособии «Люминесцентная микроскопия», утвержденном УМО РФ. Кроме того, подготовлены и переданы в МЗиСР РФ предложения по внесению изменений в Приказ № 109.

Характеристика некоторых параметров микроскопического исследования
в зависимости от увеличения микроскопа

Общее увеличение	1000×		630×		400×		200×	
Увеличение объектива	100×		63×		40×		20×	
Увеличение окуляра	10×		10×		10×		10×	
Увеличение насадки	1×		1×		1×		1×	
Линейное поле окуляра, мм	18	20	18	20	18	20	18	20
Диаметр поля зрения на мазке, мм	0,18	0,20	0,29	0,32	0,45	0,50	0,90	1,0
Площадь одного поля зрения, мм ²	0,025	0,031	0,066	0,080	0,159	0,196	0,636	0,785
Количество полей зрения	300	242	115	95	47	38	12	10
Площадь мазка по кол-ву полей, мм ²	7,50	7,50	7,59	7,60	7,47	7,45	7,63	7,85

Примечание. Расчеты выполнены совместно с экспертом Госстандарта по оптическим приборам, к.т.н. О.В. Егоровой и в.н.с. ГНИЦ ПМ, д.б.н. М.В. Шульгиной.

Таблица 2

Рекомендуемое число просматриваемых полей зрения для оценки мазка как отрицательного при различных увеличениях микроскопа

Кратность увеличения микроскопа	Количество рекомендуемых к просмотру полей зрения	Техника просмотра мазка
1000× объектив 100× окуляр 10×/18 насадка 1×	300 площадь 300 полей зрения равна 7,5 мм ²	3 параллельных прохода вдоль мазка длина мазка, равная 20 мм, включает в себя примерно 110 полей зрения
630× объектив 63× окуляр 10×/18 насадка 1×	110 – 120 площадь 110–120 полей зрения равна 7,3 – 7,9 мм ²	1,5–2 параллельных прохода вдоль мазка длина мазка, равная 20 мм, включает в себя примерно 70 полей зрения
450× объектив 90× окуляр 5×/23 насадка 1×	140 – 150 площадь 140–150 полей зрения равна 7,4 – 8,0 мм ²	2 параллельных прохода вдоль мазка длина мазка, равная 20 мм, включает в себя примерно 77 полей зрения
450× объектив 40× окуляр 10×/18 насадка 1,125×	60 площадь 60 полей зрения равна 7,6 мм ²	1,5 параллельных прохода вдоль мазка длина мазка, равная 20 мм, включает в себя примерно 50 полей зрения
400× объектив 40× окуляр 10×/18 насадка 1×	45 – 50 площадь 45 – 50 полей зрения равна 7,2 – 8,0 мм ²	1 проход вдоль мазка длина мазка, равная 20 мм, включает в себя примерно 45 полей зрения
250× объектив 25× окуляр 10×/18 насадка 1×	20 – 25 площадь 20 – 25 полей зрения равна 8,1 – 10,2 мм ²	1 проход вдоль мазка длина мазка, равная 20 мм, включает в себя примерно 28 полей зрения
200× объектив 20× окуляр 10×/18 насадка 1×	15 – 20 площадь 15 – 20 полей зрения равна 9,5 – 12,7 мм ²	1 проход вдоль мазка длина мазка, равная 20 мм, включает в себя примерно 22 поля зрения

Применение эффективной унифицированной питательной среды является основой культуральной диагностики туберкулеза. В связи с тем, что в отечественной практике широко использовалась лиофилизированная среда Л-Й, выпускавшаяся Тюменским предприятием бакпрепаратов, нами было проведено сравнительное исследование эффективности различных вариантов питательной среды Л-Й. Средние показатели интенсивности роста культур МБТ на испытуемых средах представлены в табл. 3.

Таблица 3

Интенсивность роста штаммов *M. tuberculosis* (в КОЕ) на различных вариантах среды Левенштейна-Йенсена

Вариант питательной среды Левенштейна-Йенсена	Концентрация микобактериальной суспензии (количество мт/мл)								
	Штамм H37Rv			Чувствительный клинический штамм			Полирезистентный клинический штамм		
	10000	1000	100	10000	1000	100	10000	1000	100
Нативная (контроль)	82	29	15	80	36	19	38	14	6
Лиофилизированная	25	7	3	32	21	9	26	3	0
Нативная (из готовой солевой основы)	>100	58	20	96	42	21	43	26	9

Результаты исследований показали, что интенсивность роста как чувствительных, так и лекарственно-устойчивых штаммов МБТ была значительно выше на нативных питательных средах Л-Й лабораторного производства, чем на лиофилизированной среде. Кроме того, при засеве лиофилизированной среды Л-Й микобактериальной суспензией полирезистентного клинического штамма, содержащей 100 микробных тел/мл суспензии, роста получено не было. Это обстоятельство указывало на то, что выделение лекарственно-устойчивых МБТ на лиофилизированной питательной среде Л-Й у олигобациллярных больных не всегда возможно, в то время как данные больные являются контактиозными.

Изучение пригодности лиофилизированной среды Л-Й для постановки тестов на ЛЧ МБТ к основным ПТП показало существенные различия полученных результатов тестирования в зависимости от варианта использовавшейся питательной среды. У 19 из 40 исследованных лекарственно-устойчивых штаммов (т.е. в 47,5% случаев) на лиофилизированной среде Л-Й не выявлялся полный спектр лекарственной устойчивости. Кроме того, по сравнению с нативной, на лиофилизированной среде Л-Й визуально отмечалось значительное снижение массивности роста практически всех исследованных культур.

Снижение интенсивности роста культур и недовыявление спектра их резистентности на лиофилизированной среде объяснялось, вероятно, недостатком в ней питательных веществ, необходимых для оптимального роста МБТ. Однако некоторые лекарственно-устойчивые штаммы МБТ, имевшие, по-видимому, менее избирательные питательные потребности по сравнению с остальными культурами, показали одинаковый рост и спектр устойчивости на обеих испытуемых средах. Таким образом, результаты определения ЛЧ МБТ зависели как от индивидуальных культуральных особенностей конкретных штаммов, так и содержания питательных

субстратов в используемой среде.

На основании выполненных исследований было установлено, что для проведения эффективной культуральной диагностики туберкулеза и достоверного определения ЛЧ МБТ необходимо применять только нативные питательные среды лабораторного производства, являющиеся полноценными по составу питательных веществ. Их использование обеспечивает выделение максимально возможного количества культур МБТ и позволяет определить истинный спектр лекарственной резистентности для всех тестируемых штаммов.

Далее были проведены сравнительные исследования спектра ЛУ МБТ и интенсивности роста культур при использовании трех различных вариантов нативной питательной среды Л-Й, один из которых был приготовлен по стандартной прописи из отечественных реактивов (контроль), а два остальных – из готовых сухих солевых основ: BBL Lowenstein-Jensen Medium Base, фирмы Becton Dickinson, и TB medium acc. to Lowenstein-Jensen (base), фирмы Merck. Тестирование лекарственной чувствительности 84 клинических штаммов МБТ, проведенное на трех испытуемых средах, показало полное совпадение спектра резистентности для всех исследованных культур при использовании как нативной среды Л-Й из отечественных реактивов, так и сред из готовых сухих солевых основ импортного производства. При этом на средах, приготовленных из сухих солевых основ, был отмечен более массивный рост МБТ по сравнению с контрольной нативной средой, как в пробирках с ПТП, так и в пробирках без них.

Проведенные исследования позволили рекомендовать использование питательной среды Л-Й на основе готового импортного солевого концентрата для проведения посевов и определения ЛЧ МБТ в ряде регионов России. Внедрение новой питательной среды было осуществлено в Ивановской, Томской, Владимирской и Нижегородской областях, а также в Республике Марий Эл.

Основным направлением совершенствования культуральной диагностики ТБ является сокращение сроков культивирования МБ, что чрезвычайно важно как для лечения больного, так и контроля за распространением туберкулезной инфекции. В связи с этим, проведены сравнительные исследования эффективности традиционных и ускоренных методов выявления возбудителя и тестирования ЛЧ.

Исследование воспроизводимости результатов определения ЛЧ МБТ традиционными методами пропорций и абсолютных концентраций, выполненное на 40 клинических изолятах *M. tuberculosis*, показало равную диагностическую значимость обоих методов и позволило рекомендовать к использованию в практических лабораториях страны метод абсолютных концентраций, как более простой, доступный и экономичный.

Однако традиционные методы определения ЛЧ требуют значительных затрат времени. В то же время, организация ускоренной диагностики ЛЧ МБТ с использованием дорогостоящих автоматизированных систем бульонного культивирования нередко вызывает трудности из-за недостаточного финансирования лабораторий, в результате чего возникает необходимость использования более дешевых, но не уступающих по скорости методик.

В ЦНИИТ РАМН был разработан ускоренный нитратредуктазный метод

определения ЛЧ МБТ на плотных питательных средах, принцип которого заключается в выявлении жизнеспособных МБ путем регистрации их ферментативной активности при отсутствии видимого роста культуры. Метод основан на способности МБТ восстанавливать нитраты в нитриты, присутствие которых выявляется специфическими реагентами, дающими цветную реакцию.

Тестирование ЛЧ МБТ с помощью ускоренного нитратредуктазного метода позволяет сократить длительность анализа с 21-28 суток до 8-12 суток при использовании среды Л-Й или до 4-7 суток при использовании среды Попеску, что сопоставимо со сроками определения ЛЧ с помощью автоматизированных систем бульонного культивирования, но в то же время значительно дешевле.

Наши исследования показали, что ускоренный нитратредуктазный метод определения ЛЧ МБТ является до того же то ным и не уступает по чувствительности традиционному методу абсолютных концентраций, обеспечивая полноценное определение спектра лекарственной устойчивости. Проведенное нами на 1520 клинических штаммах МБТ параллельное определение ЛЧ ускоренным нитратредуктажным методом и методом абсолютных концентраций на среде Л-Й показало совпадение результатов тестирования в 96,6% случаев.

Полученные результаты позволили сделать заключение о том, что апробированный метод обеспечивает быструю и точную детекцию лекарственно-устойчивых штаммов МБТ и может рассматриваться в качестве недорогой альтернативы автоматизированным технологиям, особенно при скудных ресурсах. Ускоренный нитратредуктазный метод является модификацией традиционного метода абсолютных концентраций и наряду с ним может быть рекомендован к применению во всех БЛ противотуберкулезных учреждений (ПТУ) России.

Составленное нами подробное описание способа и техники выполнения ускоренного тестирования ЛЧ МБТ нитратредуктажным методом с помощью реактива Грисса представлено в МЗиСР РФ для внесения предлагаемой методики в Приказ № 109 в качестве альтернативного метода определения ЛЧ МБТ.

Существенное сокращение длительности определения ЛЧ МБТ может быть достигнуто как в результате использования для анализа жидких питательных сред, так и за счет исследования ЛЧ прямым методом, в связи с чем, нами была изучена возможность применения в системах бульонного культивирования прямого метода тестирования ЛЧ МБТ. Сравнительная оценка эффективности использования различных ускоренных, в том числе – прямых методов тестирования ЛЧ МБТ, выявила, что спектр ЛУ, определенный различными методами, практически совпадал, в то время как сроки получения результатов с помощью прямых методов исследования были значительно сокращены.

Прямой метод определения ЛЧ МБТ с использованием системы ВАСТЕС-460 позволял получить результаты исследования в период с 5 по 18 сутки от момента посева диагностического материала. Длительность анализа зависела от массивности бактериовыделения, определенной методом микроскопии, и составляла в среднем $9,3 \pm 2,1$ суток.

По сравнению с ВАСТЕС-460, использование системы MGIT позволяло получить результаты прямого тестирования ЛЧ МБТ на несколько суток позднее –

в период с 7 по 25 сутки от момента посева, что в среднем составляло $16,3 \pm 4,1$.

Скорость получения результатов при прямом тестировании ЛЧ МБТ на плотной среде Попеску составляла от 15 до 25 суток (среднее значение $19,4 \pm 2,1$).

Результаты ЛЧ МБТ, определенные с помощью непрямого ускоренного нитратредуктазного метода, были получены в период с 32 по 64 сутки от момента посева диагностического материала (в среднем на $45,7 \pm 5,2$ сутки).

Проведенные исследования позволили сделать вывод о том, что системы бульонного культивирования ВАСТЕС-460ТВ и MGIT manual могут быть использованы для прямого определения ЛЧ МБТ, так как позволяют получать адекватные результаты тестирования, причем в более короткие сроки по сравнению с прямым определением ЛЧ МБТ на плотных средах и, тем более, – по сравнению с непрямым ускоренным нитратредуктажным методом.

С целью оценки результатов применения ускоренных методов в клинической практике, у 83 больных с лекарственно-резистентными остро прогрессирующими формами туберкулеза легких был проведен анализ эффективности химиотерапии (х/т) в зависимости от сроков её коррекции, проведенной по данным ЛУ МБТ, полученным с помощью различных методов тестирования.

Установлено, что показатель прекращения бактериовыделения по окончании 4-го месяца лечения у больных с лекарственно-резистентными штаммами при ранней коррекции х/т по данным прямого определения ЛУ МБТ на ВАСТЕС-460, полученным на 8-10 сутки от момента посева диагностического материала, был практически таким же, что и у больных с лекарственно-чувствительными штаммами МБТ, – соответственно 80% и 84% ($p > 0,05$).

При коррекции х/т с использованием непрямого ускоренного нитратредуктазного метода прекращение бактериовыделения наблюдалось в 62,9% случаев. Это обстоятельство объяснялось тем, что в этом случае коррекция х/т проводилась в более поздние сроки – через 1,5-2 месяца от начала лечения.

Результаты тестирования ЛЧ МБТ, полученные прямым методом исследования в системе ВАСТЕС-460 и непрямым ускоренным нитратредуктажным методом, полностью совпадали. Таким образом, использование прямого метода определения ЛЧ МБТ на ВАСТЕС-460 позволяло за 8-10 дней достоверно выявить наличие ЛУ и своевременно провести соответствующую коррекцию х/т на ранних этапах лечения, значительно повышая тем самым его эффективность.

Проведенные испытания показали, что применение автоматизированных систем и жидких питательных сред дает высокую воспроизводимость результатов и позволяет стандартизовать исследования, а в сочетании с использованием прямого метода тестирования ЛЧ МБТ – значительно сокращает время исследования. Однако следует учитывать существенные трудозатраты персонала при выполнении процедур микробиологического исследования диагностического материала с использованием систем бульонного культивирования, а также высокую стоимость расходных материалов. В связи с этим указанным оборудованием рекомендуется оснащать только крупные централизованные БЛ, выполняющие большое количество исследований и имеющие достаточные материальные ресурсы. В остальных случаях рекомендуется использовать для тестирования ЛЧ МБТ

непрямой ускоренный нитратредуктазный метод, а для бо́льших с остропрогрессирующим течением туберкулезной инфекции – дополнительно прямой метод с использованием плотной питательной среды Попеску.

Изучение биологических свойств клинических штаммов МБТ с МЛЮ к ПТП

Одной из причин ухудшения эпидемиологической ситуации по ТБ являлось распространение лекарственно-устойчивых форм заболевания. В настоящее время туберкулез с множественной лекарственной устойчивостью к ПТП представляет собой очень серьезную проблему, вследствие чего изучение биологических свойств штаммов *M. tuberculosis* с МЛЮ имеет важное научно-практическое значение.

Нами проведена сравнительная количественная оценка вирулентности лекарственно-устойчивых и чувствительных клинических и лабораторных штаммов МБ, а также изучена степень устойчивости штаммов с МЛЮ и оценены их ростовые свойства в сравнении с контрольными чувствительными культурами.

Было установлено, что исследованные лабораторные и клинические штаммы характеризовались различным уровнем накопления МБ в организме животных. Для отдельных лекарственно-устойчивых клинических штаммов был отмечен более низкий уровень накопления МБ в органах морских свинок по сравнению с контрольными чувствительными культурами, в качестве которых использовали чувствительный клинический штамм МБТ и высоковирулентный лабораторный штамм *M. tuberculosis Erdman*. Однако большинство резистентных культур МБТ (в том числе – штаммы с МЛЮ) по уровню обсемененности паренхиматозных органов зараженных ими морских свинок, определенному по числу КОЕ МБ в 1г органа, практически не отличались от вирулентных чувствительных культур и обладали выраженной пневмотропностью, что могло указывать на их эпидемическую опасность (табл. 4).

