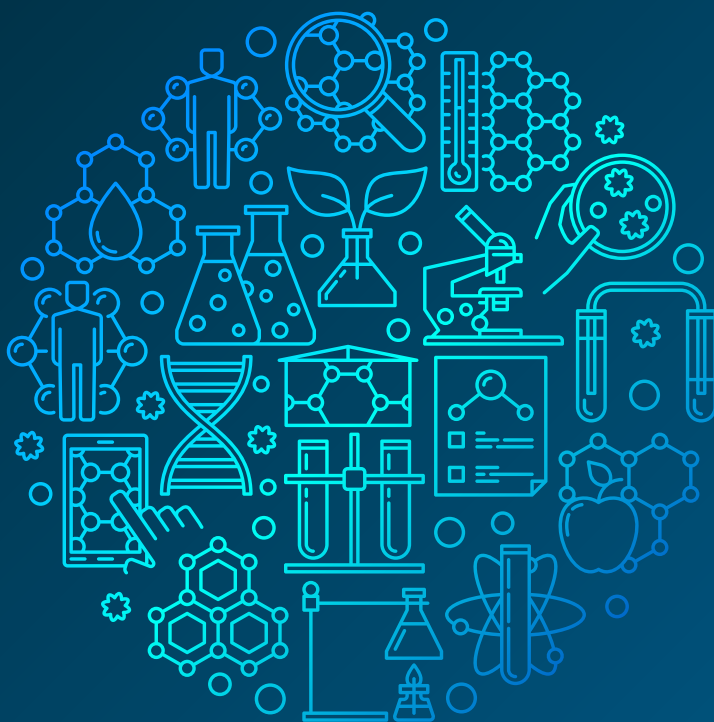




Всемирная организация  
здравоохранения

Европейское региональное бюро

## Алгоритм лабораторной диагностики и мониторинга лечения туберкулеза легких и туберкулеза с лекарственной устойчивостью на основе применения современных быстрых молекулярных методов



Экспертное заключение членов основной группы Европейской лабораторной инициативы, подготовленное для Европейского региона ВОЗ





**Всемирная организация  
здравоохранения**

**Европейское** региональное бюро

# **Алгоритм лабораторной диагностики и мониторинга лечения туберкулеза легких и туберкулеза с лекарственной устойчивостью на основе применения современных быстрых молекулярных методов**

Экспертное заключение членов основной группы Европейской  
лабораторной инициативы, подготовленное для Европейского региона ВОЗ

## Ключевые слова

TUBERCULOSIS, PULMONARY  
– DIAGNOSIS  
TUBERCULOSIS, MULTIDRUG-  
RESISTANT – DIAGNOSIS  
CLINICAL LABORATORY TECHNIQUES  
DIAGNOSTIC TECHNIQUES AND  
PROCEDURES  
EUROPE

Запросы относительно публикаций  
Европейского регионального бюро  
ВОЗ следует направлять по адресу:

Publications  
WHO Regional Office for Europe  
UN City, Marmorvej 51  
DK-2100 Copenhagen Ø, Denmark

Кроме того, запросы на  
документацию, информацию по  
вопросам здравоохранения или  
разрешение на цитирование или  
перевод документов ВОЗ можно  
заполнить в онлайн-режиме на  
сайте Регионального бюро: [http://  
www.euro.who.int/pubrequest](http://www.euro.who.int/pubrequest)

Графика обложки: Venomous Vectors,  
Shutterstock  
Фото на странице vi: Paulista, Shutterstock

## © Всемирная организация здравоохранения 2017






Все права защищены. Европейское региональное бюро  
Всемирной организации здравоохранения беспрепятственно  
принимает запросы на копирование или перевод своих  
публикаций частично или полностью.

Обозначения, используемые в настоящей публикации, и  
приводимые в ней материалы не отражают какого-либо мнения  
Всемирной организации здравоохранения относительно  
юридического статуса какой-либо страны, территории,  
города или района или их органов власти, либо относительно  
делимитации их границ. Пунктирные линии на географических  
картах обозначают приблизительные границы, в отношении  
которых пока еще может не быть достигнуто согласие.

Упоминание конкретных компаний или некоторых изготовителей  
не означает, что Всемирная организация здравоохранения  
поддерживает или рекомендует их, отдавая им предпочтение по  
сравнению с другими компаниями или продуктами аналогичного  
характера, не упомянутого в тексте. За исключением случаев,  
когда имеются ошибки и пропуски, названия патентованных  
продуктов выделяются начальными прописными буквами.

Всемирная организация здравоохранения приняла все  
разумные меры предосторожности для проверки информации,  
содержащейся в настоящей публикации. Тем не менее,  
опубликованные материалы распространяются без какой-  
либо четко выраженной или подразумеваемой гарантии.  
Ответственность за интерпретацию и использование  
материалов ложится на пользователей. Всемирная организация  
здравоохранения ни при каких обстоятельствах не несет  
ответственности за ущерб, причиненный в результате  
использования этих материалов. Мнения, выраженные в данной  
публикации авторами, редакторами или группами экспертов,  
не обязательно отражают решения или официальную политику  
Всемирной организации здравоохранения.

# СОДЕРЖАНИЕ

<b>Благодарность</b> .....	iv
<b>Сокращения</b> .....	iv
<b>Краткий обзор</b> .....	v
 <b>Введение</b> .....	1
<b>Принципы лабораторной диагностики туберкулеза</b> .....	4
 <b>Необходимые предпосылки для создания хорошей лабораторной сети</b> .....	6
 <b>Алгоритмы для лабораторной диагностики и мониторинга состояния больных ТБ и МЛУ-ТБ в процессе лечения</b> .....	8
Алгоритм для первичной лабораторной диагностики у лиц с симптомами, указывающими на туберкулез легких .....	8
Алгоритм мониторинга состояния больных в процессе лечения лекарственно-чувствительного туберкулеза легких . . .	11
Алгоритм мониторинга состояния больных туберкулезом легких с множественной лекарственной устойчивостью и устойчивостью к рифампицину в процессе лечения .....	13
 <b>Практические вопросы, касающиеся диагностического алгоритма</b> .....	15
Предпочтительные диагностические методы .....	16
Интерпретация и сообщение результатов лабораторных исследований .....	18
 <b>Ссылки</b> .....	20
<b>Приложение 1</b> .....	26

## Благодарность

Этот технический документ является результатом совместной работы членов основной группы Европейской лабораторной инициативы (ЕЛИ). Процесс разработки документа проходил под управлением д-ра Masoud Daga (Европейское региональное бюро ВОЗ) и под руководством д-ра Soudeh Ehsani (Европейское региональное бюро ВОЗ), а также членов основной группы ЕЛИ: проф. Francis Drobniowski (Имперский колледж Лондона, Соединенное Королевство), д-р Ирина Фелькер (Новосибирский научно-исследовательский институт туберкулеза, национальный центр передового опыта ВОЗ, Российская Федерация), д-р Sven Hoffner (Агентство здравоохранения Швеции, наднациональная референс-лаборатория, Стокгольм), д-р Гульмира И. Калмамбетова (национальная референс-лаборатория, Кыргызстан), д-р Асмик Маргарян (эксперт по работе противотуберкулезных лабораторий, Армения), г-н Евгений Сагальчик (IML red GmbH, наднациональная референс-лаборатория, Гаутинг, Германия), д-р Элина Севастьянова (Центральный научно-исследовательский институт туберкулеза, национальный центр передового опыта ВОЗ, Российская Федерация), д-р Наталья Шубладзе (консультант по лабораторной работе, Национальный центр туберкулеза и легочных заболеваний, Национальная микобактериологическая референс-лаборатория, Грузия), г-жа Нукра Синавбарова (Национальная лаборатория общественного здравоохранения, Таджикистан), д-р Елена Скрыгина (Республиканский научно-практический центр пульмонологии и фтизиатрии, Беларусь), д-р Расим Таирли (Сотрудничающий центр ВОЗ по профилактике и контролю туберкулеза в пенитенциарной системе, Азербайджан), бывший член секретариата основной группы ЕЛИ д-р Kristin Kremer, а также бывший член основной группы ЕЛИ: д-р Sabine Rüsч-Gerdes (старший консультант ВОЗ).

