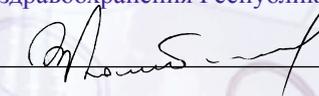


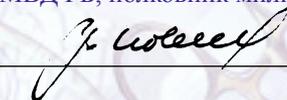
**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ**

УТВЕРЖДАЮ

Первый заместитель министра
здравоохранения Республики Беларусь


В.В. Колбанов

Начальник Комитета исполнения наказаний
МВД РБ, полковник милиции


В.А. Ковчур

30 декабря 2002 г.

Регистрационный № 106–1102

**ФОРМИРОВАНИЕ ГРУПП РИСКА
ПО ТУБЕРКУЛЕЗУ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МЕТОДА
ИММУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛИЗА И ПРОВЕДЕНИЕ
ХИМИОПРОФИЛАКТИКИ В ПЕНИТЕНЦИАРНЫХ
УЧРЕЖДЕНИЯХ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ**

(инструкция по применению)

Учреждения-разработчики: НИИ пульмонологии и фтизиатрии, Белорусский государственный медицинский университет

Авторы: канд. мед. наук, доц. П.С. Кривонос, д-р мед. наук Л.К. Суркова, д-р вет. наук А.П. Лысенко, канд. биол. наук Н.С. Шпаковская, Г.С. Авдеев, В.И. Завадский, А.А. Краляк

[Перейти к оглавлению](#)

ОГЛАВЛЕНИЕ

Введение	3
Показания для проведения ИФА	3
Перечень необходимого оборудования и расходных материалов	4
Порядок обследования спецконтингентов методом ИФА	5
Правила забора материала	5
Учет результатов ИФА	6
Интерпретация результатов ИФА	7
Тактика контрольного клиничко-рентгенологического и лабораторного дообследования стойко серопозитивных лиц	8
Методика проведения ХП	9
Отчетность результатов ИФА	9
Меры безопасности при проведении ИФА	10
Возможные осложнения и ошибки при проведении ИФА и пути их устранения	10

ВВЕДЕНИЕ

Метод иммуноферментного анализа (ИФА) применяется для выявления противотуберкулезных антител и антигенов микобактерий туберкулеза (МБТ) с целью диагностики туберкулеза и определения серологических маркеров скрыто протекающей туберкулезной инфекции.

Чувствительность ИФА колеблется от 65,6 до 100% в зависимости от клинической формы туберкулеза, локализации, степени активности, наличия деструкции и бактериовыделения.

Специфика содержания заключенных в учреждениях уголовно-исполнительной системы, высокий удельный вес групп риска по туберкулезу среди спецконтингентов резко увеличивают риск инфицирования и заболевания туберкулезом, а также способствуют распространению инфекции. В сложившейся эпидемической обстановке по туберкулезу в пенитенциарных учреждениях (ПУ) особую актуальность приобретает диагностика заболевания на начальных этапах и определение групп риска, у которых вероятность развития туберкулеза крайне высока. Существующее скрининговое обследование спецконтингентов позволяет выявлять преимущественно туберкулез органов дыхания с имеющимися клинико-рентгенологическими и бактериологическими проявлениями. В период резко ухудшившейся эпидемической обстановки по туберкулезу в ПУ необходимо дальнейшее совершенствование организационных форм и внедрение относительно простых, преимущественно не лучевых методов выявления наиболее ранних проявлений туберкулезной инфекции.

С целью совершенствования и оптимизации эпидемиологического контроля, профилактики и раннего выявления туберкулеза в ПУ в комплекс мероприятий, наряду с рентгенофлюорографическим, бактериологическим обследованиями и туберкулинодиагностикой, включен серологический скрининг маркеров скрыто протекающей туберкулезной инфекции (антител и антигенов МБТ) с помощью метода ИФА.

ПОКАЗАНИЯ ДЛЯ ПРОВЕДЕНИЯ ИФА

1. Массовые скрининговые обследования на туберкулез.
2. Выявление лиц с серологическими маркерами скрыто протекающей туберкулезной инфекции для их детального дообследования на туберкулез и проведение им химиопрофилактики (ХП).
3. Решение вопроса о целесообразности проведения ХП.