Таблица 4

Обсемененность паренхиматозных органов морских свинок, зараженных различными штаммами микобактерий

Штамм МБ	Число КОЕ МБ в 1 грамме органа		
	Легкие	Печень	Селезенка
<i>M. tuberculosis Erdman</i>	$180 \cdot 10^6$	$27 \cdot 10^3$	$20 \cdot 10^6$
<i>M. tuberculosis H37Rv</i>	$4 \cdot 10^4$	–	$1 \cdot 10^4$
<i>M. bovis Bovinus-8</i>	$5 \cdot 10^6$	$55 \cdot 10^6$	$10 \cdot 10^6$
<i>M. bovis BCG</i>	$6 \cdot 10^4$	$19 \cdot 10^3$	$5 \cdot 10^4$
<i>M. avium</i>	$5 \cdot 10^6$	$68 \cdot 10^6$	$23 \cdot 10^6$
Клинические штаммы МБТ:			
№ 204 (чувствительный)	$180 \cdot 10^6$	–	$5 \cdot 10^6$
№ 156 (устойчивый к SHR)	$60 \cdot 10^4$	–	$22 \cdot 10^4$
№ 564 (устойчивый к SHRK)	$120 \cdot 10^6$	–	$8 \cdot 10^6$
№ 725 (устойчивый к SHRK)	$150 \cdot 10^6$	–	$17 \cdot 10^6$
№ 204 (устойчивый к Н)	$150 \cdot 10^6$	–	$20 \cdot 10^6$
№ 673 (устойчивый к Н)	$35 \cdot 10^6$	–	$40 \cdot 10^5$
№ 334 (устойчивый к SK)	$170 \cdot 10^6$	–	$25 \cdot 10^6$
№ 582 (устойчивый к SK)	$105 \cdot 10^6$	–	$17 \cdot 10^6$
№ 1332 (устойчивый к К)	$140 \cdot 10^6$	–	$32 \cdot 10^6$
№ 1336 (устойчивый к К)	$40 \cdot 10^6$	–	$4 \cdot 10^6$

Дальнейшие исследования показали, что штаммы с МЛУ характеризовались не только различными степенями вирулентности, но и различными степенями лекарственной резистентности, а также различной скоростью роста.

Проведенные нами эксперименты не выявили жесткой корреляции вирулентности *M. tuberculosis* со спектром и степенью устойчивости штаммов к ПТП, а также с таким показателем, как процент устойчивых клеток в популяции. Однако была установлена прямая зависимость вирулентности штаммов с МЛУ от скорости их роста в культуре и в макроорганизме.

Оценка ростовых свойств различных штаммов в системе ВАСТЕС-460 показала, что при дозе засева $5 \cdot 10^6$ КОЕ средняя скорость роста контрольных чувствительных культур (зависевшая, вероятно, от их патогенности) составила: для *M. bovis* BCG – 14,5 суток, для *M. tuberculosis* H37Rv – 10,2 суток, для чувствительного клинического штамма – 8 суток. Установлено, что штаммы с МЛУ также различались между собой по своим ростовым свойствам: некоторые из них по скорости роста не уступали высоковирулентным чувствительным культурам, в то время как скорость роста ряда других штаммов с МЛУ была сравнима со скоростью роста слабовирулентных культур (рис. 1). Анализируя полученные результаты, можно предположить, что вирулентность штаммов с МЛУ, скорее всего, определяется скоростью размножения их клеток.

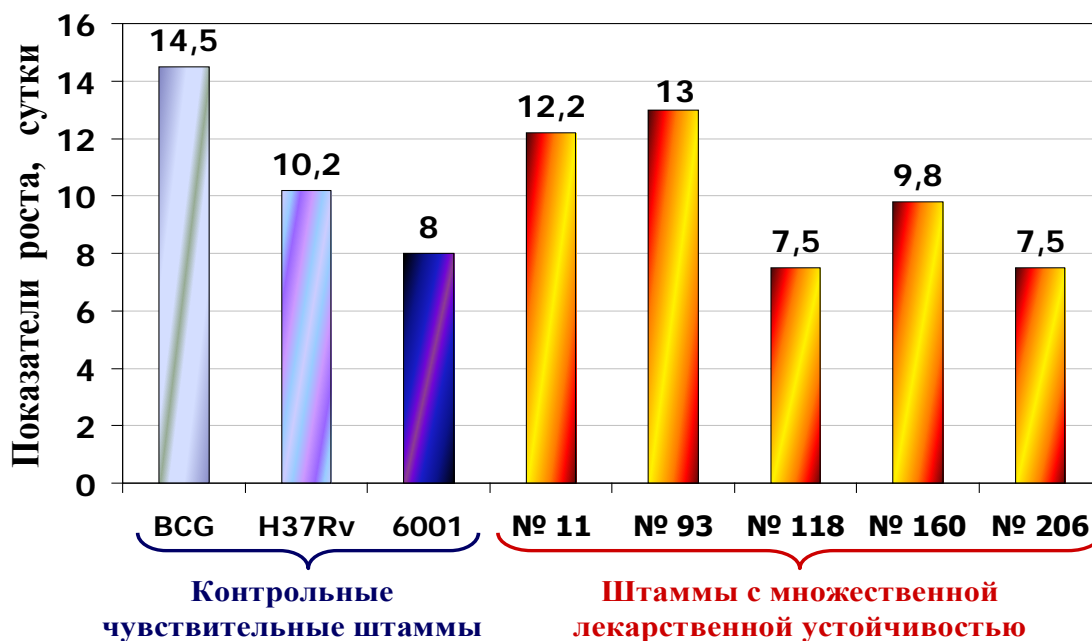


Рис. 1. Скорость роста штаммов с МЛУ в сравнении с контрольными чувствительными штаммами в системе ВАСТЕС ТВ-460

Таким образом, проведенные исследования биологических свойств штаммов *M. tuberculosis* с МЛУ к ПТП позволили сделать вывод о большом диапазоне их вирулентности и, следовательно, об их эпидемической опасности.

Мониторинг лекарственной устойчивости *M. tuberculosis*

Правильное определение ЛЧ МТБ, обеспечивающее возможность подбора адекватной химиотерапии, рассматривается как крайне важный фактор в системе мероприятий по борьбе с туберкулезом.

Проведенный нами анализ показал, что на начальном этапе реализации пилотных проектов по борьбе с ТБ, при не стандартизованных исследованиях, адекватность определения ЛЧ МБТ в специализированных БЛ экспериментальных территорий РФ являлась весьма низкой, а результаты ЛЧ МБТ, получаемые большинством лабораторий, нельзя было расценивать как достоверные.

В связи с этим, в опытных регионах были проведены мероприятия по обеспечению качества выполнения тестов на ЛЧ МБТ, а именно: обучение персонала стандартной методике исследования, оснащение лабораторий необходимым оборудованием, расходными материалами и реактивами, а также контроль качества микробиологической диагностики туберкулеза в БЛ ПТУ.

Внешняя оценка качества тестирования ЛЧ МБТ и достоверности получаемых результатов осуществлялась при кураторских визитах в лаборатории экспериментальных регионов, а также с помощью повторного анализа в лаборатории ЦНИИТ репрезентативной выборки полученных из курируемых регионов культур и с использованием панельного тестирования.

Регулярные кураторские визиты выполнялись с целью оценки соответствия деятельности лабораторий правилам проведения лабораторных работ, состояния оборудования и выполнения норм техники безопасности. Кураторская работа включала в себя как консультативную, так и практическую организационно-методическую помощь по внедрению и совершенствованию методов современной микробиологической диагностики ТБ, а также обучение персонала лабораторий на местах и повышение квалификации медицинских кадров. Особое внимание уделялось стандартизации метода определения ЛЧ МБТ и обязательному контролю качества выполнения указанного теста.

Проведенная нами в экспериментальных регионах РФ кураторская работа дала положительный эффект, позволив не только выявить, но и устранить основные ошибки, встречающиеся при постановке теста на ЛЧ МБТ. Анализ причин ошибочного определения ЛЧ МБТ показал, что наиболее распространенными являлись ошибки при приготовлении питательных сред и разведений ПТП, а также при подготовке микобактериальных суспензий. По мере замены лиофилизированной питательной среды Л-Й на нативную и коррекции концентраций ПТП в среде, в экспериментальных регионах отмечалось сокращение количества ошибочных определений ЛЧ МБТ, и уменьшался процент расхождения результатов тестирования ЛЧ МБТ в ЦНИИТ и курируемых лабораториях.

Повторное определение ЛЧ для культур МБТ, поступавших в лабораторию ЦНИИТ из курируемых экспериментальных регионов, показало, что в период с 1998 по 2001 гг. совпадение результатов тестирования ЛЧ МБТ методом абсолютных концентраций на среде Л-Й в контрольной лаборатории ЦНИИТ и лабораториях опытных регионов возросло в среднем на 17%, что свидетельствовало об эффективности проведенной кураторами работы.

С целью оценки остроты проблемы лекарственно-устойчивого ТБ в наше исследование был включен регулярный мониторинг ЛУ МБТ к ПТП, к проведению которого мы приступили после внедрения в экспериментальных регионах РФ всех составляющих системы обеспечения качества микробиологических исследований.

Для углубленного анализа показателей ЛУ МБТ были выбраны два экспериментальных региона РФ – Орловская область и Республика Марий Эл, отвечавшие всем требованиям для получения достоверной информации о распространенности лекарственной устойчивости *M. tuberculosis* к ПТП.

Основной этап стандартизации лабораторных процедур и бактериологических методов, проводившийся в этих регионах в течение нескольких лет, был завершен к 2000 г. Показатели ЛУ МБТ, регистрировавшиеся с этого времени в указанных территориях, являлись достоверными и отражали реальный уровень распространенности лекарственно-устойчивого ТБ. Основанием для такого заключения явился высокий процент совпадения результатов тестирований ЛЧ МБТ, проведенных параллельно в лабораториях опытных регионов, ЦНИИТ РАМН и супранациональных лабораториях (табл. 5).

Таблица 5

Совпадение результатов определения лекарственной чувствительности *M. tuberculosis* по отдельным противотуберкулезным препаратам (в %)

Препарат	Орловская область				Республика Марий Эл		
	Повторное определение ЛЧ МБТ в ЦНИИТ		Панельное тестирование		Повторное определение ЛЧ МБТ в ЦНИИТ	Панельное тестирование	
	1999 г.	2001 г.	2004 г.	2005 г.		1999 г.	2004 г.
H	100	100	95,0	100	94,6	95,0	100
R	90,0	96,0	95,0	90,0	97,8	95,0	100
E	95,0	96,0	90,0	100	97,8	95,0	90,0
S	90,0	88,0	90,0	90,0	97,8	90,0	100

Мониторинг ЛУ МБТ, проведенный в Орловской области и Республике Марий Эл в период с 2000 по 2007 гг., показал наличие эпидемически значимого уровня распространенности ЛУ МБТ как среди впервые выявленных (в/в), так и среди ранее леченных (р/л) больных туберкулезом.

В исследуемый период времени из всех в/в больных туберкулезом с положительным результатом посева, примерно у четвертой части обследованных на ЛЧ больных ежегодно регистрировали лекарственно-устойчивые штаммы МБТ, резистентные как минимум к одному ПТП, что указывало на напряженную ситуацию с распространением в изучаемых регионах лекарственно-устойчивого туберкулеза. В 2000 г. показатели первичной ЛУ МБТ составили: в Орловской области – 26,2%, в Республике Марий Эл – 26,7%. В 2005-2006-2007 гг. эти показатели составили: в Орловской области – 26,4%, 26,8% и 23,6% соответственно, в Республике Марий Эл – 29,2%, 31,5% и 26,4%.

Было также установлено, что как у в/в, так и р/л больных туберкулезом регистрировались достаточно высокие показатели МЛУ МБТ (рис. 2).

Для максимальной оценки эпидемиологической ситуации и масштабов распространенности МЛУ, а также наблюдающихся тенденций, нами, в течение нескольких лет, проводился мониторинг МЛУ МБТ в 14 регионах, входящих в зону курации ЦНИИТ РАМН.

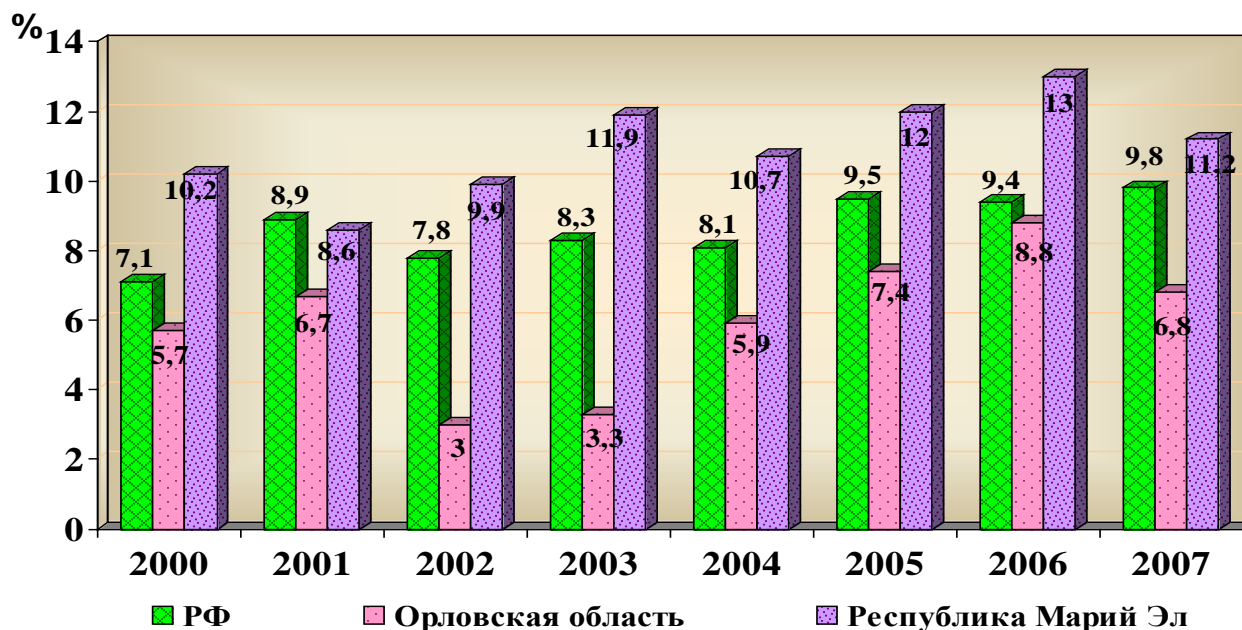


Рис. 2. Динамика множественной лекарственной устойчивости *M. tuberculosis* (в %) у впервые выявленных больных туберкулезом органов дыхания в РФ и в отдельных экспериментальных регионах РФ в 2000-2007 гг.

Примечание: данные предоставлены зав. БЛ ОПТД г. Орла Е.С. Немцовой и зав. БЛ РПТД г. Йошкар-Олы Л.В. Петровой.

Результаты исследования показали, что в большинстве из изучаемых регионов наблюдались значительные колебания уровня МЛУ МБТ. Анализируемые данные, вероятно, не во всех случаях являлись достоверными, поскольку мероприятия по обеспечению качества определения ЛЧ МБТ проводились только в 4-х экспериментальных регионах, участвовавших в пилотных проектах. В остальных 10-ти территориях качество микробиологической диагностики ТБ не контролировалось и, возможно, не соответствовало стандартным критериям, что не позволило оценить истинный уровень распространенности МЛУ МБТ во всех изучаемых регионах. Очевидно, что для решения этой проблемы необходимо во всех регионах РФ (аналогично тому, как это было сделано в экспериментальных территориях) внедрять систему обеспечения качества микробиологических исследований, гарантирующую получение истинных показателей ЛУ МБТ.

Тем не менее, результаты проведенного исследования позволили сделать вывод о том, что в целом показатели МЛУ МБТ в РФ являлись высокими, и в большинстве регионов наблюдалась тревожная тенденция к постепенному нарастанию их уровня как среди в/в, так и среди р/л больных туберкулезом органов дыхания. Это свидетельствовало о неблагоприятной эпидемиологической ситуации по туберкулезу в РФ и необходимости принятия адекватных мер для ее стабилизации и предупреждения развития и распространения ЛУ МБТ. Одной из таких мер является улучшение качества работы микробиологических лабораторий.