Технические комментарии и/или обзор подготовили д-р Christopher Gilpin (штаб-квартира ВОЗ), г-н Wayne Van Gemert (штаб-квартира ВОЗ) и члены регионального комитета «Зеленый свет»: д-р Gunta Dravniece (старший консультант, Группа доступа к медицинской помощи, технический отдел, Фонд для борьбы с туберкулезом KNCV) и д-р Эльмира Гурбанова (Сотрудничающий центр ВОЗ по профилактике и контролю туберкулеза в пенитенциарной системе, Азербайджан).

Подготовка и публикация документа стали возможными при финансовой поддержке со стороны Агентства США по международному развитию.

## Сокращения

ВР	второй ряд (противотуберкулезных препаратов)	ПР	первый ряд (противотуберкулезных препаратов)
ДИ	байесовский доверительный интервал	ППР	прогностическая ценность
ДТ	дикий тип		положительного результата
ЕЛИ	Европейская лабораторная инициатива по туберкулезу	ТБ	туберкулез
ИПВР	инъекционный препарат второго ряда	У	устойчивость
КУМ	кислотоустойчивые микобактерии	Ч	чувствительность
ЛУ-ТБ	туберкулез с лекарственной устойчивостью возбудителя	ШЛУ-ТБ	туберкулез с широкой лекарственной устойчивостью возбудителя
МЛУ-ТБ	туберкулез с множественной лекарственной устойчивостью возбудителя	СМ	распространенные микобактерии
МБТ	микобактерии туберкулеза	ESTC	Стандарты Евросоюза для противотуберкулезной помощи
МИК	минимальные ингибирующие концентрации	FLQ	фторхинолоны
МУТ	мутации	INH	изониазид
М/ШЛУ-ТБ	туберкулез с множественной и широкой лекарственной устойчивостью возбудителя	ISTC	Международные стандарты противотуберкулезной помощи
НРЛ	национальная референс-лаборатория	LAMP	петлевая изотермическая амплификация
НТМ	нетуберкулезные микобактерии	LED	светоизлучающий диод
ТЛЧ	тестирование лекарственной чувствительности	LPA	анализ молекулярной гибридизации с типоспецифичными зондами
гТЛЧ	генотипический тест на лекарственную чувствительность	MGIT	пробирка с индикатором роста микобактерий MGIT
фТЛЧ	фенотипический тест на лекарственную чувствительность	MODS	метод микроскопического наблюдения за лекарственной чувствительностью
		RIF	рифампицин
		NRA	нитратредуктазная реакция



## Краткий обзор

Европейская лабораторная инициатива по туберкулезу (ЕЛИ) совместно с секретариатом в Европейском региональном бюро ВОЗ разработала этот технический документ для удовлетворения потребностей в проведении более своевременного и точного выявления туберкулеза (ТБ), в том числе – туберкулеза с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ-ТБ) в Европейском регионе ВОЗ путем расширения масштабов надлежащего применения быстрых молекулярных методов диагностики, рекомендованных ВОЗ. В документе представлены комплексные алгоритмы диагностики и мониторинга лечения туберкулеза легких и МЛУ-ТБ, с использованием быстрых молекулярных методов, рекомендованных ВОЗ. Благодаря всецелой приверженности государств-членов и постоянной поддержке со стороны доноров и партнеров, большая часть методов уже внедрена в практику большинства стран Региона, особенно в странах с высоким бременем МЛУ-ТБ. Тем не менее, для получения максимальной пользы от каждого метода необходимо обеспечить проведение ряда соответствующих, точно спланированных по времени лабораторных исследований, а также правильную интерпретацию и передачу результатов лабораториями в помощь лечащим врачам. Для эффективной работы и действенных результатов необходимо использовать устойчивые финансовые и кадровые ресурсы в интересах развития возможностей проведения лабораторных исследований, оптимизации транспортировки лабораторных образцов и передачи данных. Предлагаемый документ посвящен решению этих задач с учетом существующих проблем и возможностей стран региона.









# Введение

Туберкулез (ТБ) служит причиной более 40% всех случаев смерти от инфекционных заболеваний в Европейском регионе ВОЗ и является наиболее распространенной причиной смерти среди людей, живущих с ВИЧ (1, 2)

Несмотря на то, что на долю Европейского региона ВОЗ приходится менее 5% случаев туберкулеза, регистрируемых по всему миру, здесь сосредоточено около 25% мирового бремени туберкулеза с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ-ТБ) (3).

Из 30 стран, относящихся к странам с высоким бременем МЛУ-ТБ, девять расположены в Европейском регионе (Азербайджан, Беларусь, Казахстан, Кыргызстан, Республика Молдова, Российская Федерация, Таджикистан, Узбекистан и Украина). В состав Региона входят 18 стран высокого приоритета по туберкулезу, список которых был определен в 2008 г. (3, 4); 99% случаев МЛУ-ТБ в Регионе возникает в этих странах (5).

Из 30 стран, относящихся к странам с высоким бременем МЛУ-ТБ, девять расположены в Европейском регионе (Азербайджан, Беларусь, Казахстан, Кыргызстан, Республика Молдова, Российская Федерация, Таджикистан, Узбекистан и Украина). В состав Региона входят 18 стран высокого приоритета по туберкулезу, список которых был определен в 2008 г.; 99% случаев МЛУ-ТБ в Регионе возникает в этих странах.



В состав Региона входят страны с высоким, средним и низким уровнем доходов и многообразными национальными структурами систем здравоохранения для реализации противотуберкулезных мероприятий. Согласно последним данным из Региона, распространенность МЛУ-ТБ среди новых случаев туберкулеза достигает 16% и 48% - среди ранее леченных больных (3, 6). По оценкам, случаи туберкулеза с широкой лекарственной устойчивостью (ШЛУ-ТБ) возникают у 23,4% всех случаев МЛУ-ТБ, подлежащих тестированию на лекарственную чувствительность к препаратам второго ряда (6). В 2015 г. показатель успешного лечения составил 76% для новых случаев и рецидивов туберкулеза, 63% – для ранее леченных больных (за исключением рецидивов), и 51% – в когортах больных с устойчивостью к рифампицину/МЛУ-ТБ (6). В 2015 г. вместе с разработкой многообещающей глобальной стратегии на период после 2015 г. «Ликвидировать эпидемию туберкулеза», Европейское региональное бюро подготовило План действий по борьбе с туберкулезом для Европейского региона ВОЗ на период с 2016 по 2020 гг., который имеет целью продолжать движение вперед и решать проблемы в области выявления, профилактики ТБ и М/ШЛУ-ТБ и оказания противотуберкулезной помощи (5, 6, 8).