4. Определение уровня инфицированности спецконтингентов для оценки эпидемической ситуации по туберкулезу в ПУ.
5. Диагностика и дифференциальная диагностика туберкулеза различных локализаций, особенно внелегочных (почек, глаз, лимфатических узлов и др.).
6. Выявление реактивации туберкулеза у лиц с остаточными посттуберкулезными изменениями.
7. Выявление скрытой активности туберкулеза.
8. Обследование лиц из группы риска по заболеванию туберкулезом.
9. Обследование контингентов из туберкулезных очагов.

ПЕРЕЧЕНЬ НЕОБХОДИМОГО ОБОРУДОВАНИЯ И РАСХОДНЫХ МАТЕРИАЛОВ

1. Стандартная иммуноферментная тест-система для определения противотуберкулезных антител и антигенов.
2. Фотометрический анализатор микроплащечный с светофильтрами 405–492 нм типа «Мультикан» или отечественный аппарат типа АИФ-Ц-01С (ПО «Витязь», г. Витебск).
3. Приборы для промывания и встряхивания микропланшет (автоматический промыватель, шейкер).
4. Микродозаторы (одно- и 8-канальные на 5–1000 мкл).
5. Холодильник.
6. Центрифуга.
7. Термостат.
8. Пластиковые пробирки или 96-луночные панели.

ПОРЯДОК ОБСЛЕДОВАНИЯ СПЕЦКОНТИНГЕНТОВ МЕТОДОМ ИФА

ИФА проводится в медицинских частях, СИЗО, ИК, ВК, ЛТП, Республиканской больнице ИК-1 и Республиканской туберкулезной больнице ИК-12. ИФА может проводиться при ежегодной диспансеризации спецконтингентов, а также в период между плановыми рентгенофлюорографическими осмотрами, при поступлении больных в стационар (особенно при наличии подозрительных признаков на легочные или внелегочные локализации туберкулеза).

Метод ИФА применяется независимо от возраста и от сроков проведения предыдущих исследований. ИФА проводится медицинскими учреждениями Комитета исполнения наказаний (КИН) МВД, а при отсутствии соответствующего оборудования — в территориальных учреждениях здравоохранения по предварительному договору.

Система мероприятий по раннему выявлению туберкулеза в ПУ включает двукратный ИФА с интервалом 3–4 недели. На первом этапе проводится сплошное обследование на наличие противотуберкулезных антител и антигенов МБТ в сыворотке крови, полученной из пальца, с помощью стандартных тест-систем ИФА. На втором этапе (через 3–4 недели) проводится повторное серологическое обследование сыворотки крови всех лиц, первично серопозитивных по наличию противотуберкулезных антител и антигенов МБТ.

При проведении ИФА необходимо использовать стандартные тест-системы для обнаружения антител к возбудителю туберкулеза (либо одновременного определения антител и антигенов МБТ) промышленного производства. К каждой тест-системе прилагается инструкция по применению, которой необходимо строго следовать при проведении ИФА, учете и интерпретации результатов.

Качество проведения ИФА обеспечивает лабораторная служба КИН МВД. Врач-лаборант (заведующий клинико-диагностической лабораторией) решает вопрос о повторном проведении ИФА по результатам первичного обследования.

Правила забора материала

Материалом для исследования служит сыворотка периферической или венозной крови. Необходимо 0,5–0,8 мл крови, полученной из пальца. Сыворотка может храниться до 6 мес. в морозильной камере и использоваться при условии размораживания не более двух раз.

Учет и регистрация результатов исследования осуществляется в соответствии с инструкцией по применению иммуноферментных тест-систем. Перечень некоторых диагностических тест-систем представлен в таблице. Эффективность ИФА во многом зависит от качества наборов и строгого выполнения методики проведения.

Перечень некоторых диагностических иммуноферментных тест-систем

№ п/п	Наименование	Производитель	Предназначение	Чувствительность (%)	Специфичность (%)
1.	ИФА-Антитуб (Санкт-Петербург)	Санкт-Петербургский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера	Определение антител к возбудителю туберкулеза	68,6–100	96,6–100
2.	ИФА-ТУБ (Минск)	Минск, НПЦ «Красная капля»	Определение антител к возбудителю туберкулеза	65,6–100	83,3–84,6
3.	ИФА-ТУБАТАГ (Минск)	Минск, НПЦ «Красная капля»	Одновременное определение антител и антигенов возбудителя туберкулеза	77–100	89
4.	ИФА-Антитуб (Москва)	Москва, Российский НИИ фтизиопульмонологии	Определение антител к возбудителю туберкулеза	65–75,0	92,9

Учет результатов ИФА

Учет результатов осуществляется по определению оптической плотности на спектрофотометре. Оценка результатов может осуществляться и визуально.