Обобщение опыта и анализ результатов реализации лабораторного компонента Программы по борьбе с туберкулезом в экспериментальных регионах РФ. Разработка требований, обеспечивающих качество выполнения микробиологических исследований для диагностики туберкулеза

В середине 90-х годов прошлого века в ряде экспериментальных регионов РФ

при поддержке различных международных организаций началось внедрение Программы по борьбе с туберкулезом, разработанной с учетом рекомендаций ВОЗ и адаптированной к условиям РФ. В процессе ее реализации в пилотных проектах был разработан комплекс мероприятий, направленных на повышение эффективности и качества микробиологических исследований в учреждениях ПТС и ОЛС, включая новые организационно-методические подходы к совершенствованию микробиологической диагностики туберкулеза в РФ.

Одним из важнейших мероприятий, проводившихся в ходе выполнения пилотных проектов, являлась реорганизация структуры региональной лабораторной сети по диагностике ТБ, которая не являлась оптимальной.

С целью внедрения в экспериментальных регионах РФ программы обеспечения качества исследований было проведено объединение всех лабораторий различной ведомственной подчиненности, участвовавших на уровне региона в микробиологической диагностике туберкулеза, в единую лабораторную сеть, стержнем построения которой являлась система обеспечения качества исследований. Создание вышеупомянутой сети предусматривало внедрение системы курации подведомственных лабораторий вышестоящими лабораториями, в связи с чем, лаборатории ОЛС и ПТС, входившие в единую региональную сеть, работали в тесном контакте. Координация мероприятий по обеспечению качества в лабораториях сети осуществлялась центральной БЛ ПТС региона.

Помимо этого, одним из направлений совершенствования структуры лабораторной сети являлась централизация исследований. Проведенный нами анализ численности лабораторий, имевшихся в экспериментальных регионах РФ, и эффективности их работы показал, что количество лабораторий, выполнявших микробиологическую диагностику туберкулеза, было избыточно. Кроме того, многие из них являлись маломощными, имели недостаточную производственную нагрузку, не соответствовали нормативным требованиям и не обеспечивали качественное выполнение исследований.

В связи с этим, для максимальной стандартизации исследований и обеспечения достоверности получаемых результатов, в экспериментальных регионах РФ практиковалась централизация микробиологических исследований по диагностике ТБ в наиболее подготовленных, крупных лабораториях, оснащенных современным оборудованием, укомплектованных высококвалифицированными кадрами и осуществляющих контроль качества исследований. Указанное положение касалось как лабораторий ОЛС, так и специализированных БЛ ПТС, и в итоге способствовало повышению эффективности и улучшению качества микробиологической диагностики туберкулеза в опытных регионах.

Например, в 2004-2006 гг. в Белгородской области была проведена централизация культуральных исследований для диагностики ТБ на базе двух наиболее крупных БЛ ПТС региона, сопровождавшаяся закрытием 8-ми посевных пунктов, не отвечавших современным требованиям и имевших низкую эффективность диагностики. В результате, доля бактериовыделителей, выявляемых микробиологическими методами среди всех в/в больных ТБ в Белгородской области, возросла с 41,9% в 2003 г. до 52,3% в 2007 г. (по данным статистической

отчетной формы № 8).

Анализ деятельности посевных пунктов РФ показал необходимость не только централизации выполняемых в них исследований, но и проведения реорганизации их работы. В тех редких случаях, когда посевные пункты работали эффективно, и была установлена целесообразность их сохранения, рекомендовалось перевести посевные пункты в статус полноценных бактериологических лабораторий. Наши наблюдения позволили обосновать целесообразность расширения функций этих лабораторий, в обязанности которых, дополнительно к функциям, оговариваемым Приказом № 109, рекомендовалось вменить первичную идентификацию выросших культур (по морфологии колоний, скорости роста и кислотоустойчивости) и выдачу в клинику предварительных результатов о выделении культуры, относящейся к комплексу *M. tuberculosis*. Таким образом, необходимыми требованиями для сохранения и дальнейшего функционирования бывших посевных пунктов являлись наличие в них условий для качественного и безопасного проведения микроскопических и культуральных исследований, а также возможностей для выполнения оценки результатов посева и своевременной выдачи клиницистам его предварительного положительного результата.

На основании результатов проведенных исследований и с учетом имевшегося положительного опыта реализации пилотных проектов на территории РФ, нами, совместно с другими членами Тематической рабочей группы «Лабораторная диагностика туберкулеза» при Рабочей группе высокого уровня МЗиСР РФ, были разработаны основные принципы рациональной организации в РФ диагностики и контроля химиотерапии туберкулеза микробиологическими методами.

Разработанная модель оптимальной структуры лабораторной службы по микробиологической диагностике ТБ предусматривает создание в РФ единой лабораторной сети, которая организуется по территориальному принципу и включает в себя как лаборатории ПТС, так и ОЛС. В соответствии с предлагаемой моделью лаборатории единой сети подразделяются на пять уровней в зависимости от выполняемых ими функций. С учетом современных тенденций развития лабораторной диагностики ТБ конкретизированы функции лабораторий различных уровней. Кроме того, для улучшения качества микробиологической диагностики ТБ рекомендуется создать в РФ сеть референс-лабораторий, в связи с чем, подготовлены Проекты Положений об их организации. Разработанные предложения переданы в МЗиСР РФ для внесения изменений и дополнений в действующий Приказ № 109.

Обязательным условием успешной реализации в экспериментальных регионах РФ Программы по борьбе с ТБ являлось наличие в них качественно и эффективно работающей специализированной бактериологической ПТ службы. В связи с этим, в ходе реализации пилотных проектов наши первоочередные задачи состояли в том, чтобы разработать и внедрить в практику рекомендации, направленные на совершенствование микробиологической диагностики ТБ в специализированных БЛ региональных ПТУ.

Анализ деятельности баклабораторий показал, что в отечественной лабораторной практике имели место такие существенные проблемы, как

выполнение большого количества нецелесообразных и малоинформативных исследований, дублирование анализов, дробление диагностического материала.

Было установлено, что проведение диагностических культуральных исследований (особенно массовых посевов такого материала, как моча) при профилактических обследованиях для пациентов из групп риска, являлось нецелесообразным и экономически неэффективным, поскольку при достаточно высоких материальных затратах эти исследования практически не давали положительных результатов.

Например, в 2001 г. в баклаборатории ОПТД г. Пскова было выполнено с целью диагностики 1832 посева мокроты для пациентов из групп риска, но при этом получено только 10 положительных результатов, что составило 0,5%. Кроме того, в 2001 г. в Псковской области было выполнено 5739 диагностических посевов мочи для пациентов из групп риска, при этом выделено 3 культуры, что составило 0,05% от общего количества выполненных анализов.

В Белгородской области в 2001 г. было выполнено 6002 посева мокроты от нетранспортабельных больных, при этом положительные результаты были получены в 6 случаях (высеваемость составила 0,1%). Из 9711 посевов мочи, выполненных с диагностической целью для пациентов из групп риска, было высеяно 7 культур, что составило 0,07%. Таким образом, указанная практика обследования не давала ожидаемого высокого эффекта, но в то же время приводила к чрезмерной перегрузке лабораторий.

Полученные данные позволили сделать вывод о том, что необходимо более тщательно и обоснованно выбирать показания для проведения диагностических культуральных исследований на наличие туберкулезной инфекции, что обеспечит рациональное формирование групп пациентов для обследования. Для нетранспортабельных больных целесообразно заменить исследование мокроты методом посева на трехкратное микроскопическое исследование в лабораториях ОЛС. Однако в случае подозрения диагноза «туберкулез» и наличия соответствующих симптомов, необходимо проводить полноценное обследование пациента в ПТУ. Обследования пациентов с неспецифическими заболеваниями мочеполовой системы методом посева мочи рекомендуется проводить только по назначению врача-фтизиатра при наличии показаний (симптомов туберкулеза).

В связи с вышеизложенным, в курируемых нами экспериментальных регионах мы рекомендовали прекратить проведение нецелесообразных исследований, пересмотрев показания к назначению посевов, а именно: исключить выполнение неинформативных диагностических исследований (в первую очередь – посевов мочи) для лиц, не имеющих симптомы ТБ, а также прекратить практику обследования всех нетранспортабельных больных методом посева мокроты.

Помимо этого, в соответствии с нашими рекомендациями, в курируемых регионах была осуществлена реорганизация работы клиничко-диагностических и бактериологических лабораторий учреждений ПТС, в результате которой все микробиологические исследования по выявлению возбудителя туберкулеза, проводимые в ПТУ, были сосредоточены только в баклаборатории и выполнялись исключительно из осадка одной порции диагностического материала, что

позволило повысить эффективность, а также исключить имевшее место в ряде случаев дублирование исследований.

Также, с учетом наших рекомендаций, в экспериментальных регионах была упорядочена схема проведения микробиологического обследования, подобрана оптимальная кратность и частота выполняемых исследований. Разработанная и представленная в МЗиСР РФ для внесения изменений в Приказ № 109 рациональная схема обследования пациентов с целью диагностики ТБ и больных ТБ с целью контроля х/т исключает выполнение излишних анализов, не дающих дополнительной информации лечащему врачу, позволяя тем самым сократить число выполняемых микробиологических исследований и снизить нагрузку на лабораторию, что, в свою очередь, способствует повышению качества диагностики.

Дальнейшие наблюдения за работой специализированных БЛ ПТУ, проведенные нами в изучаемых территориях РФ, позволили установить, что основными причинами низкой результативности микробиологической диагностики ТБ являлись использование нерегламентированных методов исследования, отсутствие стандартизации и контроля качества работы лабораторий, недостаточно высокая квалификация лабораторного персонала, а также низкий материально-технический уровень лабораторий в целом и недостаточная оснащенность их современным оборудованием и расходными материалами. Помимо этого, отсутствие в большинстве лабораторий необходимого набора помещений, а также недостаток инженерных средств обеспечения биологической безопасности приводили к нарушениям норм санитарно-эпидемического режима.

Для устранения выявленных проблем и поддержания качества выполняемых исследований, в баклабораториях ПТУ опытных регионов был проведен ряд мероприятий, одним из которых являлось адекватное материально-техническое обеспечение лаборатории.

Отсутствие систематизированных стандартных требований к устройству, помещениям и оснащению специализированных БЛ ПТУ, выполняющих диагностику туберкулеза, вызвало необходимость разработать соответствующие специальные рекомендации, при составлении которых были учтены требования отечественных нормативных документов, специфика работы БЛ ПТУ, а также опыт работы зарубежных лабораторий и общепринятые международные стандарты.

В результате нами составлен примерный рекомендуемый перечень рабочих и вспомогательных помещений специализированной БЛ ПТУ, выполняющей весь комплекс микробиологических исследований для диагностики и контроля х/т ТБ, с указанием ориентировочного метража каждого помещения и описанием этих помещений (включая расположение функциональных зон и рабочих мест) и размещаемого в них оборудования и лабораторной мебели. Разработанные требования к устройству и помещениям региональных БЛ ПТС были использованы в практике при проведении реконструкции десяти специализированных БЛ РФ.

Оснащение лабораторий недостающим качественным оборудованием также проводилось в соответствии с нашими рекомендациями, отражавшими современные требования и подходы к оснащению лабораторий, которые заметно отличаются от традиционных представлений, имевших место до начала реализации

в РФ пилотных проектов по борьбе с ТБ.

С учетом вида работ, проводимых в специализированных БЛ ПТС, и требований, предъявляемых к работе с возбудителем ТБ, были разработаны стандартные списки оборудования и расходных материалов для БЛ ПТУ регионального уровня, в которых для каждого вида оборудования указаны рекомендуемые технические характеристики, позволяющие выбрать для оснащения лаборатории оптимальную модель. Рекомендации были составлены с учетом результатов проведенной технической экспертизы различных моделей и типов оборудования, а также на основании детального анализа принципа работы, оснащенности и технических параметров каждого вида оборудования, оценки его качества и рабочих характеристик. Разработанные списки были использованы в практике при оснащении баклабораторий ПТС ряда курируемых регионов РФ.

С целью подготовки высококвалифицированных кадров лабораторных специалистов, в ходе реализации в экспериментальных территориях пилотных проектов проводилось обучение персонала специализированных БЛ ПТС унифицированным методам микробиологических исследований. Для стандартизации подходов к проведению базовых курсов обучения врачей-бактериологов ПТУ были разработаны и утверждены УМО РФ учебные пособия, основным из которых являлось пособие «Культуральные методы диагностики туберкулеза», где помимо описания унифицированных методик изложены также вопросы организации работы в лаборатории, в частности, требования к ее устройству и оснащению.

Одним из важнейших мероприятий являлось внедрение в экспериментальных регионах РФ контроля качества микробиологической диагностики ТБ. Повышению эффективности и качества работы лабораторий в большой степени способствовали регулярные (ежеквартальные) кураторские визиты. В процессе обобщения опыта кураторской работы, нами, совместно с д.б.н. М.В. Шульгиной, были разработаны рекомендации по проведению кураторских визитов в лаборатории различных уровней, включая образцы опросных листов, которые были апробированы в ходе выездов в курируемые экспериментальные регионы.

Для стандартизации процесса ведения в БЛ ПТУ учетно-отчетной документации нами, совместно с другими членами Тематической рабочей группы «Лабораторная диагностика туберкулеза» при Рабочей группе высокого уровня МЗиСР РФ, разработаны единые стандартные учетно-отчетные формы, которые опубликованы в учебном пособии «Культуральные методы диагностики туберкулеза». Эти формы внедрены в работе БЛ ряда экспериментальных регионов и могут быть рекомендованы для использования во всех БЛ ПТУ РФ.

Результатом всех проведенных мероприятий по совершенствованию микробиологической диагностики ТБ явилось заметное улучшение показателей работы баклабораторий экспериментальных регионов по сравнению со среднероссийскими показателями. Анализ динамики удельного веса в/в больных ТБ с положительными результатами микробиологического исследования позволил установить, что в экспериментальных территориях, по мере внедрения разработанных нами рекомендаций, отмечался рост изучаемого показателя (рис. 3).

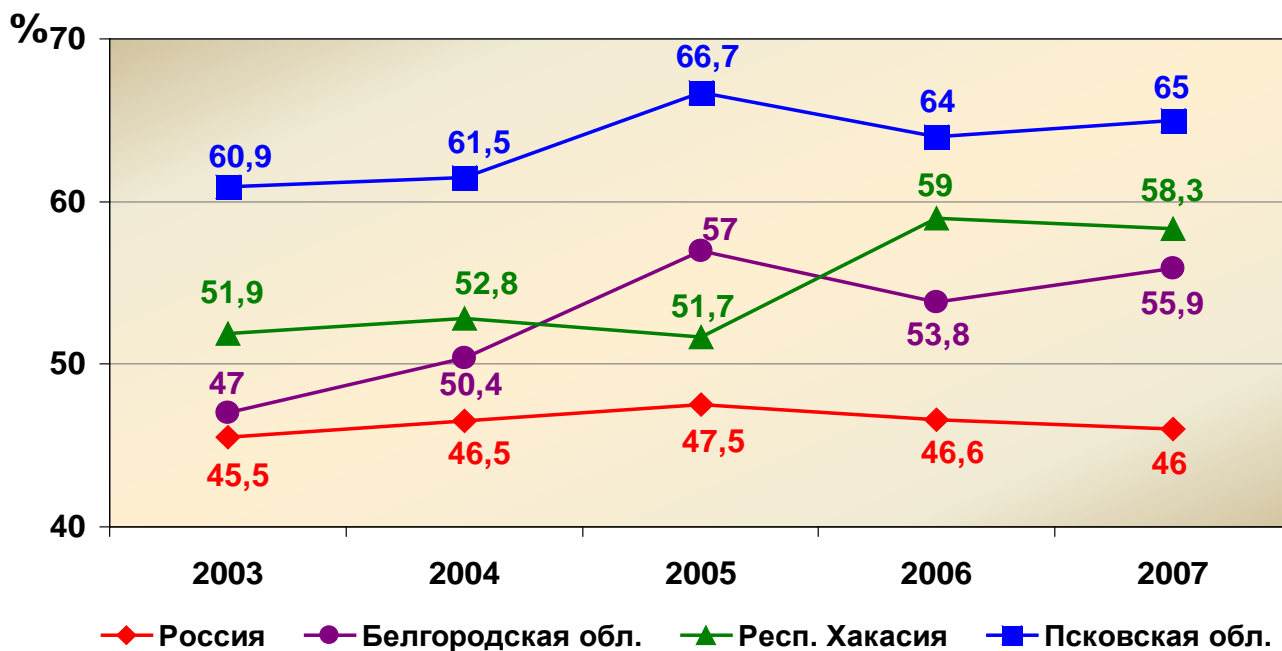
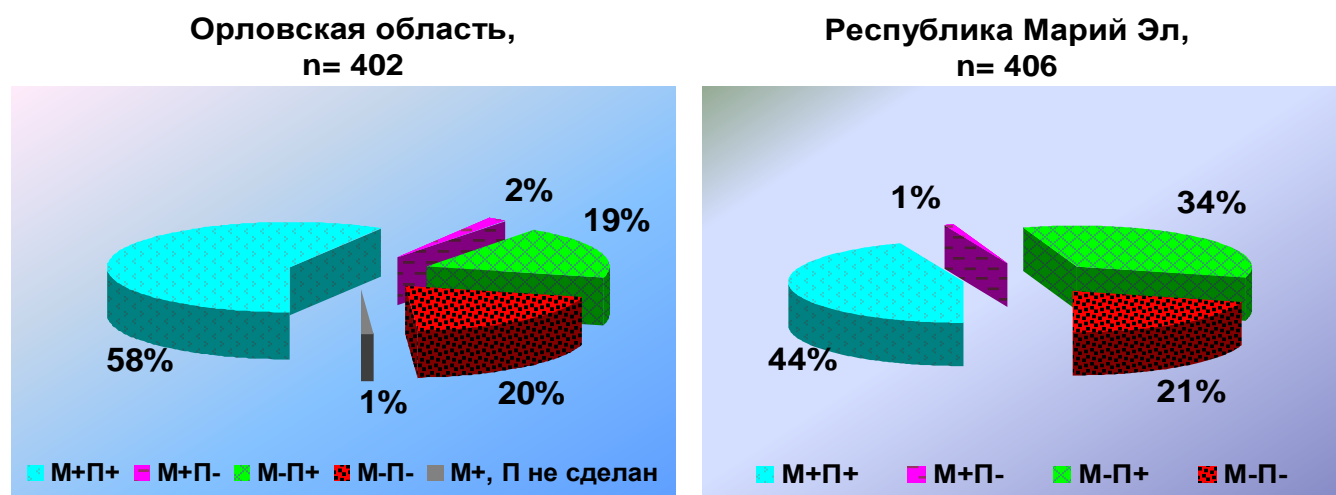


Рис. 3. Динамика доли бактериовыделителей (в %), определенных всеми микробиологическими методами, среди впервые выявленных больных туберкулезом органов дыхания в экспериментальных регионах РФ в 2003-2007 гг.