Необходимо проделать большую работу для достижения целевых ориентиров, определенных в Плане действий на 2016-2020 гг. в отношении лабораторной диагностики туберкулеза в Регионе, особенно это касается надлежащего применения методов молекулярной диагностики, повышения выявления случаев МЛУ-ТБ и охвата тестированием лекарственной чувствительности (ТЛЧ) к препаратам второго ряда гарантированного качества среди случаев МЛУ-ТБ. По данным отчетности, в настоящее время в общей сложности около 311 910 случаев заболевания туберкулезом зарегистрировано в 51 стране Региона (6). Бактериологическое подтверждение диагноза туберкулеза было получено для 61,4% всех новых случаев и рецидивов туберкулеза легких в Регионе, а в четырех странах этот показатель оказался на уровне ниже 50% (5, 6). По сравнению с региональным целевым ориентиром – диагностировать не менее 85% случаев, было выявлено лишь 57,9% от расчетных 74 000 случаев МЛУ-ТБ (6, 8)

В 2015 г. охват тестированием чувствительности к рифампицину (RIF) среди больных туберкулезом легких с лабораторным подтверждением диагноза составил 44% для новых случаев и 49% для ранее леченных случаев. Охват ТЛЧ к препаратам второго ряда среди подтвержденных случаев туберкулеза с лекарственной устойчивостью возбудителя составил 52,2% (3). Хотя охват ТЛЧ значительно увеличился, для достижения целевого ориентира – проводить ТЛЧ почти для 100% всех случаев с лабораторным подтверждением диагноза к 2020 г. – необходимо безотлагательно расширять масштабы тестирования и использования быстрых молекулярных методов, рекомендованных ВОЗ. Для устранения пробелов в лабораторной диагностике туберкулеза в Регионе, особенно в девяти странах с высоким бременем МЛУ-ТБ, также требуются более четкие методические указания и активная публичная защита и содействие.

В ответ на необходимость укрепления лабораторного потенциала для проведения точной диагностики и раннего выявления туберкулеза с лекарственной устойчивостью (ЛУ-ТБ) в Регионе, а также для обеспечения реализации региональных планов действий (8, 9), в 2012 г. Европейское региональное бюро ВОЗ учредило Европейскую лабораторную инициативу по туберкулезу (ЕЛИ) (10). Миссия ЕЛИ состоит в укреплении потенциала лабораторий,

проводящих исследования на туберкулез в Регионе, с особым вниманием к 18 странам высокого приоритета по туберкулезу. Членами ЕЛИ являются национальные и международные эксперты по лабораторной диагностике ТБ Региона, а также международные партнеры, посвятившие свою деятельность ускорению и расширению доступа к диагностическим лабораторным услугам гарантированного качества. В составе ЕЛИ существует основная группа членов, выступающих в качестве независимой технической консультативной группы поддержки, оказываемой ВОЗ и партнерам (10).

*По сравнению с региональным целевым ориентиром – диагностировать не менее 85% случаев, было выявлено лишь 57,9% от расчетных 74 000 случаев МЛУ-ТБ*

ЕЛИ разрабатывала диагностический алгоритм, принимая во внимание существенную неоднородность Региона. Алгоритм гармонично сочетает в себе различные типы тестов, обеспечивая надлежащую целенаправленную работу с группами пациентов. Он поможет наиболее эффективно использовать имеющиеся ресурсы путем извлечения максимальной пользы из их сильных сторон и смягчения слабых сторон (11, 12). Проект алгоритма, разработанного членами предыдущей основной группы (2012-2014 гг.), был пересмотрен в течение и после последнего совещания основной группы ЕЛИ, проведенного в Копенгагене, Дания, 25 февраля 2016 г. (13). Алгоритм был доработан и согласован в ходе совещания членов основной группы ЕЛИ в Тбилиси 30 ноября и 2 декабря 2016 г. и изложен в этом документе.

Представленные здесь рекомендации учитывают и дополняют ранее опубликованные рекомендованные стандарты для современных противотуберкулезных лабораторных служб, в том числе Глобальную рамочную основу политики ВОЗ в отношении проведения диагностики туберкулеза, Стандарты Евросоюза для противотуберкулезной помощи (ESTC) и Международные стандарты для противотуберкулезной помощи (11, 14, 15). В целях отражения современных условий и практик Европейского Союза, Международные стандарты были соответствующим образом адаптированы для создания стандартов Евросоюза (11). Стандарты Евросоюза основываются на предыдущих рекомендациях в отношении лабораторных методов диагностики туберкулеза (16) и предлагают следующее:

В странах, определенных условиях или популяциях, где предполагают наличие МЛУ-ТБ у больного, необходимо применять методы быстрого тестирования для выявления устойчивости к рифампицину и изониазиду, используя проверенные средства, которыми располагают лаборатории, проводящие тестирование гарантированного качества.

Для гарантии проведения быстрой диагностики туберкулеза во всем Регионе ЕЛИ предлагает дальнейшее расширение этого стандарта с использованием быстрых методов молекулярной диагностики, которые должны применяться во всех странах Региона в качестве первоначального метода для всех случаев с клиническими признаками, указывающими на туберкулез. При столь высоких показателях МЛУ-ТБ в Восточной Европе каждый предполагаемый случай туберкулеза также может быть случаем МЛУ-ТБ.



# Принципы лабораторной диагностики туберкулеза

Лабораторную диагностику туберкулеза следует начинать с соответствующих процедур скрининга для выявления лиц с клиническими признаками туберкулеза

Необходимо обеспечить наличие в стране определенных лабораторных тестов и диагностических алгоритмов, разработанных с учетом местной эпидемиологической ситуации. Ограниченность ресурсов будет означать лишь замедление реализации рекомендации по их внедрению.

Быстрые диагностические тесты, одобренные ВОЗ, должны быть ключевыми в диагностическом обследовании всех лиц с предполагаемым туберкулезом (17). Для диагностики легочного ТБ, МЛУ-ТБ, ВИЧ-ассоциированного ТБ и туберкулезного менингита странам следует отдавать предпочтение рекомендуемым быстрым молекулярным тестам вместо традиционных методов: микроскопии, посевов и ТЛЧ (17). Это позволит обеспечить доступность ранней и точной диагностики. Традиционную микроскопию следует использовать в качестве начального диагностического теста только в лабораторных условиях без возможностей проведения быстрых молекулярных тестов и при отсутствии систем для своевременной транспортировки лабораторных образцов туда, где эти методы доступны.

В условиях высокого риска передачи ТБ и/или МЛУ-ТБ (например, пенитенциарные учреждения стран бывшего Советского Союза), ежегодный скрининг мокроты методом ПЦР\* (GeneXpert MTB /RIF) продемонстрировал большую экономическую эффективность для снижения показателей ТБ и МЛУ-ТБ по сравнению с традиционными методами (18).

При расхождении результатов традиционных и молекулярных тестов для исключения технических ошибок рекомендуется повторить исследования того же или нового образца, полученного от того же пациента. В случае подтвержденного расхождения результатов исследования микроскопии и молекулярных тестов лаборатория должна сообщить лечащему врачу результат молекулярного теста, а не микроскопии по причине более высокой чувствительности и специфичности молекулярных тестов по сравнению с исследованиями микроскопии.

При получении положительного результата культурального исследования после отрицательных результатов исходных молекулярных тестов и исследований микроскопии, о получении положительного результата посева также необходимо сообщить клиницисту (поскольку существует определенная доля образцов, для которых посев остается наиболее чувствительным исследованием). Предлагаемая таблица в Приложении 1 разработана в помощь интерпретации и объяснения всех потенциальных расхождений в результатах, хотя большинство таких случаев возникает крайне редко. Таблицу также можно использовать в помощь лабораториям при объяснении лечащим врачам расхождений или противоречивых результатов тестов.

*Быстрые диагностические тесты, одобренные ВОЗ, должны быть ключевыми в диагностическом обследовании всех лиц с предполагаемым туберкулезом*



## Необходимые предпосылки для создания хорошей лабораторной сети

Для работы лабораторий страны должны располагать достаточным финансированием, хорошо подготовленными кадрами, а также иметь план проведения технического обслуживания и развития лабораторий *(19)*

Лаборатории должны иметь соответствующую инфраструктуру, оборудование и доступ к регулярному техническому обслуживанию оборудования и инфраструктуры, а также осуществлять меры биологической безопасности. Необходимо обеспечивать надлежащее управление лабораторными расходными материалами и правильно регистрировать лабораторные данные, предпочтительно в электронном формате. В идеале, лаборатория должна иметь четко прописанную отдельную строку бюджета в рамках бюджета программы/больницы.