Результат может быть отрицательным, сомнительным (на 20–25% ниже критерия положительной реакции), положительным (в том числе слабоположительным и резко положительным).

Результаты ИФА регистрируются в специальном журнале, куда вносятся паспортные данные пациента, дата постановки ИФА и его результат (оптическая плотность (ОП) K^- , K^+ , пробы), учреждение, выпускающее ИФА-наборы и сроки их годности. Результаты положительного ИФА регистрируются также в карте профилактического рентгенофлюорографического исследования с указанием даты обследования и результата (например, ИФА 1–15.04.02 — пол. ОП K^- = 0,160, ОП пробы ср. = 0,520; ИФА 2–10.05.02 — пол. ОП K^- = 0,148, ОП пробы ср. = 0,640). В специальном журнале или картотеке регистрируются лица, назначенные на контрольное дообследование после ИФА.

Интерпретация результатов ИФА

Результаты ИФА необходимо трактовать с учетом всех данных обследования пациентов. Стойко серопозитивные лица относятся к группам с высоким риском развития болезни.

При проведении серологического скрининга исследуются два образца сыворотки крови с интервалом 3–4 недели.

В случае первичной положительной реакции (слабоположительной, положительной и резко положительной) через 3–4 недели исследуется второй образец сыворотки для выявления стойкой серопозитивности или нарастания титра антител и антигенов МБТ, циркулирующих в составе иммунных комплексов, либо растворимых антигенов.

В дальнейшем интерпретацию результатов ИФА проводят согласно следующим критериям оценки (Карпов А.В., 1993):

- при определении антител положительными сдвигами следует считать конверсию положительной или сомнительной реакции в отрицательную;
- при определении антигенов и циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) положительными сдвигами следует считать уменьшение показателя ингибиции реакции;
- при оценке эффективности ХП в комплексе положительными сдвигами следует считать увеличение уровня антител при снижении уровня ЦИК и антигенов.

Тактика контрольного клинико-рентгенологического и лабораторного дообследования стойко серопозитивных лиц

Контрольное клинико-рентгенологическое и лабораторное дообследование и консультация врачом-фтизиатром производятся по результатам повторного ИФА. Врач медчасти КИН МВД (терапевт) определяет план и объем дообследования стойко серопозитивных лиц и дальнейшего направления на консультацию к врачу-фтизиатру. Дообследованию в амбулаторных условиях подлежат следующие лица:

- стойко серопозитивные;
- с нарастанием титра противотуберкулезных антител и/или антигенов МБТ.

Лицам, подлежащим клинико-рентгенолабораторному дообследованию, выполняются:

1. Тщательный клинический осмотр (выявление признаков туберкулезной интоксикации, субфебрильной температуры и других клинических проявлений туберкулеза).
2. Общий анализ крови, мочи.
3. Обзорная рентгенограмма (флюорограмма) грудной клетки (по показаниям — обследование других органов лучевыми методами).
4. Трехкратное исследование мокроты бактериоскопическим методом или методом посева (при наличии соответствующих клинических данных).
5. Посев мочи на МБТ при наличии клинических показаний и патологических изменений в моче.
6. Консультация фтизиатра (при необходимости — специалиста по внелегочному туберкулезу).
7. Бронхоскопия по показаниям.
8. Расширенные серологические исследования (РНГА, РПК и др.) с туберкулином в качестве антигена.

При необходимости проведения бронхоскопии и других методов исследования показана госпитализация в ИК-12. Клинико-рентгенологическое и лабораторное дообследование должно быть завершено в течение 2 недель (не позднее 14 дней с момента проведения повторного ИФА). Лицам, прошедшим контрольное дообследование по поводу положительного ИФА и консультацию фтизиатра, делается отметка в карте рентгенофлюорографических профилактических осмотров.

Тактика наблюдения за стойко серопозитивными лицами: положительная реакция ИФА при отсутствии других проявлений туберкулеза не является основанием для определения активного туберкулезного процесса. Стойко серопозитивные лица берутся на учет для проведения профилактических мероприятий по «0» группе диспансерного учета.