Примечание: использованы данные статистической отчетной формы № 33.

Наиболее высоких результатов удалось добиться в двух курируемых нами экспериментальных регионах РФ – Орловской области и Республике Марий Эл. Проведенный в этих территориях детальный анализ индикаторов эффективности и качества микробиологической диагностики ТБ, представлявших собой различные варианты сочетаний получаемых результатов исследований, выполненных методами микроскопии и посева, показал, что все оцениваемые индикаторы имели значения, соответствующие международно-принятым величинам (рис. 4).



Условные обозначения индикаторов: n – количество обследованных, M+P+: Микроскопия+ Посев+, M+P-: Микроскопия+ Посев-, M-P+: Микроскопия- Посев+, M-P-: Микроскопия- Посев-, M+, П не сделан: Микроскопия+, Посев не сделан.

Рис. 4. Результаты микробиологической диагностики у в/в больных туберкулезом легких в Орловской области и Республике Марий Эл в 2005 г.

Примечание: данные предоставлены зав. БЛ ОПТД г. Орла Е.С. Немцовой и зав. БЛ РПТД г. Йошкар-Олы Л.В. Петровой.

В условиях напряженной эпидемиологической ситуации по туберкулезу необходимость доступности обследования всех пациентов с симптомами, подозрительными в отношении туберкулеза, требовала, чтобы, основная масса впервые заболевших туберкулезом с бактериовыделением, определяемым методом микроскопии, была выявлена в учреждениях первичной медико-санитарной помощи (ПМСП), преимущественно по обращаемости, а затем направлена в учреждения ПТС. В связи с этим, на начальном этапе реализации пилотных проектов основные усилия были направлены на организацию активного участия медицинских учреждений общего профиля в выявлении бациллярных больных туберкулезом методом Циля-Нильсена, который позволяет в короткие сроки выявить наиболее эпидемически опасную группу больных туберкулезом.

Проведенный нами в экспериментальных регионах РФ анализ эффективности бактериоскопической диагностики КУМ, выполняемой в КДЛ ОЛС, подтвердил большие возможности как метода Циля-Нильсена, так и учреждений ПМСП в целом в выявлении бациллярных больных туберкулезом.

Однако на момент начала внедрения Программы по борьбе с ТБ выявляемость больных-бактериовыделителей с помощью микроскопического исследования мазков, окрашенных методом Циля-Нильсена, была недостаточно высокой. Детальное изучение этой проблемы дало возможность сформулировать несколько основных причин низкой эффективности бактериоскопической диагностики КУМ в КДЛ ОЛС, которые являлись типичными для большинства регионов РФ, а именно: недостаток бинокулярных микроскопов, низкое качество реактивов, нарушения стандартной технологии приготовления и окраски мазков, не соблюдение техники микроскопирования мазка и оценки полученных результатов, ошибки при заполнении отчетно-учетной документации, низкое качество диагностического материала, нарушение кратности обследования, неправильный подбор пациентов для обследования, невысокое количество назначаемых исследований, а также недостаток помещений в лаборатории и нарушение правил техники безопасности.

Наш анализ показал, что причиной недостаточного профессионализма специалистов КДЛ ОЛС в проведении исследования мазков, окрашенных по Цилю-Нильсену, являлось то обстоятельство, что в программу занятий, проводившихся в рамках традиционной регулярной специализации врачей клинической лабораторной диагностики (сертификационные циклы) и лаборантов, не включены в достаточной степени занятия по микробиологическим методам диагностики ТБ.

Отсутствие в РФ единых программ и единой концепции эффективного обучения лабораторных специалистов привело к снижению уровня подготовки персонала и качества микроскопической диагностики КУМ методом Циля-Нильсена. В лабораториях не имелось унифицированных методических рекомендаций по выполнению данного исследования, у персонала отсутствовали соответствующие практические навыки и мотивация к применению стандартных методик. С целью компенсации имевшихся пробелов в наличии методической литературы и курсах повышения квалификации в экспериментальных регионах РФ особое внимание было уделено обеспечению лабораторий методическими

рекомендациями и обучению персонала стандартной методике микроскопического исследования мазков методом Циля-Нильсена, которое проводилось в соответствии с новой, разработанной нами методикой и являлось важнейшей составной частью системы обеспечения качества исследований.

Стандартный курс обучения, проводившийся в ходе реализации пилотных проектов по борьбе с ТБ, предусматривал обучение в течение 5 дней и включал в себя как лекционную часть, так и интенсивные практические занятия. В процессе курса слушатели усваивали на практике унифицированную методику проведения окрашивания мазка по Цилю-Нильсену и последующей его микроскопии, обучались безопасным методам работы с инфицированным материалом, методам планирования расходов для проведения этого исследования и т.д. В основу курса были положены принципы интерактивного обучения, обеспечивающие сотрудничество преподавателя и слушателей и индивидуальный подход к каждому обучающемуся. В соответствии с новыми подходами к обучению, последнее проводилось на регулярной основе, а, кроме того, предусматривалось обязательное отслеживание в дальнейшем результатов проведенного обучения.

Проведенные нами в экспериментальных территориях РФ курсы обучения повысили уровень профессиональной подготовки персонала лабораторий, что, в свою очередь, привело к заметному повышению качества и эффективности работы лабораторий после обучения работающих в них специалистов.

В качестве наиболее показательного можно привести пример Республики Хакасия, где в начале 2003 г., в соответствии с новыми приемами и методиками преподавания, было проведено обучение лабораторных специалистов практически всех крупных лабораторий Республики, что позволило резко улучшить качество выполняемых в них микроскопических исследований. В результате показатель выявляемости бациллярных больных туберкулезом методом Циля-Нильсена в КДЛ ОЛС увеличился в 4,5 раза – с 0,85% в 2002 г. до 3,8% в 2003 г.

В ходе проведения в экспериментальных регионах курсов обучения были отработаны использовавшиеся в процессе преподавания методические приемы и усовершенствованы применявшиеся формы обучения. На основе наработанного опыта, а также с учетом особенностей и условий работы, имеющих в отечественных лабораториях, для РФ разработан специальный стандартный курс обучения «Выявление туберкулеза методом микроскопии», в том числе: программа и содержание курса, требования к проведению курса, методика его преподавания (включая планы и схемы проведения занятий, практические советы и рекомендации для преподавателей), а также учебные пособия, которые утверждены УМО РФ.

В основу разработанного курса положены следующие принципы: интерактивная модель обучения, акцент на практической части обучения и выработка у слушателей уверенных практических навыков проведения исследования с обязательной оценкой достигнутых в процессе обучения результатов с помощью разработанных нами оценочных форм. Учитывая специфику обучающего курса, с целью повышения качества обучения при проведении практических занятий число слушателей в одной группе рекомендуется ограничить до 5-6 человек и обеспечить каждого обучающегося индивидуальным

учебным микроскопом. Важной составной частью курса являются предварительное и заключительное тестирования знаний и навыков слушателей, для проведения которых нами разработаны специальные опросные листы и составлены задания.

Разработанный курс обучения и подготовленные для его проведения учебные материалы были апробированы в ходе реализации в РФ Проекта «Профилактика, диагностика, лечение туберкулеза и СПИДа».

Помимо рекомендаций по обучению персонала, разработаны требования к материально-техническому обеспечению процесса микроскопического исследования для выявления КУМ методом Циля-Нильсена, а именно: систематизированы основные положения, касающиеся устройства и помещения центра микроскопии и составлены стандартные списки оборудования и расходных материалов для его оснащения.

В ходе реализации пилотных проектов лаборатории учреждений ПМСП были обеспечены современным оборудованием, в первую очередь – бинокулярными световыми микроскопами, что, как показал наш анализ, было чрезвычайно важным для эффективной работы лабораторного компонента Программы по борьбе с ТБ и сразу же повысило выявляемость бациллярных больных в этих лабораториях.

Помимо обучения персонала и оснащения КДЛ ОЛС необходимыми для проведения бактериоскопии по Цилю-Нильсену реактивами и микроскопами, в экспериментальных регионах РФ в ходе реализации пилотных проектов был внедрен контроль качества микробиологической диагностики ТБ в КДЛ ОЛС.

Особое значение имели регулярные (ежеквартальные или ежемесячные) инспекторские визиты в лаборатории, осуществлявшиеся подготовленными нами кураторами из центральных баклабораторий ПТС регионов. При проведении этих визитов основное внимание обращалось на использование стандартизованных методов, точность выполнения методик, качество мазков, правильность регистрации анализов и ведения учетно-отчетной документации. Оценка работы лабораторий проводилась с использованием разработанных для этих целей опросных листов, а результаты кураторских визитов отражались в специальных формах оценочных отчетов, стандартные образцы которых были разработаны нами совместно с д.б.н. М.В. Шульгиной и апробированы на практике.

Наши дальнейшие наблюдения показали, что эффективность выявления бациллярных больных туберкулезом методом микроскопического исследования по Цилю-Нильсену в учреждениях ПМСП во многом зависела от соответствующей организации данного вида исследования, в связи с чем, по мере дальнейшего внедрения Программы основное внимание обращалось именно на эту проблему. На опыте работы в курируемых территориях было установлено, что решающее значение в повышении эффективности микроскопической диагностики КУМ имели в первую очередь такие факторы, как целесообразный подбор пациентов для обследования методом микроскопии, соблюдение установленной кратности исследования и обеспечение гарантированного качества собираемого материала.

Наш анализ показал, что необоснованное увеличение количества обследуемых методом микроскопии по Цилю-Нильсену пациентов за счет лиц без симптомов, характерных для ТБ, приводило к низкой доле положительных

результатов среди всех анализов, проводимых с целью диагностики. Следствием этого, несмотря на неоправданное увеличение производственной нагрузки, являлась дисквалификация лабораторных специалистов, а, кроме того, значительно повышалась стоимость выявления одного бациллярного больного. Таким образом, низкий процент выявления больных с положительным мазком среди всех обследованных лиц свидетельствовал о необходимости более целесообразного подбора пациентов для обследования. Кроме того, было выявлено, что результативность микроскопической диагностики КУМ существенно повышалась за счет проведения обязательного трехкратного исследования, а также организации контролируемого сбора качественного диагностического материала.

Внедрение в практику работы экспериментальных регионов указанных рекомендаций являлось важным условием, способствовавшим повышению эффективности микроскопических исследований.

Обязательным условием нормального функционирования Программы по борьбе с ТБ являлась также разработка регламентирующих документов (таких, как технический протокол, приказы местных органов управления и др.), определявших порядок функционирования лабораторной сети в рамках Программы.

В итоге, одним из положительных результатов нашей работы явилось значительное повышение эффективности выявления бациллярных больных туберкулезом в учреждениях ПМСП экспериментальных регионов. В начале реализации пилотных проектов эффективность микроскопической диагностики КУМ в КДЛ ОЛС большинства экспериментальных территорий РФ была низкой и составляла, как правило, не более 0,2% в среднем. Однако в ходе внедрения Программы по борьбе с ТБ и постепенного выполнения разработанных нами рекомендаций по совершенствованию бактериоскопической диагностики ТБ, показатели удельного веса выявляемых больных туберкулезом с положительным мазком от общего числа обследованных в КДЛ ОЛС с диагностической целью пациентов в среднем по каждой экспериментальной территории заметно увеличились и превысили отметку в 1%.

Кроме того, в результате повсеместного широкого внедрения во всех КДЛ ОЛС метода бактериоскопии мазка по Цилю-Нильсену, основная нагрузка по обследованию методом микроскопии пациентов с подозрением на наличие туберкулезной инфекции (составлявшая 80–85% от всех обследованных) была возложена на учреждения ПМСП, что позволило значительно снизить нагрузку лабораторий ПТС.

Следует отметить, что первоначально доля бациллярных больных туберкулезом с положительным мазком, выявляемых в КДЛ ОЛС по месту жительства, от всех зарегистрированных новых случаев туберкулеза с положительным результатом микроскопического исследования мазка практически во всех экспериментальных территориях составляла около 4-5%. Однако за годы работы, проведенной в ходе реализации пилотных проектов по борьбе с ТБ, этот показатель значительно вырос (в отдельных регионах – более, чем в 10 раз) и к 2000 году составил, например, до 30% в Новгородской области и свыше 40% в Орловской области, а в Ивановской области достигал отметки 70%.

Подводя итоги, отметим, что опыт работы в экспериментальных территориях РФ позволил отработать подходы к совершенствованию микробиологической диагностики туберкулеза, как в специализированных ПТУ, так и в учреждениях ОЛС. Установлено, что решающая роль в этом принадлежит следующим факторам: обучение персонала лабораторий, обеспечение лабораторий качественным и отвечающим требованиям методики и техники безопасности оборудованием и реактивами, внедрение унифицированных и утвержденных МЗ РФ методов, регулярная курация подведомственных лабораторий, осуществление внешней оценки качества исследований.

Оценка эффективности и результатов внедрения системы обеспечения качества микробиологических исследований в экспериментальных регионах РФ по сравнению с контрольными регионами

На следующем этапе исследования, по результатам визитов в различные регионы России, выполнявшихся в ходе реализации в РФ в 2004-2008 гг. Проекта «Профилактика, диагностика, лечение туберкулеза и СПИДа», был проведен детальный анализ современного состояния микробиологической диагностики ТБ, который позволил выявить основные проблемы и предложить возможные пути их преодоления, а также разработать конкретные практические рекомендации по дальнейшему совершенствованию в РФ микробиологической диагностики ТБ.

Обобщив результаты выездов экспертов ЦНИИТ в различные регионы РФ, а также результаты своих собственных наблюдений в курируемых территориях, мы отметили в целом неудовлетворительное состояние лабораторной службы РФ по диагностике ТБ на момент начала реализации вышеуказанного Проекта, что было обусловлено, главным образом, недостаточным уровнем финансирования и отсутствием должного внимания к вопросам микробиологической диагностики туберкулеза и нуждам лабораторий.

Наиболее острыми проблемами, характерными как для БЛ ПТУ, так и для КДЛ ОЛС, являлись: неадекватное материально-техническое обеспечение лабораторий, неудовлетворительные условия труда для персонала, отсутствие необходимых средств обеспечения безопасности работ и защиты персонала от инфекции, нарушения правил санитарно-эпидемического режима и требований к работе с инфекционным материалом, недостаток квалифицированных кадров, не соблюдение стандартных методик исследования, отсутствие в полном объеме контроля качества микробиологических исследований, не унифицированная лабораторная документация, дублирование тестов и др.

