

Выявление микобактерий туберкулеза

МЕТОДОМ МИКРОСКОПИИ


**Исполнитель: биолог КДЛ
Чернова Е.А.**

ГБУЗ ТО «ОКБ№1»

Приказ Минздрава РФ от 21 марта 2003 г. № 109

**«О совершенствовании
противотуберкулезных мероприятий в
Российской Федерации»**

Утвердить:

-  **1.10. Инструкцию по унифицированным методам микроскопических исследований для выявления кислотоустойчивых микобактерий в клинко-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений.**

- Ю.Л. Министр Шевченко

I. Общие положения

Преимущество бактериоскопии заключается в скорости получения результата (от 1 часа) и относительной простоте исследования.

- Метод прямой бактериоскопии осуществляется с помощью световой микроскопии мазков, окрашенных по Ziehl-Neelsen, или люминесцентной микроскопии с окраской флюорохромными красителями.
- Результаты выражаются в полуколичественных категориях, отражающих содержание микобактерий в исследуемом препарате.

II. Показания и противопоказания к применению метода

- Метод осуществляется в клинико-диагностических лабораториях ОЛС при проведении первичного обследования у лиц с подозрением на заболевание туберкулезом.
- Противопоказаний к применению метода нет.

III. Возможности метода микроскопического исследования при выявлении кислотоустойчивых микобактерий

- Позволяет выявить кислотоустойчивые микобактерии при их содержании порядка 5000-10000 и более микробных клеток в 1 мл мокроты, что характерно для больных с прогрессирующими формами процесса.
- Для увеличения чувствительности метода следует исследовать не менее трех проб мокроты.

IV. Организация рабочего места и оборудование для микроскопических исследований

- В объединенных клинико-диагностических лабораториях для микроскопических исследований на кислотоустойчивые микобактерии должно выделяться отдельное помещение.
- В помещении для микроскопии должно быть четыре зоны:
 - I. Зона для приема и регистрации диагностического материала
 - II. Зона для приготовления и окраски мазков
 - III. Рабочее место для микроскопии
 - IV. Место для регистрации результатов исследований

V. Режимы и кратность микроскопического обследования пациентов

- При первом обращении больного к врачу с симптомами, подозрительными на туберкулез, необходимо в течение 2-3 дней исследовать не менее 3 порций мокроты, собранных под наблюдением медицинского персонала.
-
- Материал для исследования на кислотоустойчивые микобактерии собирают в стерильные флаконы с плотно завинчивающимися крышками.



VI. Сбор диагностического материала

При легочных процессах чаще всего исследуют следующие материалы:

- мокроту;
- отделяемое верхних дыхательных путей,
- промывные воды бронхов;
- бронхоальвеолярные смывы;
- материал, получаемый при бронхоскопии, транстрахеальной и внутрилегочной биопсии;
- аспират из бронхов;
- мазки из гортани;
- экссудаты;
- промывные воды желудка (преимущественно у детей).

При внелегочных формах заболевания пригоден самый разнообразный материал:

- различные тканевые жидкости (спинномозговая, плевральная, перикардальная, синовиальная, асцитическая, кровь, гной),
- пунктаты костного мозга,
- резецированные ткани того или иного органа, полученные при биопсиях или оперативных вмешательствах,
- гнойно-некротические массы, грануляции,
- соскобы синовиальных оболочек,
- лимфатические узлы или пунктаты их содержимого,
- моча

VII. Хранение и транспортировка диагностического материала

- Собранный материал необходимо как можно быстрее доставлять в лабораторию;
- в случае невозможности немедленной доставки материал сохраняется в холодильнике при 5-10°C не более 3 дней;
- при более длительном хранении во избежание получения неверных результатов необходима консервация материала.
- Во время транспортировки материал следует предохранять от воздействия прямых солнечных лучей и тепла.
- В летний период (особенно в районах с теплым климатом) консервация необходима, если транспортировка занимает более 24 часов.
- В условиях Крайнего Севера диагностический материал может подвергаться воздействию значительных колебаний температуры,
- допускается пересылка материала в замороженном состоянии без консервации.
- Недопустимо после размораживания повторное замораживание диагностического материала, что ведет к нарушению структуры и тинкториальных свойств бактериальных клеток.