Механизмы транспортировки и направления образцов внутри лабораторной сети должны быть хорошо описаны и подкреплены четкой организацией транспорта на местах. Образцы для лабораторных исследований, полученные от пациентов и хранящиеся в подходящих для этого безопасных контейнерах, можно перевозить в большинстве транспортных средств, используемых в системе здравоохранения, для увеличения частоты перевозок и сокращения задержек в транспортировке; необходимо отслеживать качество образцов, прибывающих в лабораторию *(15, 20, 21)* и иметь в наличии систему управления качеством лабораторных исследований, соответствующую рекомендациям ВОЗ.

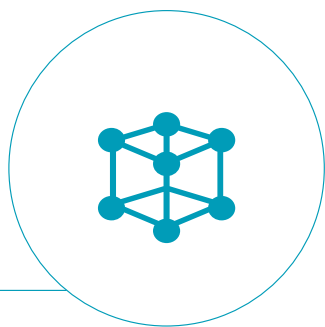


При выборе метода лабораторной диагностики следует руководствоваться категорией пациента (новый случай, рецидив заболевания или ранее леченный случай), целью исследования (для диагностики или определения успешности лечения) и оценкой индивидуальных факторов риска пациента (например, ВИЧ-инфекция или риск МЛУ-ТБ). Эта информация должна быть зафиксирована на бланке направления в лабораторию вместе с указанием запрашиваемых лабораторных исследований для гарантии проведения наиболее целесообразных, результативных и экономически эффективных лабораторных исследований, для облегчения интерпретации противоречивых результатов и взаимодействия между лечащими врачами и сотрудниками лаборатории. Частое повторное проведение ТЛЧ, как правило, оказывается излишним и часто бесполезным. После выявления МЛУ-ТБ у больного последующее повторное тестирование чувствительности к изониазиду (INH) и рифампицину (RIF) будет нецелесообразным.

*Аналогичным образом, анализы гибридизации с типоспецифичными зондами (LPA) следует проводить в лабораториях регионального и центрального уровня ввиду сложности анализа и требуемой инфраструктуры*

Обновленное руководство с подробными рекомендациями по биологической безопасности было опубликовано Всемирной организацией здравоохранения в 2012 г. (22). Текущие рекомендации основаны на оценке рисков, связанных с различными техническими процедурами, выполняемыми в противотуберкулезных лабораториях разного типа. Культуральные исследования и ТЛЧ рекомендуется проводить только в лабораториях регионального и центрального уровня, которые отвечают соответствующим стандартам биологической безопасности (22).

Аналогичным образом, анализы гибридизации с типоспецифичными зондами (LPA) следует проводить в лабораториях регионального и центрального уровня (или в любой лаборатории, которая в настоящее время в работе с инфекционными возбудителями использует неавтоматизированные методы амплификации на основе ПЦР, поскольку инфраструктура будет такой же) ввиду сложности анализа и требуемой инфраструктуры (23). Многие страны Региона следуют принципу направления пациентов (а не лабораторных образцов) в специализированные противотуберкулезные центры или больницы для подтверждения диагноза туберкулеза. С использованием рекомендованных ВОЗ быстрых молекулярных методов для первичной диагностики туберкулеза и МЛУ-ТБ на уровне области или района (24,25) можно достичь высокоспецифичной диагностики туберкулеза и на более низком уровне системы здравоохранения, что может позволить странам ускорить процесс диагностики, применять наиболее эффективные меры инфекционного контроля и одновременно с этим двигаться по пути амбулаторного лечения больных туберкулезом (9).



# Алгоритмы для лабораторной диагностики и мониторинга состояния больных ТБ и МЛУ-ТБ в процессе лечения

В этом документе предложено три алгоритма:

1. для первичной диагностики всех предполагаемых случаев туберкулеза;
2. для мониторинга состояния больных в процессе лечения противотуберкулезными препаратами первого ряда;
3. для мониторинга состояния больных МЛУ-ТБ в процессе лечения (см. Рис. 1–3).

В зависимости от ограничения в ресурсах и/или возможностях проведения молекулярной диагностики, можно использовать другие алгоритмы для различных групп пациентов, тщательно оценивая риски. Для диагностики пациентов с предполагаемым наличием легочного МЛУ-ТБ и/или ВИЧ-ассоциированного ТБ и/или туберкулезного менингита предпочтение должно отдаваться молекулярным диагностическим тестам и посевам на жидких средах.

## Алгоритм для первичной лабораторной диагностики у лиц с симптомами, указывающими на туберкулез легких

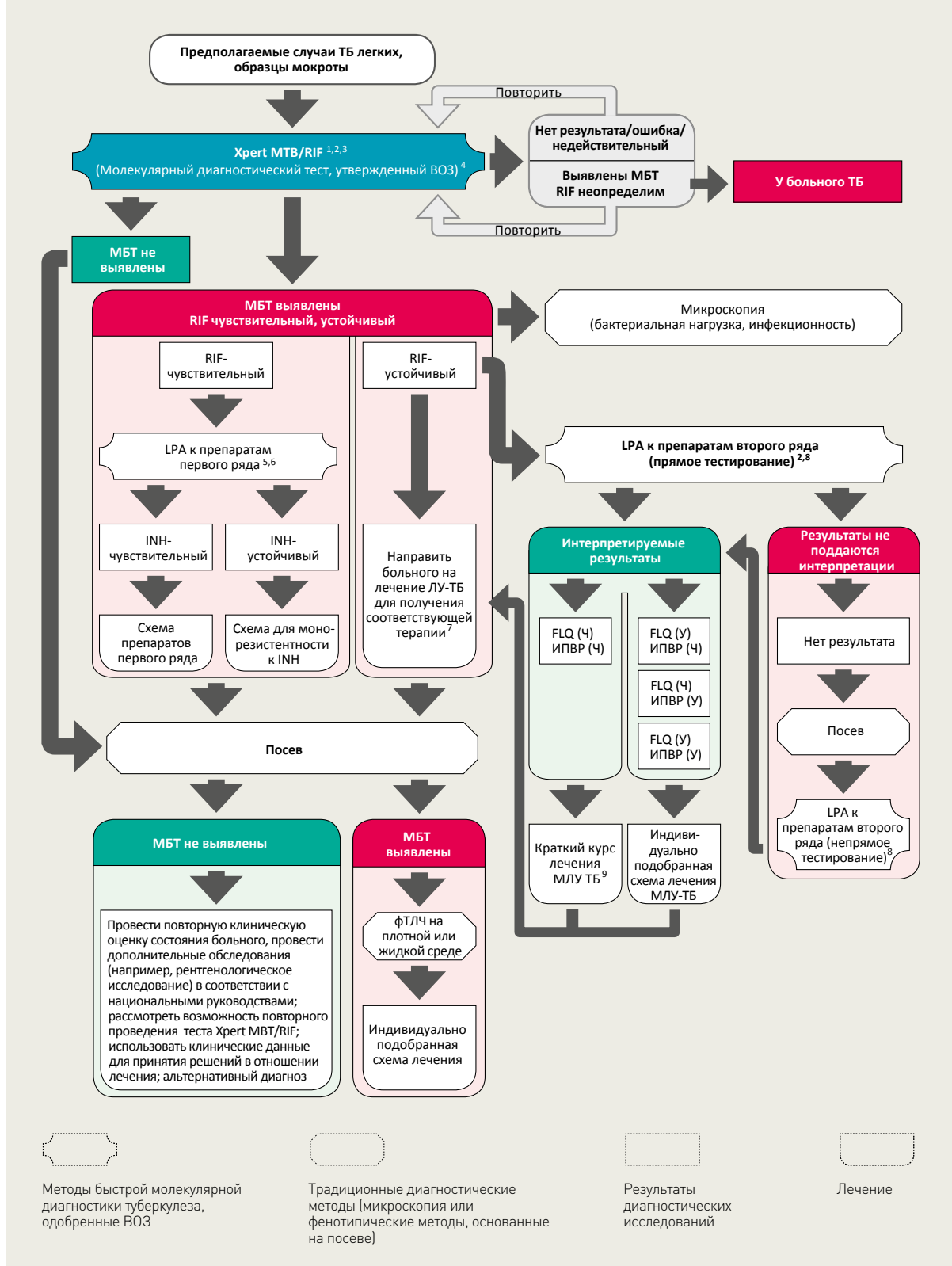
Алгоритм начинается с направления двух образцов мокроты (желательно с включением утреннего образца) на молекулярный диагностический тест, одобренный ВОЗ, и одного образца – на посев (рис. 1).