В итоге было установлено, что вследствие наличия перечисленных выше проблем микробиологическая диагностика ТБ в РФ в целом характеризовалась невысокой эффективностью и качеством исследований, что негативно влияло на надежность и достоверность получаемых результатов. Кроме того, был отмечен высокий уровень профессиональной заболеваемости лабораторного персонала.

Однако имелась существенная разница в состоянии качества диагностики ТБ в лабораториях экспериментальных регионов РФ по сравнению с остальными. Хорошая организация работы лабораторной службы в экспериментальных территориях, повышенное внимание к потребностям лабораторий и обеспечение их

всем необходимым оборудованием и реактивами позволили создать оптимальные условия для их работы, способствующие качественному и эффективному выполнению микробиологических исследований в этих регионах.

Таким образом, проведенный нами в ходе регулярных выездов в различные территории РФ сравнительный анализ деятельности лабораторий показал, что в отличие от большинства регионов РФ, в экспериментальных территориях, участвовавших в реализации пилотных проектов, качество микробиологической диагностики туберкулеза соответствовало предъявляемым к нему требованиям.

Для проведения точного и достоверного анализа качества и эффективности микробиологических исследований, выполняемых с целью выявления, диагностики и контроля х/т туберкулеза, необходимо использовать определенные критерии, позволяющие обоснованно оценить результаты работы лабораторий ОЛС и ПТС. Однако в РФ вплоть до настоящего времени не определены оптимальные стандартные показатели, пригодные для практического использования их в качестве индикаторов, наглядно и всесторонне характеризующих деятельность лабораторий по диагностике туберкулеза.

В связи с этим нами проведен анализ основных имеющихся индикаторов работы лабораторной службы по диагностике туберкулеза, включая показатели, широко используемые в международной практике, и показатели традиционной Российской статистики по ТБ. В результате, из всего многообразия существующих индикаторов отобраны несколько оптимальных критериев оценки работы КДЛ ОЛС и БЛ ПТС, которые наиболее удобны в использовании. Эти индикаторы легко вычисляются и, вместе с тем, они лаконично, точно и надежно характеризуют эффективность микробиологической диагностики туберкулеза и всей Программы по борьбе с ТБ в целом. Определены рекомендуемые уровни этих показателей, которые должны быть достигнуты качественно работающими лабораториями при наличии правильно функционирующей Программы по борьбе с ТБ.

С использованием разработанных критериев нами была проведена оценка эффективности и результатов внедрения в экспериментальных регионах РФ системы обеспечения качества микробиологических исследований.

На первом этапе оценки был выполнен сравнительный анализ показателей эффективности микроскопических исследований в КДЛ ОЛС экспериментальных регионов РФ, участвовавших в реализации пилотных проектов по борьбе с ТБ, и контрольных регионов, в которых Программа по борьбе с ТБ не внедрялась.

В таблице 6 представлены результаты бактериоскопической диагностики КУМ, выполненной в лабораториях ОЛС и ПТС в 2002-2003 гг. в 15 регионах, входящих в зону курации ЦНИИТ, из которых следует, что эффективность выявления КУМ в КДЛ ОЛС экспериментальных регионов РФ была значительно выше, чем в остальных (контрольных) регионах. Дальнейший сравнительный анализ результатов работы КДЛ ОЛС опытных и контрольных регионов за 2005-2007 гг. подтвердил, что в экспериментальных территориях РФ показатели удельного веса выявляемых больных туберкулезом с положительными результатами микроскопии мазка от общего числа обследованных в КДЛ ОЛС с целью диагностики пациентов с подозрением на туберкулезную инфекцию

существенно превосходили аналогичные показатели в контрольных регионах и достигали значений, стабильно превышавших 1% уровень (рис. 5).

Таблица 6

Эффективность работы лабораторий общей лечебной сети и противотуберкулезной службы по выявлению больных туберкулезом методом микроскопии в 2002-2003 гг. в регионах зоны курации ЦНИИТ РАМН

Регион	Доля лиц с положительным мазком ко всем обследованным, %			
	Общая лечебная сеть		Противотуберкулезная служба	
	2002 г.	2003 г.	2002 г.	2003 г.
Орловская область	1,0	1,0	14,3	13,9
Владимирская область	1,0	1,1	6,0	5,7
Ивановская область	1,1	1,3	10,0	3,8
Республика Марий Эл	0,7	0,6	11,2	10,1
Нижегородская область	0,07	0,09	12,9	11,2
Пензенская область	0,4	0,3	9,7	10,3
Ульяновская область	0,1	0,1	8,2	9,4
Саратовская область	0,3	0,4	7,4	8,4
Астраханская область	0,4	0,4	19,3	19,3
Республика Татарстан	0,06	0,06	9,0	9,0
Республика Мордовия	0,1	0,3	8,0	9,0
Республика Калмыкия	0	0	6,9	2,0
Республика Дагестан	0,03	0,003	50,4	41,4
Республика Ингушетия	0,4	1,2	41,9	31,6
Чеченская Республика	0,2	0,2	24,1	23,6

Примечание: данные предоставлены оргметодотделами центральных ПТД регионов (названия экспериментальных территорий выделены жирным шрифтом).

Оценка показателей удельного веса больных ТБ с положительным мазком, выявленных в КДЛ ОЛС по месту жительства, от всех зарегистрированных новых случаев ТБ с положительным мазком для нескольких опытных регионов РФ в сравнении с контрольными позволила установить наличие значительной разницы между уровнем изучаемого индикатора в различных территориях РФ (рис. 6). В отличие от контрольных, в экспериментальных регионах РФ учреждения ПМСП принимали активное участие в диагностике КУМ методом Циля-Нильсена, выявляя большую часть бациллярных больных туберкулезом (более 50% от общего числа бактериовыделителей, определяемых методом микроскопии).

Таким образом, внедрение в экспериментальных регионах РФ комплекса разработанных мероприятий по совершенствованию бактериоскопической диагностики КУМ в КДЛ ОЛС позволило существенно улучшить качество и повысить эффективность микроскопических исследований методом Циля-Нильсена в учреждениях ПМСП опытных регионов по сравнению с контрольными.

На втором этапе исследования была проведена оценка показателей работы специализированных БЛ ПТС экспериментальных и контрольных регионов РФ, курируемых ЦНИИТ РАМН, в сравнении со среднероссийскими показателями.

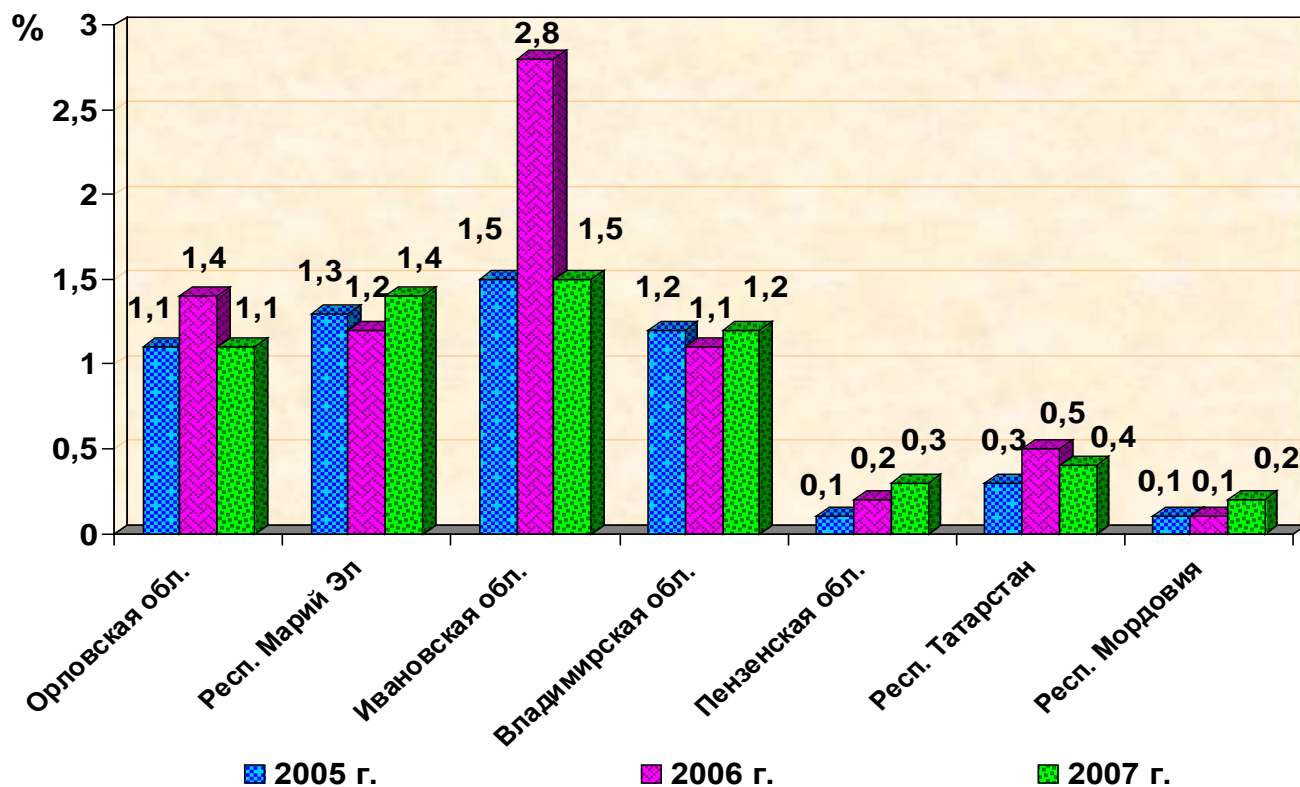


Рис. 5. Динамика удельного веса выявленных методом микроскопии бактериовыделителей от общего числа обследованных в КДЛ ОЛС пациентов в экспериментальных (Орловская обл., Республика Марий Эл, Ивановская обл., Владимирская обл.) и контрольных (Пензенская обл., Республики Татарстан, Мордовия) регионах РФ в 2005-2007 гг.

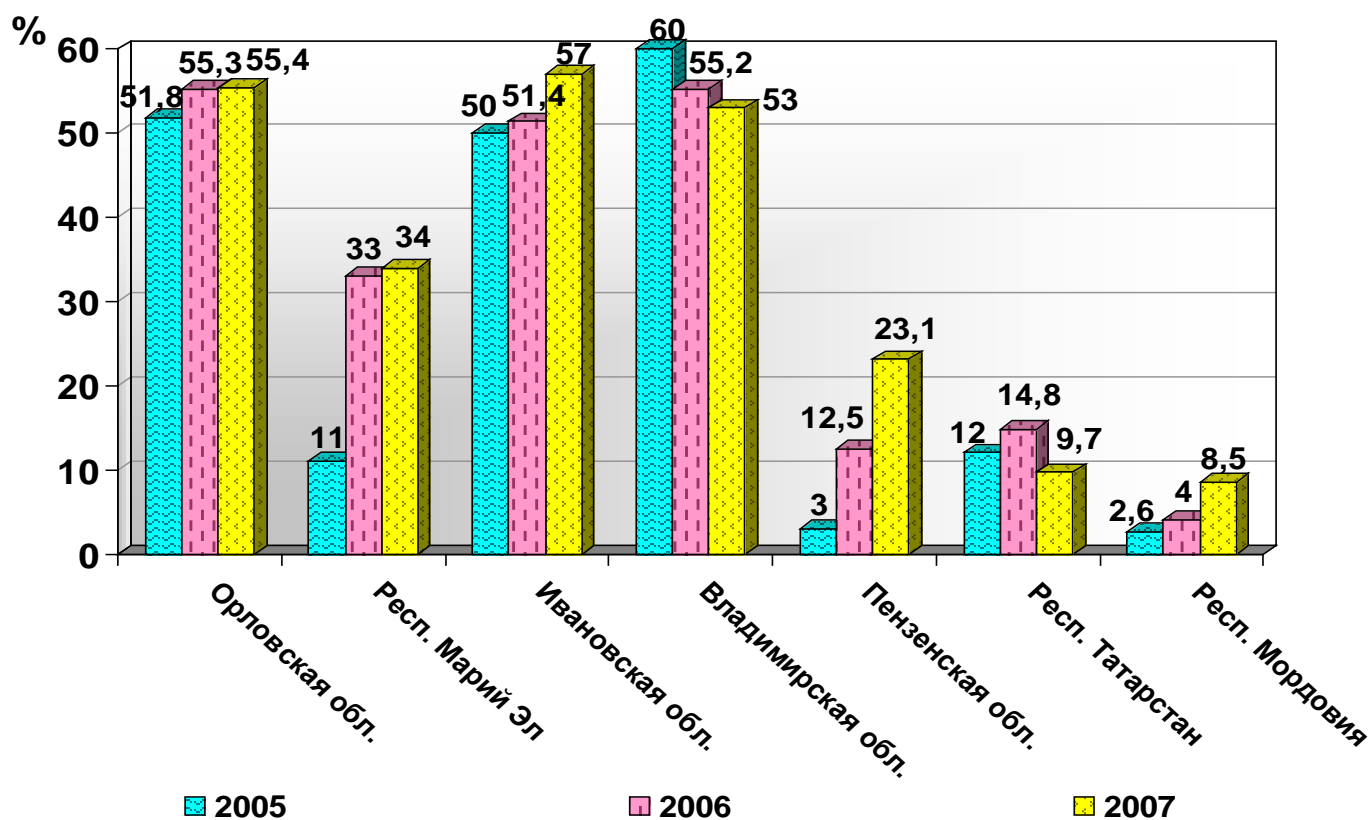


Рис. 6. Динамика удельного веса новых случаев туберкулеза с положительным мазком, выявленных в КДЛ ОЛС экспериментальных (Орловская обл., Республика Марий Эл, Ивановская обл., Владимирская обл.) и контрольных (Пензенская обл., Республики Татарстан, Мордовия) регионов РФ в 2005-2007 гг.

Анализ показателей удельного веса в/в больных с положительными результатами микроскопии и посева среди всех в/в больных туберкулезом легких за 2005 г., проведенный в десяти регионах РФ, курируемых ЦНИИТ, позволил сделать вывод о том, что оцениваемые индикаторы являлись высокими только в экспериментальных регионах, где внедрялась система обеспечения качества микробиологических исследований (Владимирская, Ивановская, Орловская области, Республика Марий Эл). В остальных (контрольных) территориях изучаемые показатели были значительно ниже, что свидетельствовало о недостаточном качестве лабораторной диагностики (рис. 7).

Отметим, что в 2005 г. среди четырех экспериментальных регионов наиболее высокие показатели выявления бактериовыделителей методом посева, значительно превышающие среднероссийский уровень, составлявший 47%, были отмечены в двух территориях – Республике Марий Эл (78,4%) и Орловской области (77,4%).

Аналогичные тенденции наблюдались в 2006-2007 гг. (рис. 8-9). В частности, в 2006 г. в Орловской области были зарегистрированы одни из наиболее высоких в РФ показателей выявления бациллярных больных туберкулезом легких методами микроскопии (67,1%) и посева (83,4%), которые практически в 2 раза превышали среднероссийские уровни, составлявшие, соответственно, 33,7% и 44,4%. В Республике Марий Эл и Ивановской области изучаемые индикаторы были несколько ниже, чем в Орловской области, но, тем не менее, в отличие от контрольных регионов, находились на достаточно высоком уровне, удовлетворяющем разработанным нами требованиям.