VIII. Правила работы с диагностическим материалом

- Поступающие для исследования пробы материала принимают на отдельном столе в одноразовых перчатках и масках;
- - перед тем, как открыть транспортировочный контейнер, необходимо протереть его наружную поверхность тампоном, смоченным соответствующим дезинфицирующим средством
- - аккуратно открыть крышку контейнера и проверить, нет ли на поверхности флаконов следов протечки материала. Ни в коем случае не использовать поврежденные флаконы (разбитые или с трещинами) - уничтожить их и запросить новый образец, отметив в сопроводительном бланке;
- - проверить наличие идентификационных номеров на флаконах с материалом и сверить их с номерами в сопроводительных документах;
- - продезинфицировать внутреннюю поверхность транспортировочного контейнера;
- - после работы с флаконами уничтожить одноразовые перчатки и вымыть руки с мылом;
- - подписать сопроводительные документы;
- - занести в регистрационный лабораторный журнал сведения о каждом пациенте и полученном от него материале.
- Бланки направлений следует желательно подвергнуть стерилизации в сухожаровом шкафу в течение 30 минут при 85°С.

IX. Приготовление мазков для микроскопических исследований



Организация рабочего места для приготовления мазков из нативной мокроты



9.1. Оборудование и реактивы для приготовления мазков из диагностического материала при окраске по методу Ziehl-Neelsen

IX. Приготовление мазков для микроскопических исследований

▶ 9.3. Приготовление мазков из нативного материала

▶ 9.4. Фиксация мазков.
Ни в коем случае не допускается фиксация сырых мазков над пламенем горелки.



Распределение материала по предметному стеклу

Х. Методы окраски диагностических препаратов

▶ 10.1. Окраска препаратов для световой микроскопии по методу Ziehl-Neelsen

▶ окраска фуксином (с подогреванием)



Фиксация мазна над пламенем газовой горелки

X. Методы окраски диагностических препаратов



Нанесение на препараты раствора карболового фуксина



Почередное нагревание препаратов над пламенем спиртовки



Способ нагревания препаратов с помощью приготовленной фанельной горелки (металлического прута с ватным тампоном, который может использоваться вместо спиртовой горелки для подогревания препаратов при окрасивании карболовым фуксином)



Смывание остатков краски с препаратов слабой струей воды

Х. Методы окраски диагностических препаратов



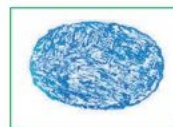
Нанесение на препараты обезбачивающего раствора



Нанесение на препараты раствора метиленового синего



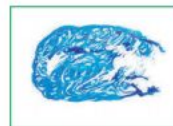
Высушивание препаратов при комнатной температуре в вертикальном положении