- Только при получении положительного результата быстрого молекулярного теста последующее проведение микроскопии мазка мокроты может быть полезным для оценки бактериальной нагрузки и степени контагиозности пациента. Результаты молекулярных

тестов следует доводить до сведения лечащего врача, не дожидаясь результатов посева. В случае получения отрицательного результата анализа GeneXpert MTB/RIF проведение микроскопии мокроты не требуется, и образец следует направлять только на посев (поскольку для выявления туберкулеза посев все еще является более чувствительным методом исследования).

- Образцы с положительным результатом посева подлежат дальнейшей идентификации, а культуры с установленной принадлежностью к комплексу микобактерий туберкулеза (*M. tuberculosis*) – направлению на тестирование лекарственной чувствительности (ТЛЧ). Если получен отрицательный результат молекулярного теста, а также отрицательный результат посева, необходимо провести дальнейшие клинические и другие лабораторные исследования, неспецифичные для туберкулеза.
- Если молекулярный тест выявил чувствительность к рифампицину, и есть возможность проведения LPA-анализа к препаратам первого ряда, его необходимо провести для выявления случаев с монорезистентностью к изониазиду. При выявлении устойчивости к изониазиду следует начинать лечение по схеме для больных с монорезистентностью к изониазиду. Если отсутствует возможность проведения LPA-анализа к препаратам первого ряда или не выявлена устойчивость к изониазиду, следует начинать лечение препаратами первого ряда. В обоих случаях необходимо провести культуральные исследования с последующим фенотипическим тестированием лекарственной чувствительности (фТЛЧ). Проведение быстрого молекулярного теста для выявления лекарственной устойчивости, рекомендованного ВОЗ (например, Xpert или LPA), на первичных образцах сокращает задержку в получении результатов тестирования фенотипической чувствительности.
- В случае подтверждения устойчивости к рифампицину (при наличии или отсутствии устойчивости к изониазиду) рекомендуется перевести больного на лечение в соответствующее учреждение для начала лечения ЛУ-ТБ и провести LPA-анализ для препаратов второго ряда (26): эта рекомендация касается прямого тестирования образцов мокроты больных с рифампицин-устойчивым туберкулезом или МЛУ-ТБ вне зависимости от результата микроскопии мазка мокроты, однако следует учитывать, что частота получения неопределенных результатов оказывается выше при исследовании образцов мокроты с отрицательным результатом микроскопии в сравнении с образцами, имеющими положительный результат микроскопии мазка (26). LPA-анализ для препаратов второго ряда подходит для использования в лабораториях на центральном или национальном уровне; существуют возможности для его проведения на региональном уровне при наличии надлежащей инфраструктуры и обученного персонала (26).
- При получении положительного результата посева необходимо провести фТЛЧ к препаратам первого и второго ряда вне зависимости от результатов LPA для препаратов второго ряда у больных с отрицательными и положительными результатами этого анализа. Такая оптимизация сокращает задержку начала лечения по режиму М/ШЛУ-ТБ. В зависимости от результатов LPA-анализа (для препаратов первого и второго ряда) необходимо начинать соответствующее лечение и при необходимости корректировать его после получения результатов фТЛЧ.
- Результаты LPA-анализа для препаратов второго ряда, которые ведут к исключению устойчивости к фторхинолонам (FLQ) и инъекционным препаратам второго ряда (ИПВР), означают возможность применения более короткого режима лечения МЛУ-ТБ при условии соблюдения остальных критериев (27).

Рис. 1. Алгоритм для первичной лабораторной диагностики лиц с симптомами, указывающими на туберкулез легких



## ← Сноски к Рис. 1

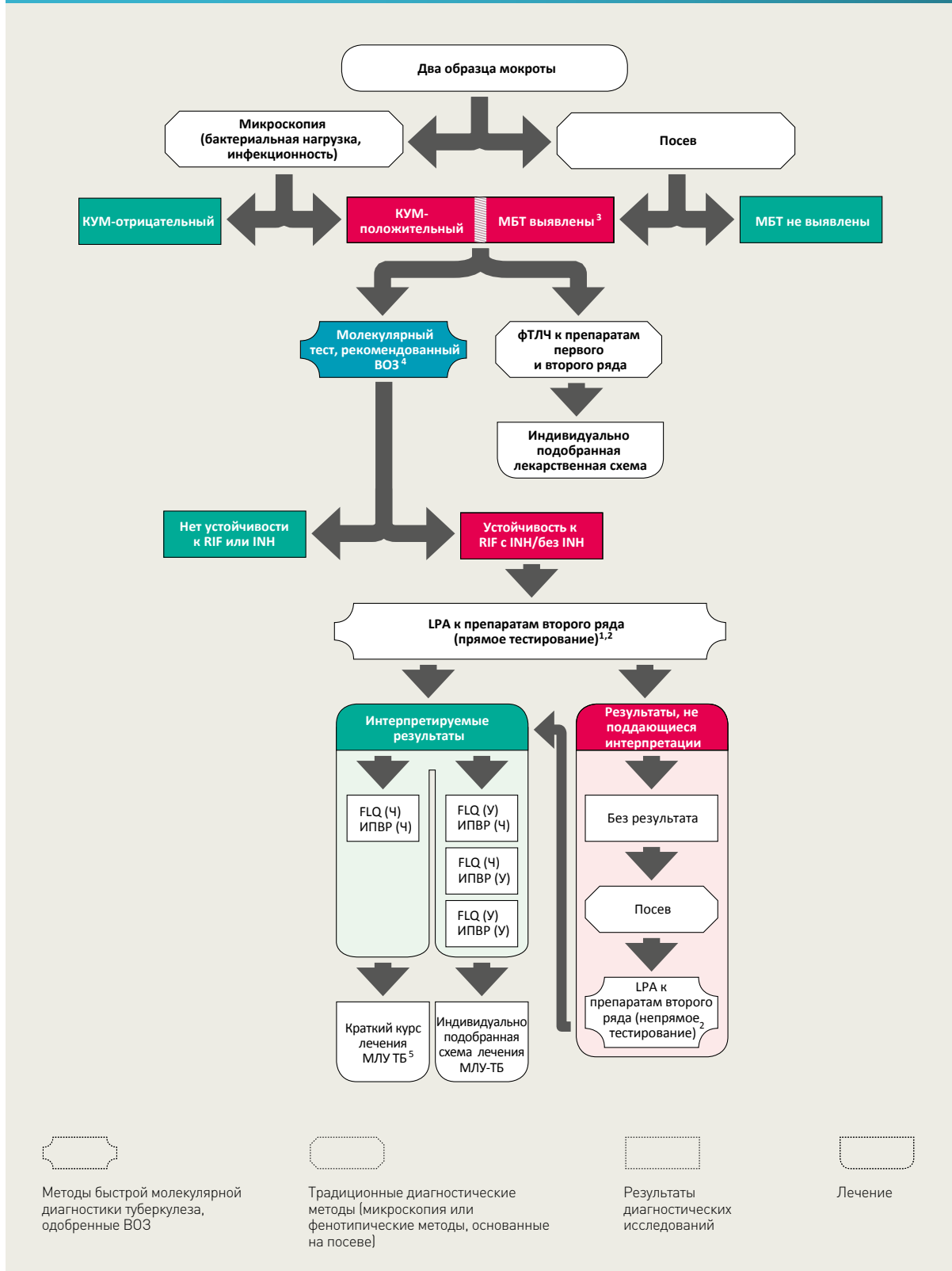
- 1 О результатах молекулярных тестов следует сообщать лечащему врачу, не дожидаясь результатов посева
- 2 Проведение быстрого молекулярного теста на первичных образцах мокроты для выявления лекарственной устойчивости (например, Xpert или LPA) сокращает задержку с получением соответствующих результатов фенотипического теста на лекарственную чувствительность
- 3 При отсутствии возможности проведения анализа Xpert MTB/RIF, в качестве исходного теста можно использовать микроскопию мазка, а образцы следует безотлагательно направлять в лабораторию, которая располагает возможностями проведения молекулярных тестов, рекомендованных ВОЗ, в дополнение к посевам.
- 4 При отсутствии возможностей проведения анализа Xpert/RIF и доступности LPA к препаратам первого ряда этот тест следует проводить для образцов с положительным результатом микроскопии мокроты для выявления устойчивости к рифампицину и дополнительно – к изониазиду. В случае выявления устойчивости к изониазиду этим нужно руководствоваться в дальнейшей диагностике и в процессе принятия клинических решений в отношении лечения.
- 5 Проводить, когда LPA-анализ к препаратам первого ряда доступен, но еще не выполнен.
- 6 При отсутствии возможностей проведения LPA к препаратам первого ряда предлагается начинать лечение препаратами первого ряда и корректировать его после получения дополнительных результатов ТЛЧ.
- 7 Если в течение одной недели результаты LPA к препаратам второго ряда не будут получены, можно начинать эмпирическое лечение МЛУ-ТБ
- 8 LPA к препаратам второго ряда проводить в референс-лабораториях центрального или национального уровня или регионального уровня при наличии соответствующей инфраструктуры.
- 9 Согласно критериям соответствия