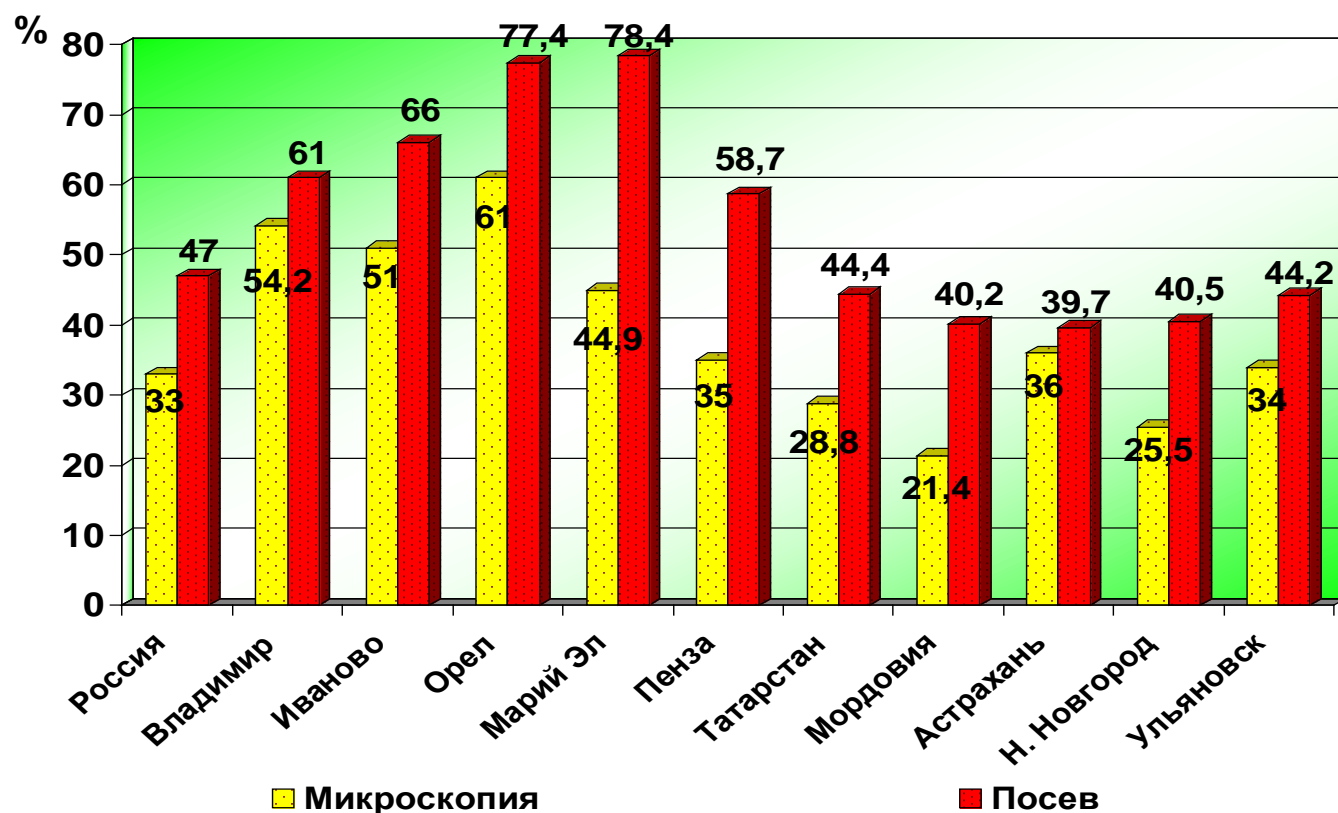


Рис. 7. Удельный вес бактериовыделителей, определенных методами микроскопии и посева, среди впервые выявленных больных туберкулезом легких в экспериментальных и контрольных регионах РФ в 2005 г.

Примечание: использованы данные статистической отчетной формы № 7-ТБ.

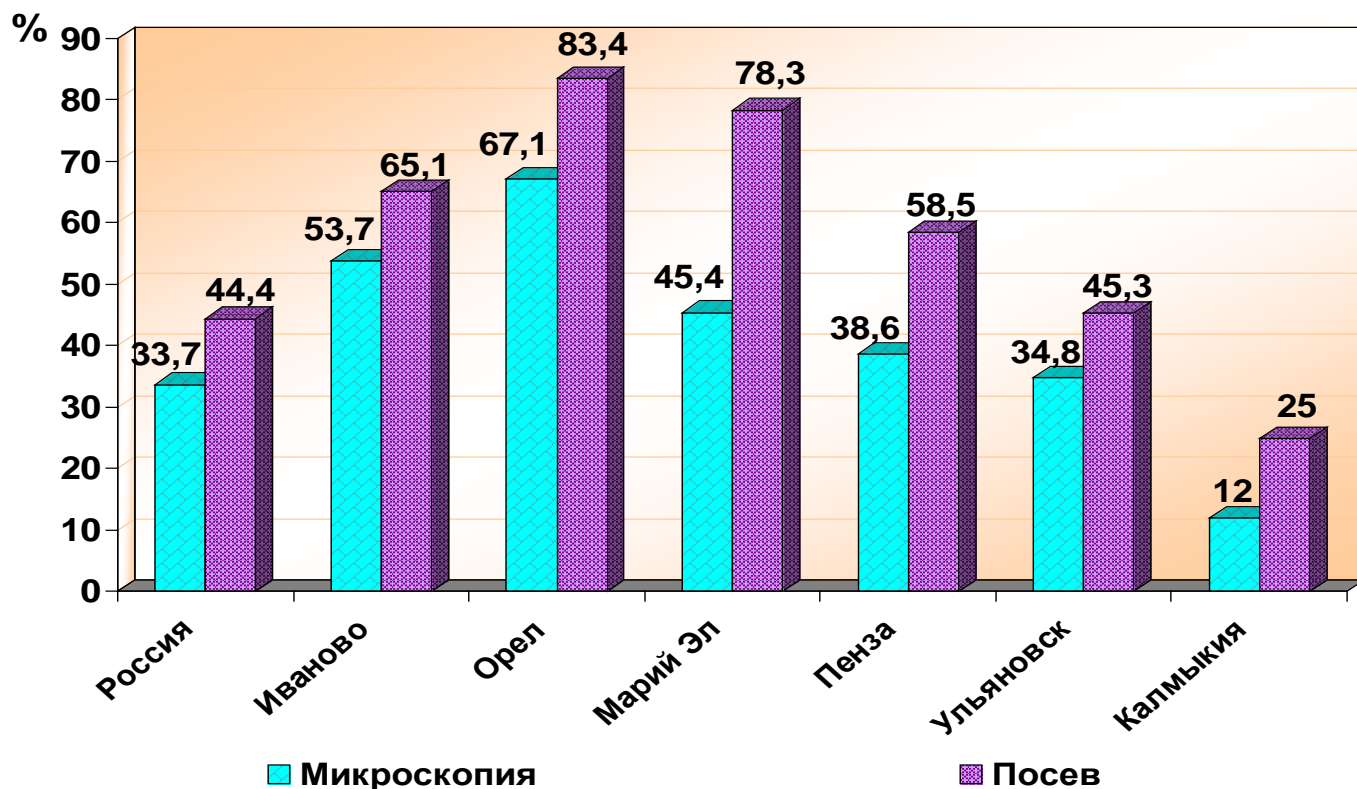


Рис. 8. Удельный вес бактериовыделителей, определенных методами микроскопии и посева, среди впервые выявленных больных туберкулезом легких в экспериментальных и контрольных регионах РФ в 2006 г.

Примечание: использованы данные статистической отчетной формы № 7-ТБ.

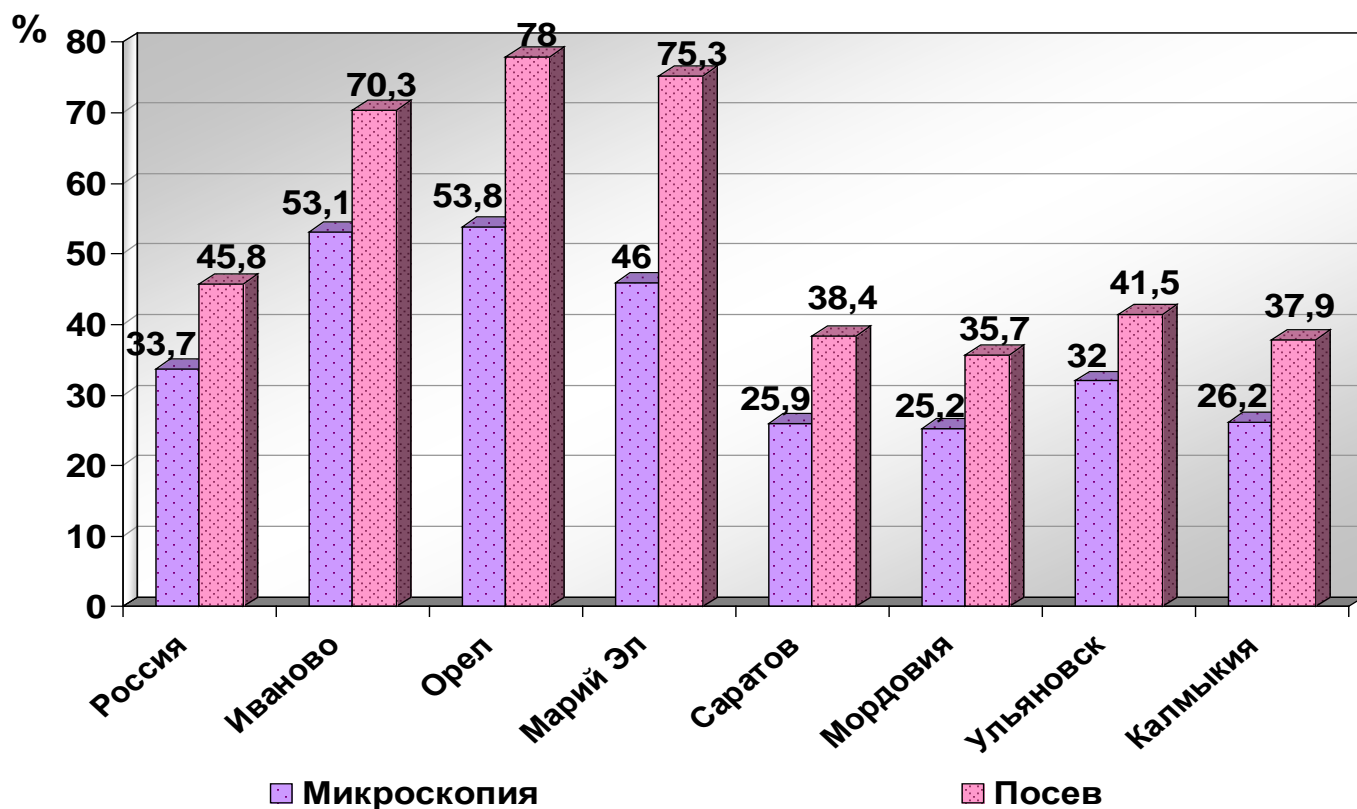


Рис. 9. Удельный вес бактериовыделителей, определенных методами микроскопии и посева, среди впервые выявленных больных туберкулезом легких в экспериментальных и контрольных регионах РФ в 2007 г.

Примечание: использованы данные статистической отчетной формы № 7-ТБ.

С целью максимальной оценки показателей работы специализированной бактериологической противотуберкулезной службы изучена динамика удельного веса бактериовыделителей, определенных всеми микробиологическими методами, среди в/в больных туберкулезом органов дыхания в 2003-2007 гг. в 14 регионах, входящих в зону курации ЦНИИТ РАМН, в сравнении со среднероссийскими показателями (по данным отчетной формы № 33).

Анализ полученных результатов позволил сделать заключение о том, что в экспериментальных регионах РФ (Орловская, Ивановская, Владимирская области, Республики Марий Эл, Ингушетия) показатели удельного веса бактериовыделителей значительно превышали среднероссийский уровень, причем в наибольшей степени это было характерно для таких территорий, как Орловская область и Республика Марий Эл. Например, в Орловской области среднее значение показателя за пять исследуемых лет составило 77,4%, а в Республике Марий Эл – 75%, что было соответственно в 1,7 раз и в 1,6 раз выше среднего показателя за пять лет для РФ, который составил 46,4%.

В то же время в контрольных регионах показатели удельного веса бактериовыделителей регистрировались на уровне среднероссийского или ниже.

Таким образом, в результате проведенных исследований установлено, что в экспериментальных регионах, где были внедрены практически все элементы системы обеспечения качества исследований, уровни показателей, оценивающих эффективность и качество микробиологической диагностики ТБ, соответствовали требованиям международных стандартов, либо приближались к ним, значительно превышая при этом аналогичные показатели в остальных регионах РФ. Исходя из этого, был сделан вывод о том, что использование накопленного позитивного опыта экспериментальных территорий в лабораторной практике всех регионов РФ позволит улучшить микробиологическую диагностику туберкулеза в РФ в целом.

В ходе реализации в РФ Проекта «Профилактика, диагностика, лечение туберкулеза и СПИДа» были проведены мероприятия, способствовавшие решению некоторых из выявленных проблем лабораторной службы страны по микробиологической диагностике туберкулеза. В частности, практически во всех регионах РФ в рамках выполнения указанного Проекта лаборатории оснащались современным оборудованием и обеспечивались необходимыми расходными материалами и реактивами, проводилось обучение персонала, внедрялся контроль качества исследований, осуществлялись регулярные кураторские визиты. Тем не менее, реализация данного Проекта, из-за ограниченности имевшихся финансовых средств, не позволила полностью разрешить все имевшиеся проблемы, в связи с чем, многие из них остаются актуальными вплоть до настоящего времени и требуют скорейшего решения.

В заключение подчеркнем, что поскольку лабораторный компонент Программы по борьбе с ТБ, внедрявшейся в экспериментальных территориях, показал свою эффективность при реализации его в пилотных проектах, в настоящее время обобщенный нами положительный опыт работы, имеющийся в передовых территориях, и разработанные на его основе рекомендации по совершенствованию микробиологической диагностики ТБ применяются в других регионах РФ.

Выводы

1. Стандартизованы методы микроскопического выявления кислотоустойчивых микобактерий. Модифицирована техника просмотра препаратов методом люминесцентной микроскопии и процедура оценки полученных результатов, что позволяет достоверно сравнивать результаты различных методов микроскопического исследования.

2. Анализ результатов выявления *M. tuberculosis* и тестирования лекарственной чувствительности возбудителя в зависимости от используемой питательной среды Левенштейна-Йенсена показал, что по сравнению с нативной, на лиофилизированной среде наблюдалось значительное снижение массивности роста культур, что не позволило выявить полный спектр резистентности у 47,5% исследованных лекарственно-устойчивых штаммов *M. tuberculosis*.

3. Для быстрой и точной детекции лекарственно-устойчивых штаммов *M. tuberculosis* в качестве альтернативы автоматизированным методам предложен нитратредуктазный метод, который является простым в исполнении, не требует дополнительного оборудования и дорогостоящих реагентов и позволяет сократить сроки проведения анализа. Совпадение результатов тестирования лекарственной чувствительности 1520 штаммов *M. tuberculosis* традиционным методом абсолютных концентраций и ускоренным нитратредуктазным методом на среде Левенштейна-Йенсена составило 96,6%.

4. Установлено, что штаммы *M. tuberculosis* с множественной лекарственной устойчивостью характеризуются различными степенями вирулентности и лекарственной резистентности, а также различной скоростью роста. Определено, что вирулентность штаммов с МЛУ имеет большой диапазон и находится в прямой зависимости от скорости размножения их клеток: некоторые штаммы с МЛУ по скорости роста не уступают высоковирулентным чувствительным культурам, в то время как скорость роста ряда других штаммов с МЛУ сравнима со скоростью роста слабовирулентных культур. Выявлено, что такие характеристики как процент устойчивых клеток в популяции, спектр и степень устойчивости к противотуберкулезным препаратам не определяют вирулентные свойства микобактериальной популяции.

5. Выявлено, что основными причинами неправильного определения лекарственной чувствительности *M. tuberculosis* в рутинной лабораторной практике, устранение которых обеспечивает получение достоверных результатов тестирования, являются ошибки при приготовлении питательных сред, разведений противотуберкулезных препаратов и микобактериальных суспензий. Мониторинг лекарственной устойчивости *M. tuberculosis*, проведенный в 2000-2007 гг. в лабораториях экспериментальных регионов РФ, исправивших выявленные ошибки и достигших удовлетворительных результатов внешней оценки качества исследований, показал значительную распространенность первичной ЛУ МБТ, которая составляла: в Орловской области – 26,2% в 2000 г., 26,8% в 2006 г. и 23,6% в 2007 г.; в Республике Марий Эл – 26,7% в 2000г., 31,5% в 2006г. и 26,4% в 2007г.

6. Изучение динамики множественной лекарственной устойчивости *M. tuberculosis* выявило, что показатели МЛУ МБТ являлись высокими и, несмотря на

имевшиеся колебания, наблюдалась тенденция к постепенному нарастанию их уровня. В РФ показатель первичной МЛУ МБТ увеличился с 7,1% в 2000 г. до 9,8% в 2007 г. В экспериментальных регионах, располагающих достоверной информацией о распространении МЛУ, в период с 2000 по 2007 гг. был отмечен некоторый незначительный рост первичной МЛУ МБТ: в Орловской области с 5,7% до 6,8%, в Республике Марий Эл – с 10,2% до 11,2%.