МЕТОДИКА ПРОВЕДЕНИЯ ХП

Лицам, стойко серопозитивным или с сероконверсией при отсутствии клинико-рентгенологических признаков активного туберкулеза, ХП проводится однократно одним препаратом (изониазид в дозе 0,6 г/сут) ежедневно в течение 2–3 мес. или через день в течение 3–4 мес. с последующим ИФА-контролем. ХП назначается и проводится врачом-фтизиатром, который осуществляет наблюдение за лицами со стойко положительными результатами ИФА. Контролирует проведение ХП врач или фельдшер медчасти. Если в это время результат остается положительным либо нарастает, чаще всего это означает, что контроль за приемом препарата осуществлялся недостаточно тщательно либо конверсия результатов ИФА происходит медленно.

В случае отсутствия снижения титра антител и антигенов МБТ (если результаты серологического мониторинга остаются положительным) проводится двукратная весенне-осенняя ХП с серологическим мониторингом эффективности.

Стойко серопозитивным лицам с наличием малых остаточных изменений в легких после клинически или спонтанно излеченного туберкулеза легких, ВИЧ-инфицированным и пациентам из групп риска по туберкулезу проводится двукратная сезонная весенне-осенняя ХП.

Если пациент продолжает оставаться стойко серопозитивным после двукратной ХП, необходимо повторное дообследование и проведение превентивной химиотерапии двумя препаратами.

ХП проводится в амбулаторных условиях под контролем медицинских работников.

ОТЧЕТНОСТЬ РЕЗУЛЬТАТОВ ИФА

Учет результатов ИФА необходим для оценки проделанной работы, осуществления контроля за изменением эпидемиологической ситуации по туберкулезу и планирования корректировочных противотуберкулезных мероприятий.

Результаты проведения ИФА оцениваются по следующим показателям:

1. Охват спецконтингента обследованием методом ИФА (абсолютное число, %).
2. Удельный вес лиц с положительной реакцией ИФА (абсолютное число, %).
3. Удельный вес стойко серопозитивных лиц к числу всех обследованных и первично позитивных (абсолютное число, %).

4. Охват клинико-рентгенологическим и лабораторным дообследованием стойко серопозитивных лиц (абсолютное число, %).
5. Количество выявленных больных туберкулезом (активным и с посттуберкулезными изменениями, в том числе с большими остаточными изменениями).
6. Охват ХП серопозитивных лиц (абсолютное число, %).

МЕРЫ БЕЗОПАСНОСТИ ПРИ ПРОВЕДЕНИИ ИФА

Работа с кровью проводится по правилам работы с инфицированным материалом.

Компоненты диагностических наборов не представляют угрозы заражения персонала.

Необходимо проявлять осторожность при работе с хромогенами, входящими в состав субстратного раствора, так как они обладают потенциальными канцерогенными свойствами. Отработанные наконечники для пипеток, пробирок, иммунологические панели должны инактивироваться замачиванием в течение не менее 3 ч в 3% растворе инкрасепта 10А или 2,5% растворе комбинированного дезинфектанта поверхности или других дезинфектантах широкого спектра действия.

ВОЗМОЖНЫЕ ОСЛОЖНЕНИЯ И ОШИБКИ ПРИ ПРОВЕДЕНИИ ИФА И ПУТИ ИХ УСТРАНЕНИЯ

Постановка ИФА должна выполняться в соответствии с инструкциями, прилагаемыми к наборам.

Целесообразно используемые растворы и компоненты (за исключением конъюгата) предварительно выдерживать 20–30 мин при температуре 22–25° С.

Для разведения сывороток необходимо применять разовые наконечники одной конфигурации и один и тот же микродозатор.

Необходимо избегать контакта субстратной смеси с остатками моющих веществ, так как они могут вызывать ее неконтролируемое окрашивание.

Успех постановки теста зависит прежде всего от качества и сохранности конъюгата, поэтому особое внимание надо уделить выполнению условий его хранения.

Формирование групп риска по туберкулезу с использованием метода иммуноферментного анализа ...

Из-за того, что скорость развития окраски субстратной смеси в лунках зависит от температуры помещения (замедляется при снижении или ускоряется при повышении) важно выполнять тест при относительно постоянной температуре 18–22° С, а также визуально контролировать появление окраски в контролях и соотношение интенсивности окраски отрицательного и положительного контроля.

Противопоказаний для обследования методом ИФА нет.