## Алгоритм мониторинга состояния больных в процессе лечения лекарственно-чувствительного туберкулеза легких

Этот алгоритм представлен на рисунке 2.

- Предлагаются ежемесячные микроскопические и культуральные исследования двух образцов мокроты в течение интенсивной фазы и сразу после ее завершения (на втором месяце для новых случаев и на третьем месяце для ранее леченных случаев), а также во время пятого и последнего месяца лечения согласно временным рамкам протокола лечения в конкретной стране.
- В случае получения положительного результата микроскопии и/или посева мокроты после двух месяцев лечения рекомендуется выполнить одобренный ВОЗ молекулярный тест и ТЛЧ.
- Если молекулярные тесты, одобренные ВОЗ (X-pert, LPA-анализ для препаратов первого ряда), указывают на устойчивость к рифампицину (при наличии или отсутствии устойчивости к изониазиду), необходимо провести LPA- анализ для препаратов второго ряда. Результаты LPA-анализа для препаратов второго ряда, которые ведут к исключению устойчивости к фторхинолонам (FLQ) и инъекционным препаратам второго ряда (ИПВР), означают возможность применения более короткого режима лечения МЛУ-ТБ при условии соблюдения остальных критериев [27].
- При получении результатов посева и теста на чувствительность к рифампицину (с использованием молекулярных тестов, одобренных ВОЗ) необходимо одновременно провести фТЛЧ к препаратам первого и второго ряда.

Рис. 2. Алгоритм мониторинга состояния больных в процессе лечения лекарственно-чувствительного туберкулеза легких





## ← Сноски к Рис. 2

- 1 Проведение быстрого молекулярного теста на первичных образцах мокроты для выявления лекарственной устойчивости (например, Xpert или LPA) сокращает задержку с получением соответствующих результатов фенотипического теста на лекарственную чувствительность
- 2 LPA к препаратам второго ряда подходят для проведения в референс-лабораториях центрального или национального уровня, или регионального уровня при наличии необходимой инфраструктуры.
- 3 Если исследование микроскопии мазка и/или посева дают положительный результат для образца, полученного через два месяца после начала лечения, для подтверждения наличия/отсутствия МБТ и для определения модели лекарственной устойчивости предлагается провести молекулярный тест, рекомендованный ВОЗ, и ТЛЧ.
- 4 До начала проведения молекулярного теста, рекомендованного ВОЗ, необходимо проверить результаты молекулярных тестов для предыдущих изолятов того же пациента для гарантии того, что выбранный молекулярный тест сможет выявить дополнительную устойчивость.
- 5 Согласно критериям соответствия

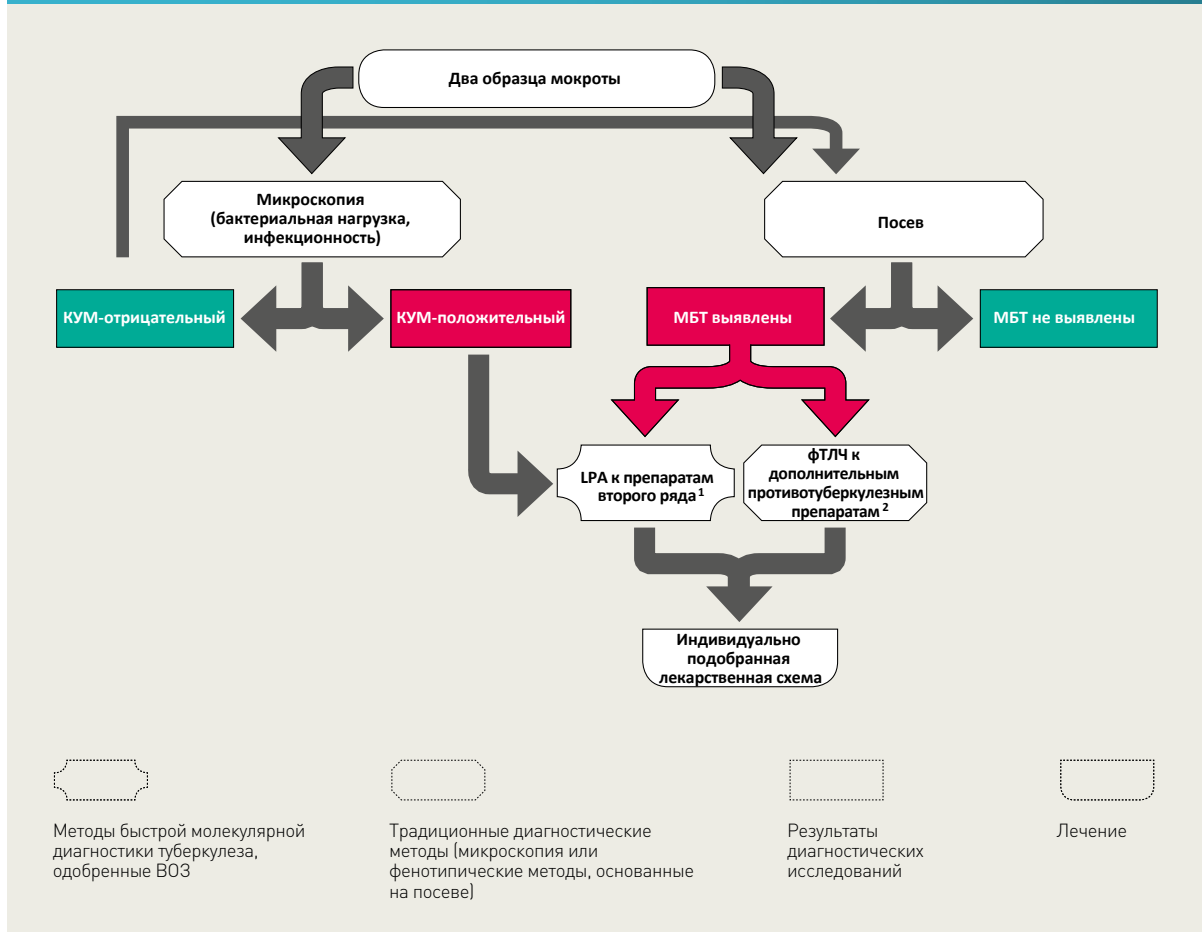
В данном случае цель диагностического тестирования состоит в определении успешности лечения. Проведения повторного ТЛЧ обычно не требуется, за исключением случаев сохранения положительных результатов микроскопии и посева у больного или наличия данных о сопутствующем контакте с больным МЛУ-ТБ (т.е. потенциальная суперинфекция), или ухудшения клинического состояния больного. Лаборатория должна быть информирована о том, что полученный образец прислан для исследования лишь с целью оценки успешности лечения.