7. Анализ деятельности лабораторий, выполняющих микробиологическую диагностику туберкулеза, выявил имевшее место дублирование анализов и дробление диагностического материала, а также наличие нецелесообразных и малоинформативных исследований. Установлено, что массовые посеы мочи при профилактических диагностических обследованиях для пациентов из групп риска являются нерациональными и экономически неэффективными: в 2001 г. высеваемость *M. tuberculosis* при их проведении составила 0,05% в Псковской области и 0,07% в Белгородской области. Для устранения выявленных проблем разработана рациональная схема обследования пациентов, предложена оптимальная модель единой лабораторной сети, конкретизированы функции лабораторий различных уровней, а также обоснована необходимость проведения централизации исследований и показана ее эффективность на примере экспериментальных регионов РФ.

8. Систематизированы основные требования к материально - техническому обеспечению процессов микробиологических исследований для выявления, диагностики и контроля химиотерапии туберкулеза. Разработаны рекомендации по оптимальному устройству и оснащению центров микроскопии и специализированных бактериологических лабораторий противотуберкулезных учреждений, в том числе – стандартные списки оборудования и расходных материалов. Составлен примерный перечень рабочих и вспомогательных помещений специализированной лаборатории, определен их ориентировочный метраж, представлено описание помещений и размещаемого в них оборудования.

9. Разработан и апробирован стандартный курс обучения «Выявление туберкулеза методом микроскопии», в том числе: программа и содержание курса, методика его преподавания, требования к проведению курса, учебные пособия. Показано, что обучение, проведенное в Республике Хакасия в соответствии с разработанной методикой, способствовало повышению эффективности исследований методом Циля-Нильсена в 4,5 раза – с 0,85% в 2002 г. до 3,8% в 2003 г. Подготовлены учебные пособия для проведения базового курса обучения «Культуральные методы диагностики туберкулеза» для врачей-бактериологов противотуберкулезной службы.

10. Определены оптимальные критерии оценки качества и эффективности микробиологической диагностики туберкулеза, и с их использованием проведен анализ работы лабораторий опытных регионов РФ в сравнении с контрольными. Установлено, что в экспериментальных регионах, внедривших систему обеспечения качества исследований, показатели работы бактериологических лабораторий противотуберкулезной службы значительно выше, чем в контрольных регионах. В 2006 г. среди впервые выявленных больных туберкулезом легких

удельный вес бактериовыделителей, определенных методами микроскопии и посева, составил: в Орловской области – 67,1% и 83,4% соответственно, в Республике Марий Эл – 45,4% и 78,3%, в среднем в РФ – 33,7% и 44,4%. В 2007 г. аналогичные показатели составили: в Орловской области – 53,8% и 78%, в Республике Марий Эл – 46% и 75,3%, в среднем в РФ – 33,7% и 45,8%.

11. Изучено влияние различных факторов и разработаны способы повышения эффективности и качества бактериоскопической диагностики кислотоустойчивых микобактерий в учреждениях общей лечебной сети. В 2006-2007 гг. в экспериментальных регионах РФ, применивших разработанные рекомендации, общая лечебная сеть выявила свыше 50% больных туберкулезом с положительным мазком, а доля выявляемых бактериовыделителей от общего числа обследованных в КДЛ ОЛС пациентов составила: в Орловской области – 1,4% и 1,1% соответственно, в Республике Марий Эл – 1,2% и 1,4%, в Ивановской области – 2,8% и 1,5%, во Владимирской области – 1,1% и 1,2%. В контрольных регионах эти показатели были значительно ниже: в Пензенской области – 0,2% и 0,3%, в Республике Татарстан – 0,5% и 0,4%, в Республике Мордовия – 0,1% и 0,2%.

12. Совершенствование микробиологической диагностики туберкулеза, проведенное в специализированных баклабораториях противотуберкулезных учреждений и в клиничко-диагностических лабораториях общей лечебной сети экспериментальных территорий РФ, позволило установить, что для улучшения качества и повышения эффективности работы лабораторий решающее значение имеют такие факторы, как обучение персонала лабораторий, обеспечение лабораторий качественным и отвечающим требованиям методики и техники безопасности оборудованием и реактивами, внедрение в практику работы унифицированных методов исследования, регулярная курация лабораторий, осуществление внешней оценки качества исследований.

Практические рекомендации

1. Для рационального использования имеющихся ресурсов необходимо провести реорганизацию структуры лабораторной сети РФ по микробиологической диагностике ТБ с созданием единой сети лабораторий различной ведомственной подчиненности и оптимизацией выполняемых лабораториями функций.

2. Наличие в РФ сети референс-лабораторий по микробиологической диагностике туберкулеза будет способствовать повышению качества проводимых исследований. С этой целью рекомендуется осуществить официальную аккредитацию ведущих профильных баклабораторий РФ в качестве референс-лабораторий, что предусматривает проведение в этих лабораториях ряда разработанных организационных мероприятий, которые позволят им соответствовать статусу референс-лабораторий.

3. Для максимальной стандартизации лабораторных исследований и обеспечения достоверности получаемых результатов оправдана практика централизации микробиологических исследований по диагностике и контролю химиотерапии ТБ, в том числе – централизация микроскопических исследований методом Циля-Нильсена путем создания центров микроскопии с необходимой административной и финансовой поддержкой на региональном уровне.

4. Необходимо прекратить выполнение лабораториями нецелесообразных, малоинформативных и экономически неэффективных культуральных исследований, проводимых с диагностической целью при профилактических обследованиях для пациентов из групп риска, а также исключить практику дублирования анализов и дробления диагностического материала. Целесообразно использование разработанной схемы обследования для диагностики и контроля химиотерапии туберкулеза.

5. В лабораториях, не соответствующих современным требованиям, необходимо провести реконструкцию с соблюдением всех существующих Санитарных правил и Строительных норм и с учетом разработанных рекомендаций, а также оснастить лаборатории современным оборудованием для создания безопасных и эффективных условий работы, используя для этой цели составленные стандартные списки оборудования.

6. Необходимо на постоянной основе проводить регулярную профессиональную переподготовку лабораторных специалистов в соответствии с разработанными требованиями и подходами к обучению и с использованием составленных стандартных программ, подготовленных единых учебных пособий и методических материалов.

7. Необходимо проводить регулярные мероприятия по надзору за лабораториями, выполняющими микробиологическую диагностику туберкулеза, включая кураторские визиты, реанализ образцов, участие в ФСВОК и т.д. В штатное расписание курирующих лабораторий целесообразно ввести ставки кураторов нижестоящих лабораторий, предусмотрев наличие официального статуса у кураторов лабораторной службы и наделив их соответствующими полномочиями. Рекомендуется использование разработанных опросных листов для кураторских визитов, а также разработанных форм оценочных отчетов о работе лаборатории.

8. С целью стандартизации и повышения качества микробиологических исследований необходимо использовать в рутинной лабораторной практике разработанные Руководства и учебные материалы, содержащие расширенное описание всех современных унифицированных методик, применяемых в настоящее время, а также обеспечить совершенствование проводимых мероприятий по контролю качества исследований.

9. Следует внедрить в лабораторную практику рациональную, стандартизованную систему документирования, включая разработанные единые учетно-отчетные формы для баклабораторий противотуберкулезной службы, что обеспечит адекватную статистическую отчетность и анализ результатов лабораторных исследований.

10. Для прогнозирования эпидемиологической ситуации по туберкулезу и осуществления контроля за распространением лекарственно-устойчивого ТБ рекомендуется организовать проведение в РФ регулярного мониторинга бактериологических показателей по диагностике туберкулеза, в том числе – мониторинг лекарственной устойчивости *M. tuberculosis*, основными условиями проведения которого являются использование лабораториями стандартизованных унифицированных методик и контроль качества их выполнения.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Корнеев, А.А. Влияние состава питательных сред на результаты определения лекарственной устойчивости *M. tuberculosis* / Корнеев А.А., Гольшевская В.И., Севастьянова Э.В., Гришина Т.Д., Сафонова С.Г., Пузанов В.А. // Проблемы туберкулеза. Приложение : сборник-резюме III (XIII) съезда научно-медицинской ассоциации фтизиатров (Екатеринбург). – 1997. – С. 97. – № 346.

2. Korneev, A.A. Comparative study of different methods of detecting drug resistance spectrum of *M. tuberculosis* / Korneev A.A., Golyshetskaya V.I., Sevastyanova E.V., Puzanov V.A., Safonova S.G., Grishina T.D. // 5-th Scientific meeting European Society of Chemotherapy Infectious Diseases : Program-Abstracts. – St.-Petersburg, 1997. – P. 93. – № P062.

3. Корнеев, А.А. Факторы, влияющие на результаты определения лекарственной устойчивости *M. tuberculosis* / Корнеев А.А., Гольшевская В.И., Севастьянова Э.В., Пузанов В.А., Сафонова С.Г., Гришина Т.Д., Катулина Н.И., Роменский А.А. // Congresul IV al igienistilor, epidemiologilor, microbiologilor si parazitologilor din Republica Moldova : Teze. – Кишинев, 1997. – Vol. 2 (b). – P. 118-119.

4. Korneev, A.A. Drug resistance monitoring of clinical isolates of *M. tuberculosis* / Korneev A.A., Sevastyanova E.V., Puzanov V.A., Romensky A.A. // XVIII Congress of the European Society of Mycobacteriology : Abstracts. – Cordoba, Spain, 1997. – P. 393.

5. Севастьянова, Э.В. Сравнительная эффективность выявления *M. tuberculosis* в диагностическом материале с использованием традиционных и современных методов лабораторной диагностики / Севастьянова Э.В., Ларионова Е.Е., Черноусова Л.Н., Гольшевская В.И. // Иммунодиагностика и иммунореабилитация при лепре, туберкулезе и других хронических заболеваниях : материалы юбилейной научно-практической конференции, посвященной 75-летию государственной противолепрозной службы и 50-летию научно-исследовательского института по изучению лепры. – Астрахань, 1998. – С. 3-5.

6. Гольшевская, В.И. Сравнение методов лабораторной диагностики лекарственной устойчивости микобактерий туберкулеза / В.И. Гольшевская, Э.В. Севастьянова, Ю.В. Масленникова, В.А. Пузанов, А.А. Корнеев // Материалы международной конференции по контролю за туберкулезом и V съезда фтизиатров Республики Казахстан. – Алматы, 1998. – С. 125.

7. Korneev, A. Study of growth properties of multi-drug resistant strains of *M. tuberculosis* / A. Korneev, V. Golyshetskaya, E. Sevastyanova, S. Safonova, V. Puzanov, G. Voronina // Eur. Respir. J. : Abstracts ERS Annual Congress, Geneva, Switzerland, September 19-23, 1998. – 1998. – Vol. 12. – Suppl. 28. – P. 369s-370s. – № P2436.

8. Golyshetskaya, V.I. Comparative evaluation of methods for laboratory diagnosis of antituberculosis drug resistance / V.I. Golyshetskaya, A.A. Korneev, V.A. Puzanov, E.V. Sevastyanova, M.V. Shulgina // The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease : Abstract book Global Congress on Lung Health 29th World Conference of the International Union Against Tuberculosis and Lung Disease IUATLD/UICTMR, Bangkok, Thailand, 23-26 November, 1998. – 1998. – Vol. 2. – N. 11. – Suppl. 2. – P. S288. – № 66-PC.

9. Корнеев, А.А. Биологические свойства лабораторных штаммов и клинических изолятов микобактерий, полирезистентных к противотуберкулезным препаратам / А.А. Корнеев, В.И. Гольшевская, Э.В. Севастьянова, С.Г. Сафонова, В.А. Пузанов // Проблемы туберкулеза. – 1999. – № 2. – С. 44-47.

10. Корнеев, А.А. Использование нативной и лиофилизированной сред Левенштейна-Йенсена для определения лекарственной устойчивости *Mycobacterium tuberculosis* / А.А. Корнеев, В.И. Гольшевская, Э.В. Севастьянова, С.Г. Сафонова, В.А. Пузанов, Ю.В. Масленникова, Н.И. Катулина, М.Б. Стоюнин // Проблемы

туберкулеза. – 1999. – № 4. – С. 25-27.

11. Гольшевская, В.И. Микробиологические методы диагностики туберкулеза / В.И. Гольшевская, Э.В. Севастьянова // Медицинская сестра. – 1999. – № 6. – С. 9-10.

12. Сафонова, С.Г. Использование различных вариантов среды Левенштейна-Йенсена для определения лекарственной резистентности *M. tuberculosis* / Сафонова С.Г., Гольшевская В.И., Севастьянова Э.В., Васильев М.И., Петрова Л.В., Павлова В.Е., Мишустин С.П., Минеев С.И. // Материалы IV (XIV) съезда научно-медицинской ассоциации фтизиатров. – Йошкар-Ола, 1999. – С. 218.

13. Севастьянова, Э.В. Определение лекарственной устойчивости *M. tuberculosis* традиционными и современными методами / Севастьянова Э.В., Гольшевская В.И., Сафонова С.Г., Масленникова Ю.В. // Материалы IV (XIV) съезда научно-медицинской ассоциации фтизиатров. – Йошкар-Ола, 1999. – С. 218.

14. Севастьянова, Э.В. Эффективность выявления *M. tuberculosis* в диагностическом материале с использованием традиционных и современных методов лабораторной диагностики / Севастьянова Э.В., Ларионова Е.Е., Масленникова Ю.В., Коваленко О.О., Гольшевская В.И. // Сборник резюме 9 национального конгресса по болезням органов дыхания. – М., 1999. – С. 122.

15. Гольшевская, В.И. Бактериологические аспекты полирезистентного туберкулеза / Гольшевская В.И., Сафонова С.Г., Пузанов В.А., Севастьянова Э.В., Шульгина М.В., Павлова В.Е., Петрова Л.В., Катулина Н.И., Блинова Л.Н., Мишустин С.П., Васильев М.И., Шарабурова О.Е. // Современная фтизиатрия и проблемы туберкулеза XXI века : сборник тезисов докладов юбилейной научно-практической конференции фтизиатров с международным участием. – Томск, 1999. – С. 57-58.

16. Golyshevskaya, V. Drug-resistance testing using the BACTEC-460 TB system in timely correction of chemotherapy in pulmonary patients / V. Golyshevskaya, E. Sevastyanova, G. Voronina // 20th Annual Congress of the European Society of Mycobacteriology, July 4-7, 1999 : Abstracts. – Lucerne, Switzerland, 1999. – P. 107.

17. Гольшевская, В.И. Ускоренное определение лекарственной устойчивости *M. tuberculosis* с помощью реактива Грисса / Гольшевская В.И., Севастьянова Э.В., Сафонова С.Г., Пузанов В.А. // A IX conferinta a ftizionpneumologilor, consacrata aniversarii a 40 ani a institutului de ftizionpneumologie; actualitati in diagnosticul si tratamentul tuberculozei si bolilor pulmonare nespecifice : Teze ; Материалы IX научно-практической конференции фтизиатров и пульмонологов Республики Молдова. – Кишинев, 1999. – С. 87-88.

18. Khomenko, A.G. Chemotherapy efficacy in patients with pulmonary tuberculosis depending on the use of different drug resistance testing methods / A.G. Khomenko, E.V. Sevastyanova, G.A. Voronina, V.I. Golyshevskaya // Eur. Respir. J. : Abstracts ERS Annual Congress, Madrid, Spain, October 9-13, 1999. – 1999. – Vol. 14. – Suppl. 30. – P. 135s – № P918.

19. Golyshevskaya, V.I. Isolation frequency of multi drug resistant (MDR) strains of *M. tuberculosis* / V.I. Golyshevskaya, E.V. Sevastyanova, S.G. Safonova, N.I. Katylna // Eur. Respir. J. : Abstracts ERS Annual Congress, Madrid, Spain, October 9-13, 1999. – 1999. – Vol. 14. – Suppl. 30. – P. 140s. – № 1012.

20. Севастьянова, Э.В. Сравнительная характеристика различных методов микробиологической диагностики туберкулеза / Севастьянова Э.В., Мартынова Л.П., Гольшевская В.И. // Проблемы биологической и экологической безопасности : сборник материалов международной научной конференции. – Оболенск, 2000. – С. 252-254.

21. Гольшевская, В.И. Организация микробиологической диагностики туберкулеза в России / В.И. Гольшевская, В.А. Пузанов, Э.В. Севастьянова, Л.П. Мартынова, М.В. Шульгина // Azerbaijan medical journal (Азербайджанский медицинский журнал; Azərbaycan tibb jurnalı). – 2001. – № 2. – С. 35-40.