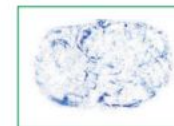
Хорошее качество



Хорошее качество



Сквашая мокрота

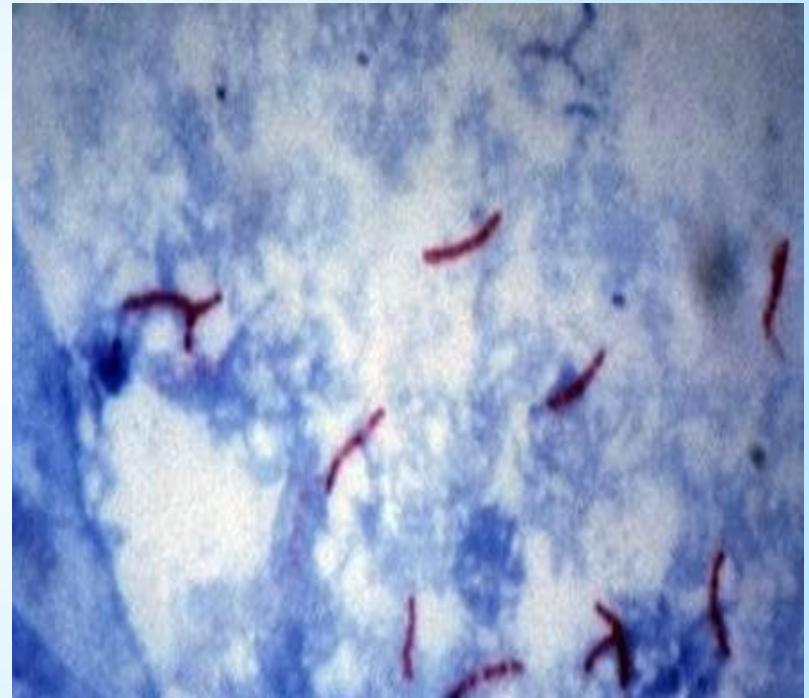


Неравномерно распределенный

Равномерность распределения мазка мокроты по предметному стеклу

Х. Методы окраски диагностических препаратов

- Микобактерии туберкулеза окрашиваются в результате в малиново-красный цвет, а другие микроорганизмы и клеточные элементы - в голубой.



XIII. Учет результатов микроскопического исследования

- Микроскопическое исследование должно быть не только качественным, но обязательно и количественным
- Положительные результаты исследования рекомендуется вписывать в журнал красными чернилами
- Ответ с результатами исследования следует выдавать не позже, чем через 24 часа после получения проб.

Градация результатов микроскопического исследования при окраске по методу **Ziehl-Neelsen**

Градация результатов микроскопического исследования

Число палочек	Поля	Результат
Нет	На 300 полей	Отрицательный, КУМ не обнаружены в 300 полях зрения
1-2	На 300 полей	Результат не оценивается (необходимо исследовать еще одну порцию мокроты)
1-9	На 100 полей	Положительный, указать точное количество КУМ, обнаруженных в 100 полях
10-99	На 100 полей	Положительный, 1+ (от 10 до 99 КУМ на 100 полей зрения)
1-10	В поле зрения	Положительный, 2+ (1-10 КУМ в 1 поле зрения, в 50 полях зрения)
Более 10	В поле зрения	Положительный, 3+ (более 10 КУМ в 1 поле зрения, в 20 полях зрения)

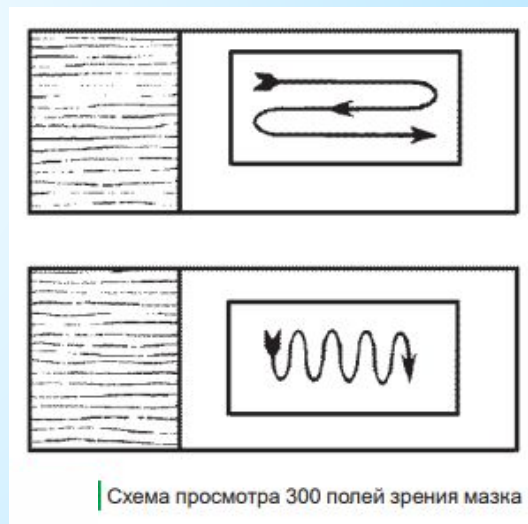


Схема просмотра 300 полей зрения мазка

XIV. Контроль качества микроскопического выявления кислотоустойчивых микобактерий





- Контроль качества лабораторных исследований осуществляется в нескольких формах:
- а) внутрилабораторный контроль качества выполняемых исследований;
- б) внешний контроль качества микроскопических лабораторных исследований.
- **14.3. Повторный анализ клинических образцов и препаратов в лабораториях более высокого уровня**
- Определенная доля исследованных и сохраненных мазков подвергается повторному анализу в курирующих лабораториях по установленным правилам.
- Обычно реанализу подвергают все положительные мазки и каждый десятый отрицательный.