## Алгоритм мониторинга состояния больных туберкулезом легких с множественной лекарственной устойчивостью и устойчивостью к рифампицину в процессе лечения

Этот алгоритм представлен на рисунке 3.

- Культуральные и микроскопические исследования 1–2 образцов мокроты следует проводить ежемесячно (начиная с третьего месяца) на протяжении всей интенсивной фазы лечения [28–30].
- После абациллирования по посеву (т.е. после получения двух последовательных отрицательных результатов посева, проведенных с промежутком не менее 30 дней), культуральные исследования можно проводить каждые три месяца, а микроскопию мазка мокроты – ежемесячно [28] или согласно временным рамкам протокола лечения, принятого в стране.
- Если результат микроскопии мазка становится положительным, и когда получен положительный результат посева, следует провести LPA-анализ для препаратов второго ряда и фТЛЧ для дополнительных противотуберкулезных препаратов (нет необходимости повторять исходные тесты на чувствительность к рифампицину, поскольку устойчивость к этому препарату сохранится).

Рис. 3. Алгоритм мониторинга состояния больных с МЛУ-ТБ и устойчивостью к рифампицину в процессе лечения



### Сноски к Рис. 3

1

Проводить, только если ранее не было выявлено устойчивости к препаратам второго ряда (FLQ и инъекционным препаратам второго ряда)

2

Нет необходимости повторять исходные тесты на чувствительность к рифампицину, поскольку устойчивость к препарату сохранится.



# Практические вопросы, касающиеся диагностического алгоритма

Лаборатории разных уровней в лабораторной сети проводят разные исследования. В некоторых странах лаборатории, занимающиеся диагностикой разных инфекций (не туберкулезной) с применением ПЦР, могут располагать инфраструктурой и обученным персоналом для выполнения LPA-анализов, тем более что во многих странах диагностика туберкулеза объединена с клиническими микробиологическими исследованиями по другим заболеваниям

Результаты всех исследований, проводимых на более низких уровнях лабораторной сети, следует направлять в национальную референс-лабораторию (НРЛ) вместе с образцами и/или изолятами культур. Это позволит предотвратить нерациональное дублирование исследований (за исключением некоторой доли образцов, используемых в целях контроля качества). Европейская сеть референс-лабораторий Европейского центра по контролю и профилактике заболеваний опубликовала руководство с подробным описанием методологий тестирования (31).

ВОЗ рекомендует заменять традиционное исследование микроскопии мазка быстрыми молекулярными тестами (такими как GeneXpert MTB/RIF) для проведения первичной диагностики туберкулеза (3, 17, 24, 25, 32). Если ресурсы позволяют, необходимо исследовать два образца для повышения чувствительности теста. Таким образом, микроскопические исследования будут ограничены тестированием образцов, положительных на туберкулез, выявленный с применением быстрых молекулярных методов, для оценки степени инфекционной опасности пациента в целях инфекционного контроля, а также для мониторинга лечения. Продолжение практики проведения микроскопических исследований также позволяет сохранить наработанные навыки в этой сфере на случай, если молекулярные исследования окажутся недоступными.

## Предпочтительные диагностические методы

Несмотря на использование методов молекулярной диагностики, необходимо сохранять потенциал выполнения таких исследований, как микроскопия мазка, посев и ТЛЧ. Исследования микроскопии и посевов особенно важны для мониторинга лечения. Наличие молекулярных диагностических тестов не исключает необходимости проведения традиционных исследований – микроскопии мазка, посева и ТЛЧ; микроскопические и культуральные исследования остаются необходимыми для контроля за лечением. В настоящее время посевы обеспечивают максимальную диагностическую чувствительность, в то время как традиционные ТЛЧ нужны в помощь диагностике ШЛУ-ТБ и позволяют подобрать соответствующую схему лечения больных М/ШЛУ-ТБ. В будущем, в зависимости от эпидемиологической ситуации, потребности в традиционных методах могут измениться.

- Светодиодная люминесцентная микроскопия является рекомендованным методом микроскопии для всех уровней лабораторий (33). Светодиодная и традиционная люминесцентная микроскопия как минимум на 10% более чувствительны, чем микроскопия по методу Циль-Нильсена. Однако при сравнении с традиционной люминесцентной микроскопией светодиодная микроскопия оказывается менее дорогостоящей (33).
- Посевы рекомендуется проводить как на плотных, так и на жидких средах. Посевы на жидких средах более чувствительные и быстрые, чем посевы на плотных средах (результативность повышается на 10%) (34). Результаты посевов на жидких средах можно получить в течение нескольких дней, но они более подвержены контаминации, имеют более высокую стоимость и ассоциированы с повышенным риском биобезопасности.
- При положительных результатах посева, необходимо провести видовую идентификацию изолята для определения принадлежности к комплексу МБТ или к нетуберкулезным микобактериям. Подтверждение принадлежности к комплексу МБТ проводится посредством биохимических тестов, методов молекулярной амплификации или иммунохроматографических анализов. Последние два рекомендованы для видовой идентификации изолятов культур, поскольку они обеспечивают быструю и точную идентификацию микобактерий комплекса МБТ.

Лекарственную устойчивость можно выявить генотипическими и фенотипическими методами. Автоматизированные системы на жидких средах являются золотым стандартом для ТЛЧ к препаратам первого и второго ряда (34). Проведение ТЛЧ требует соблюдения рекомендаций ВОЗ и применения обязательных методов обеспечения качества (29, 34, 35). При проведении ТЛЧ к препаратам второго ряда следует стремиться к включению тестирования чувствительности к аминогликозидам, полипептидам и фторхинолонам, применяемым в стране. Результаты ТЛЧ к этим препаратам имеют хорошую достоверность и воспроизводимость, позволяют проводить диагностику ШЛУ-ТБ гарантированного качества. С внедрением LPA-анализа для препаратов второго ряда с целью выявления устойчивости к фторхинолонам и инъекционным препаратам второго ряда появилась возможность получать результаты устойчивости к этим препаратам в более короткие сроки.