22. Голышевская, В.И. Определение лекарственной устойчивости *Mycobacterium tuberculosis* методами пропорций и абсолютных концентраций / В.И. Голышевская, Э.В. Севастьянова, Г.А. Воронина // Проблемы туберкулеза. – 2001. – № 3. – С. 51-53.

23. Черноусова, Л.Н. Роль ПЦР-анализа в комплексных бактериологических исследованиях во фтизиатрии / Л.Н. Черноусова, Е.Е. Ларионова, Э.В. Севастьянова, В.И. Голышевская // Проблемы туберкулеза. – 2001. – № 3. – С. 58-60.

24. Голышевская, В.И. Современные методы микробиологической диагностики туберкулеза / В.И. Голышевская, Л.П. Мартынова, Э.В. Севастьянова // Российский медицинский журнал. – 2001. – № 4. – С. 15-19.

25. Голышевская, В.И. Достижения и перспективы микробиологической диагностики туберкулеза / В.И. Голышевская, В.А. Пузанов, Э.В. Севастьянова, Л.П. Мартынова, М.В. Шульгина // Проблемы туберкулеза. – 2001. – № 7. – С. 55-59.

26. Голышевская, В.И. Сравнительный анализ микробиологических методов определения лекарственной устойчивости микобактерий туберкулеза / В.И. Голышевская, Э.В. Севастьянова, Л.П. Мартынова, М.В. Шульгина, В.А. Пузанов // Научные труды к 75-летию ведущего противотуберкулезного учреждения г. Москвы. – М. : Медицина и жизнь, 2001. – С. 226-227.

27. Севастьянова, Э.В. Микробиологические методы диагностики туберкулеза и контроль качества лабораторных исследований в пенитенциарных учреждениях / Севастьянова Э.В., Пузанов В.А., Голышевская В.И., Полоцкий В.И. // Актуальные проблемы пенитенциарной медицины : материалы международной научно-практической конференции. – Минск, 2001. – С. 65-66.

28. Golyshevskaya, V.I. Peculiarities of microbiological diagnosis of tuberculosis in Russia / V.I. Golyshevskaya, M.V. Shulgina, E.V. Sevastyanova, V.A. Puzanov, L.P. Martynova // Eur. Respir. J. : Abstracts 11th ERS Annual Congress, Berlin, Germany, September 22-26, 2001. – 2001. – Vol. 18. – Suppl. 33. – P. 469. – № P3121.

29. Голышевская, В.И. Микробиологическая диагностика туберкулеза и ее роль при увеличении показателей заболеваемости / В.И. Голышевская, Э.В. Севастьянова, Л.П. Мартынова, М.В. Шульгина, В.А. Пузанов // Материалы VIII съезда Всероссийского общества эпидемиологов, микробиологов и паразитологов. – М., 2002. – Т. 3. – С. 190-191.

30. Пузанов, В.А. Первичная лекарственная устойчивость *M. tuberculosis* и внешний контроль качества лабораторных исследований при реализации проектов ВОЗ в России / В.А. Пузанов, Н.И. Катулина, Y. Hale, Э.В. Севастьянова, М.В. Шульгина, В.И. Голышевская // Материалы VIII съезда Всероссийского общества эпидемиологов, микробиологов и паразитологов. – М., 2002. – Т. 3. – С. 208-209.

31. Севастьянова, Э.В. Изучение степени резистентности штаммов *M. tuberculosis* с множественной лекарственной устойчивостью / Э.В. Севастьянова, Л.П. Мартынова, Ю.В. Масленникова // Материалы VIII съезда Всероссийского общества эпидемиологов, микробиологов и паразитологов. – М., 2002. – Т. 3. – С. 210-211.

32. Севастьянова, Э.В. Контроль качества определения лекарственной устойчивости микобактерий туберкулеза в экспериментальных регионах России / Э.В. Севастьянова, В.А. Пузанов, М.В. Шульгина, Л.П. Мартынова, В.И. Голышевская // Материалы VIII съезда Всероссийского общества эпидемиологов, микробиологов и паразитологов. – М., 2002. – Т. 3. – С. 211-212.

33. Голышевская, В.И. Организационно-методические подходы к совершенствованию микробиологической диагностики туберкулеза в России / В.И. Голышевская, М.В. Шульгина, Э.В. Севастьянова, Л.П. Мартынова // Проблемы туберкулеза. – 2002. – № 12. – С. 3-7.

34. Севастьянова, Э.В. Анализ лекарственной устойчивости микобактерий

туберкулеза в экспериментальных регионах России, внедряющих Программу ВОЗ по борьбе с туберкулезом / Э.В. Севастьянова, М.В. Шульгина, В.А. Пузанов, Л.П. Мартынова, В.И. Голышевская, В.В. Ерохин // Проблемы туберкулеза. – 2002. – № 12. – С. 11-14.

35. Golyshevskaya, V.I. Problems and perspectives of microbiology diagnosis of TB in Russia / V.I. Golyshevskaya, E.V. Sevastyanova, L.P. Martynova // Eur. Respir. J. : Abstracts 12th ERS Annual Congress, Stockholm, Sweden, September 14-18, 2002. – 2002. – Vol. 20. – Suppl. 38. – P. 169s. – № P1076.

36. Протоколы лечения больных туберкулезом с использованием стратегии Всемирной организации здравоохранения в Псковской области : методические рекомендации для врачей-фтизиатров ; утверждены С-Пб НИИФ и Комитетом здравоохранения Псковской области / Г.С. Баласанянц, А.В. Елькин, А.Ф. Томашевский, М.В. Федорова, Н.Г. Минеев, Л.А. Гончар, А.О. Марьяндышев, Э.В. Севастьянова ; рецензент Ю.Я. Кокотов. – Псков, 2003. – 42 с.

37. Севастьянова, Э.В. Организация выявления больных туберкулезом методом микроскопического исследования мокроты / Севастьянова Э.В., Кокотов Ю.Я., Клочкова Е.Г., Ковач З., Марьяндышев А.О., Голышевская В.И. // Туберкулез сегодня : материалы VII Российского съезда фтизиатров. – М., 2003. – С. 121-122.

38. Golyshevskaya, V.I. Drug resistance of *M. tuberculosis* in pilot regions in Russia implementing WHO TB control programme / V.I. Golyshevskaya, E.V. Sevastyanova, E.S. Nemtsova // The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease : Abstract book 34th World Conference on Lung Health of the International Union Against Tuberculosis and Lung Disease (IUATLD), Paris, France, 29 October - 2 November, 2003. – 2003. – Vol. 7. – N. 11. – Suppl. 2. – P. S282. – № 172-PD.

39. Sevastyanova, E.V. Organisation of laboratory network participating in microbiological diagnosis of tuberculosis in several regions of Russia / E.V. Sevastyanova, Y.Y. Kokotov, Z. Kovatch, E.G. Klochkova, A.O. Maryandyshchev, V.I. Golyshevskaya // The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease : Abstract book 34th World Conference on Lung Health of the International Union Against Tuberculosis and Lung Disease (IUATLD), Paris, France, 29 October - 2 November, 2003. – 2003. – Vol. 7. – N. 11. – Suppl. 2. – P. S283. – № 173-PD.

40. Голышевская, В.И. Пути повышения эффективности бактериоскопической диагностики туберкулеза в учреждениях общей лечебной сети на примере пилотных территорий России / В.И. Голышевская, Э.В. Севастьянова, Л.П. Мартынова, М.В. Шульгина // Проблемы туберкулеза и болезней легких. – 2004. – № 8. – С. 30-35.

41. Голышевская, В.И. Современное состояние лабораторной службы России по диагностике туберкулеза: основные проблемы и пути их преодоления / В.И. Голышевская, Э.В. Севастьянова, О.А. Иртуганова, В.В. Ерохин // Проблемы туберкулеза и болезней легких. – 2006. – № 12. – С. 36-42.

42. Голышевская, В.И. Современное состояние микробиологической диагностики туберкулеза в России / В.И. Голышевская, Э.В. Севастьянова // Актуальные проблемы туберкулеза и болезней легких : материалы научной сессии, посвященной 85-летию ЦНИИТ РАМН. – М., 2006. – С. 17-18.

43. Голышевская, В.И. Сравнительный анализ эффективности микробиологической диагностики туберкулеза в различных регионах России / В.И. Голышевская, Э.В. Севастьянова // Туберкулез в России. Год 2007 : материалы VIII Российского съезда фтизиатров. – М., 2007. – С. 119.

44. Golyshevskaya, V. The evaluation of TB services bacteriology laboratories activity in Russia / V. Golyshevskaya, E. Sevastyanova, M. Shulgina, V. Malakhov // Abstract book 4th Congress of the International Union Against Tuberculosis and Lung Disease, Europe Region. –

Riga, Latvia, June 27-30, 2007. – P. 17. – № B01 73167.

45. Sevastyanova, E. Monitoring of *M. tuberculosis* drug resistance in the Republic of Mary El / E. Sevastyanova, V. Golyshevskaya, L. Petrova // Abstract book 4th Congress of the International Union Against Tuberculosis and Lung Disease, Europe Region. – Riga, Latvia, June 27-30, 2007. – P. 18. – № B01 73172.

46. Erokhin, V. Monitoring of *M. tuberculosis* multi-drug resistance in some regions of the Russian Federation / V. Erokhin, V. Golyshevskaya, E. Sevastyanova // The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease : Abstract book 38th World Conference on Lung Health of the International Union Against Tuberculosis and Lung Disease (The Union), Cape Town, South Africa, November 8-12, 2007. – 2007. – Vol. 11. – N. 11. – Suppl. 1. – P. S171. – № PS-71567-11.

47. Erokhin, V. Effectiveness of microbiology diagnosis of TB in different Russian regions / V. Erokhin, E. Sevastyanova, V. Punga // The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease : Abstract book 39th World Conference on Lung Health of the International Union Against Tuberculosis and Lung Disease (The Union), Paris, France, September 16-20, 2008. – 2008. – Vol. 12. – N. 11. – Suppl. 2. – P. S77. – № PS-81241-18.

48. Выявление туберкулеза методом микроскопии : Учебное пособие для проведения базового курса обучения «Выявление туберкулеза методом микроскопии» (рекомендуется Учебно-методическим объединением по медицинскому и фармацевтическому образованию вузов России в качестве учебного пособия для системы послевузовского профессионального образования врачей; УМО-107, 08.02.07) / В.И. Голышевская, Э.В. Севастьянова, М.В. Шульгина, Г.В. Евгущенко, О.В. Егорова. – М. – Тверь : ООО «Издательство «Триада», 2008. – 100 с.

49. Выявление туберкулеза методом микроскопии : Рабочая тетрадь для слушателя курса обучения. Приложение к учебному пособию для проведения базового курса обучения «Выявление туберкулеза методом микроскопии» (рекомендуется Учебно-методическим объединением по медицинскому и фармацевтическому образованию вузов России в качестве учебного пособия для системы послевузовского профессионального образования врачей; УМО-107, 08.02.07). – М. – Тверь : ООО «Издательство «Триада», 2008. – 28 с.

50. Микробиологические методы диагностики туберкулеза: Эпидемиология туберкулеза. Характеристика возбудителя туберкулеза. Лабораторные методы диагностики туберкулеза : Теоретическое учебное пособие для проведения курсов обучения: «Выявление туберкулеза методом микроскопии», «Культуральные методы диагностики туберкулеза» (рекомендуется Учебно-методическим объединением по медицинскому и фармацевтическому образованию вузов России в качестве учебного пособия для системы послевузовского профессионального образования врачей; УМО-107, 08.02.07) / В.В. Ерохин, В.И. Голышевская, Э.В. Севастьянова, М.В. Шульгина. – М. – Тверь : ООО «Издательство «Триада», 2008. – 40 с.

51. Выявление туберкулеза методом микроскопии : Методическое руководство для преподавателей курса обучения (рекомендуется Учебно-методическим объединением по медицинскому и фармацевтическому образованию вузов России в качестве учебного пособия для системы послевузовского профессионального образования врачей; УМО-107, 08.02.07) / Э.В. Севастьянова, В.И. Голышевская, М.В. Шульгина, Ю.В. Первушин, В.В. Долгов. – М. – Тверь : ООО «Издательство «Триада», 2008. – 72 с.

52. Культуральные методы диагностики туберкулеза : Учебное пособие для проведения базового курса обучения специалистов бактериологических лабораторий учреждений противотуберкулезной службы (рекомендуется Учебно-методическим объединением по медицинскому и фармацевтическому образованию вузов России в качестве учебного пособия для системы послевузовского профессионального

образования врачей; УМО-685, 24.10.07) / В.И. Гольшевская, М.В. Шульгина, Э.В. Севастьянова, В.Г. Акимкин, Г.М. Ванина, Д.В. Вахрушева, Б.И. Вишневский, М.А. Владимирский, О.А. Иртуганова, М.А. Кравченко, Т.Ф. Оттен, С.А. Попов, С.Г. Сафонова, Л.С. Федорова ; под редакцией чл.-корр. РАМН, профессора В.В. Ерохина. – М. – Тверь : ООО «Издательство «Триада», 2008. – 208 с.

53. Люминесцентная микроскопия : Учебное пособие для проведения курсов обучения: «Культуральные методы диагностики туберкулеза», «Выявление туберкулеза методом микроскопии» (рекомендуется Учебно-методическим объединением по медицинскому и фармацевтическому образованию вузов России в качестве учебного пособия для системы послевузовского профессионального образования врачей; УМО-691, 24.10.07) / В.И. Гольшевская, О.В. Егорова, Э.В. Севастьянова, М.В. Шульгина. – М. – Тверь : ООО «Издательство «Триада», 2008. – 36 с.

54. Унифицированный метод микроскопического выявления кислотоустойчивых микобактерий : Руководство для клинико-диагностических лабораторий лечебно-профилактических учреждений / В.В. Ерохин, В.И. Гольшевская, С.А. Попов, В.А. Пузанов, Г.В. Евгущенко, Э.В. Севастьянова, Л.П. Мартынова, О.А. Иртуганова. – М. – Тверь : ООО «Издательство «Триада», 2008. – 131 с.

55. Севастьянова, Э.В. Мониторинг лекарственной устойчивости микобактерий туберкулеза в Республике Марий Эл / Э.В. Севастьянова, Л.В. Петрова // Проблемы туберкулеза и болезней легких. – 2008. – № 9. – С. 13-16.

56. Севастьянова, Э.В. Разработка критериев оценки качества и эффективности микробиологических исследований в учреждениях противотуберкулезной службы и общей лечебной сети / Э.В. Севастьянова, О.А. Иртуганова, Л.В. Петрова, В.И. Гольшевская // Проблемы туберкулеза и болезней легких. – 2009. – № 3. – С. 55-60.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

БЛ	- бактериологическая лаборатория
в/в	- впервые выявленный
ВОЗ (WHO)	- Всемирная организация здравоохранения
ГНИЦ ПМ	- Государственный научно-исследовательский центр профилактической медицины
КДЛ	- клинико-диагностическая лаборатория
КОЕ	- колониеобразующие единицы
КУМ	- кислотоустойчивые микобактерии
Л-Й	- среда Левенштейна-Йенсена
ЛПУ	- лечебно-профилактическое учреждение
ЛУ	- лекарственная устойчивость
ЛЧ	- лекарственная чувствительность
МБ	- микобактерии
МБТ	- микобактерии туберкулеза
МЛУ	- множественная лекарственная устойчивость
МСБТБЗЛ (IUATLD)	- Международный союз по борьбе с туберкулезом и заболеваниями легких
ОЛС	- общая лечебная сеть
ОПТД	- областной противотуберкулезный диспансер
ПМСП	- первичная медико-санитарная помощь
ПТ	- противотуберкулезный
ПТД	- противотуберкулезный диспансер
ПТП	- противотуберкулезный препарат
ПТС	- противотуберкулезная служба
ПТУ	- противотуберкулезное учреждение

р/л	- ранее леченный
РПТД	- республиканский противотуберкулезный диспансер
ТБ	- туберкулез
УМО	- Учебно-методическое объединение по медицинскому и фармацевтическому образованию вузов России
ФСВОК	- Федеральная система внешней оценки качества
ФСИН	- Федеральная служба исполнения наказаний
х/т	- химиотерапия
ЦНИИТ	- Центральный НИИ туберкулеза
APHL	- Ассоциация лабораторий общественного здравоохранения
CDC	- Центры по контролю за заболеваемостью США
Е	- этамбутол
Н	- изониазид
К	- канамицин
Р	- рифампицин
S	- стрептомицин