Приказ Минздравсоцразвития РФ от 02 октября 2006 г. № 690

**"ОБ УТВЕРЖДЕНИИ УЧЕТНОЙ
ДОКУМЕНТАЦИИ ПО ВЫЯВЛЕНИЮ
ТУБЕРКУЛЕЗА МЕТОДОМ
МИКРОСКОПИИ"**

**(ВМЕСТЕ С ИНСТРУКЦИЯМИ ПО
ЗАПОЛНЕНИЮ УЧЕТНЫХ ФОРМ N 05-
ТБ/У, N 04-ТБ/У, N 04-1-ТБ/У, N 04-2-ТБ/У)**

Утвердить:

-  учетную форму N 05-ТБ/у "Направление на проведение микроскопических исследований на туберкулез" согласно приложению N 1;
-  - учетную форму N 04-ТБ/у "Журнал регистрации микроскопических исследований на туберкулез" согласно приложению N 2;
-  - учетную форму N 04-1-ТБ/у "Журнал регистрации диагностического материала, собранного для микроскопических исследований на туберкулез" согласно приложению N 3;
-  - учетную форму N 04-2-ТБ/у "Сопроводительный лист доставки диагностического материала для микроскопического исследования на туберкулез" согласно приложению N 4;

Утвердить:

- - инструкцию по заполнению учетной формы N 05-ТБ/у "Направление на проведение микроскопического исследования на туберкулез" согласно приложению N 5;
 - - инструкцию по заполнению учетной формы N 04-ТБ/у "Журнал регистрации микроскопических исследований на туберкулез" согласно приложению N 6;
 - - инструкцию по заполнению учетной формы N 04-1-ТБ/у "Журнал регистрации диагностического материала, собранного для микроскопических исследований на туберкулез" согласно приложению N 7;
 - - инструкцию по заполнению учетной формы N 04-2-ТБ/у "Сопроводительный лист доставки диагностического материала для микроскопического исследования на туберкулез" согласно приложению N 8
- . Министр М.ЗУРАБОВ

14. Результаты микроскопического исследования

Дата проведения исследования	Образец диагностического материала	Отрицательный результат	Положительный результат (степень)				Примечание
			Единичные <*>	1+	2+	3+	
1	2	3	4	5	6	7	8
	1		_____ КУМ< *>				
	2		_____ КУМ< *>				
	3		_____ КУМ< *>				

ИНСТРУКЦИЯ
ПО ЗАПОЛНЕНИЮ УЧЕТНОЙ ФОРМЫ N 05-ТБ/У
"НАПРАВЛЕНИЕ НА ПРОВЕДЕНИЕ
МИКРОСКОПИЧЕСКИХ
ИССЛЕДОВАНИЙ НА ТУБЕРКУЛЕЗ"

- Графы 3-7 заполняются в соответствии с результатами микроскопических исследований, которые переносятся из Журнала регистрации исследований.
- Отрицательные результаты исследования записываются в графу 3
- Положительные результаты исследования с градацией массивности бактериовыделения - в графы 4-7.
- При скудном бактериовыделении (единичные микобактерии в 100 полях зрения) указывается точное количество микобактерии в 100 полях зрения (графа 4)
- В графах 5, 6, 7 дается количественная оценка положительного результата в соответствии с таблицей приказа Минздрава России от 21 марта 2003 г. N 109 "О совершенствовании противотуберкулезных мероприятий в Российской Федерации»
- В п. 15 - день, месяц и год выдачи результата
- В п. 16 - фамилия и инициалы медицинского работника, ответственного за проведение микроскопических исследований, и ставится его подпись.

Спасибо за внимание!