При прямом тестировании LPA-анализ для препаратов второго ряда выявляет 86% больных с устойчивостью к фторхинолонам, 87% – с устойчивостью к инъекционным препаратам второго ряда и 69% – ШЛУ-ТБ; во всех случаях тест редко выдает ложноположительный результат (26). Интерпретируя результаты, следует помнить, что LPA-анализ для препаратов второго ряда не может определить устойчивость к отдельным фторхинолонам. Ведущие к устойчивости мутации, выявленные при помощи LPA-анализа для препаратов второго ряда, в высокой степени коррелируют с фенотипической устойчивостью к офлоксацину и левофлоксацину. Однако остается неясной корреляция этих мутаций с фенотипической устойчивостью к моксифлоксацину и гатифлоксацину, и для включения моксифлоксацина или гатифлоксацина в схему лечения МЛУ-ТБ лучше всего руководствоваться результатами ФТЛЧ (26). Мутации в некоторых регионах генома комплекса МБТ (таких как промоторная область eis) могут быть ответственны за появление устойчивости к одному препарату класса (группы) больше, чем к другим препаратам внутри того же класса (группы). Например, мутация eis C14T ассоциирована с устойчивостью к канамицину в штаммах из Восточной Европы (26).

Некоммерческие методы для посевов и ТЛЧ, включая метод микроскопического наблюдения за лекарственной чувствительностью (MODS), методы с использованием колориметрического окислительно-восстановительного индикатора и нитратредуктазная реакция (NRA), также рекомендованы Всемирной организацией здравоохранения (36). В настоящее время эти тесты рассматривают в качестве промежуточного решения в процессе подготовки к расширению масштабов генотипического тестирования. По сравнению с коммерческими, эти системы дешевле, однако они могут быть более подвержены ошибкам вследствие отсутствия стандартизации; они в большей степени зависят от квалификации оператора и подходят для использования только на уровне референс-лабораторий.

В настоящее время рекомендованные ВОЗ молекулярные диагностические тесты включают LPA-анализ и Xpert MTB/RIF (а также петлевую изотермическую амплификацию (LAMP) только для диагностики туберкулеза). Данные систематических обзоров и мета-анализов указывают на то, что при сравнении с традиционным ТЛЧ, LPA -анализы демонстрируют высокую чувствительность ( $\geq 97\%$ ) и специфичность ( $\geq 99\%$ ) для выявления устойчивости к рифампицину или к комбинации рифампицина и изониазида (чувствительность  $\geq 90\%$ ; специфичность  $\geq 99\%$ ) на изолятах МБТ и образцах с положительным результатом микроскопии мазка мокроты (23, 37, 38).

*При прямом тестировании LPA-анализ для препаратов второго ряда выявляет 86% больных с устойчивостью к фторхинолонам, 87% – с устойчивостью к инъекционным препаратам второго ряда и 69% – ШЛУ-ТБ; во всех случаях тест редко выдает ложноположительный результат*

Всесторонний обзор (17, 32) теста Xpert MTB/RIF для выявления туберкулеза легких, в том числе исследований с участием почти 10 000 человек, показал высокую специфичность теста Xpert MTB/RIF для выявления туберкулеза (99% [95% ДИ 98–99%]). Чувствительность варьировала в зависимости от результата микроскопии мазка мокроты: от 68% [95% ДИ 61–74%] для образцов с отрицательным мазком и положительным посевом до 98% [95% ДИ 97–99%] для образцов с положительным мазком и положительным посевом. Результативность теста Xpert MTB/RIF для выявления внелегочного туберкулеза варьировала в зависимости от типа образца, при этом чувствительность была ниже для плевральной и спинномозговой жидкости (диапазон от 17% до 80%, соответственно), а специфичность – несколько ниже (93% для образцов, полученных из лимфатических узлов, но с хорошей чувствительностью (>81%) и специфичностью (>98%) для других типов образцов (25).

В целом, для выявления устойчивости к рифампицину чувствительность теста Xpert MTB/RIF составляет 95% [95% ДИ 90–97%], а специфичность – 98% [95% ДИ 97–99%]. Тем не менее, когда анализировались результаты исследований отдельно для территорий с разными уровнями устойчивости к рифампицину, чувствительность составляла 96% [95% ДИ 91–98%] для территорий с устойчивостью к рифампицину >15% в тестируемой популяции, и 91% [95% ДИ 79–97%] – для территорий с устойчивостью к рифампицину ≤ 15%. Совокупные значения специфичности составили 97% [95% ДИ 94–99%] и 99% [95% ДИ 98–99%], соответственно (17, 32).

Аналогичные данные были опубликованы в систематическом обзоре с подробным экономическим анализом мероприятий здравоохранения (39). Специфичность Xpert MTB/RIF для выявления туберкулеза очень высока (99%), и ложноположительные результаты Xpert MTB/RIF связаны с выявлением нежизнеспособных микобактерий туберкулеза, не выявляемых посевом, который в настоящее время является эталонным стандартом. Поскольку специфичность Xpert MTB/RIF не составляет 100%, низкая распространенность лекарственно-устойчивого туберкулеза или низкая распространенность туберкулеза в популяциях негативно влияют на прогностическую ценность положительного результата (ППР) тестирования Xpert MTB/RIF на чувствительность к рифампицину. Тестирование на туберкулез обычно не проводится среди бессимптомного населения в целом, а лишь у людей с клиническими признаками туберкулеза и сопровождается скринингом, в который может входить оценка симптомов или результатов рентгенологического исследования органов грудной клетки. Такие скрининговые процедуры повышают показатель распространенности туберкулеза в тестируемой группе и улучшают значение прогностической ценности положительного результата исследования, что сокращает, но не полностью исключает опасений, связанных с ложноположительными результатами (32).

## Интерпретация и сообщение результатов лабораторных исследований

После получения результатов лабораторных тестов, включающих микроскопические исследования, молекулярные тесты, посевы и ТЛЧ, их следует сообщать врачу-клиницисту как можно быстрее, используя для передачи информации все средства коммуникации:



телефон, факс, электронную почту и СМС. Интерпретация результатов лабораторных исследований врачами-лаборантами или специалистами с аналогичной квалификацией крайне важна, особенно в ситуациях, когда результаты оказываются явно несогласующимися или противоречивыми. Впоследствии для предотвращения дальнейшего распространения заболевания и/или развития дополнительной устойчивости потребуются незамедлительная изоляция больных и коррекция режима лечения в соответствии со спектром лекарственной чувствительности возбудителя [29].

Следует отметить, что мутации в гене *groB* являются очень хорошим маркером МЛУ-ТБ в Регионе; процент изолятов с монорезистентностью к рифампицину среди новых случаев составил лишь 0,5% и 0,9% – среди ранее леченных случаев [5]. В такой ситуации разумно начинать лечение МЛУ-ТБ у больных, если результаты теста Xpert MTB/RIF или LPA-анализа указывают на наличие устойчивости к рифампицину. С большей осторожностью следует интерпретировать результаты молекулярных тестов для противотуберкулезных препаратов второго ряда.

*После получения результатов лабораторных тестов, включающих микроскопические исследования, молекулярные тесты, посевы и ТЛЧ, их следует сообщать врачу-клиницисту как можно быстрее*



## Ссылки

1. Доклад о здравоохранении в Европе, 2012: курс на благополучие. Копенгаген: Европейское региональное бюро ВОЗ; 2012 ([http://www.euro.who.int/\\_\\_data/assets/pdf\\_file/0020/234911/The-European-health-report-2012.-Charting-the-way-to-well-being-Rus.pdf?ua=1](http://www.euro.who.int/__data/assets/pdf_file/0020/234911/The-European-health-report-2012.-Charting-the-way-to-well-being-Rus.pdf?ua=1), по состоянию на 15 февраля 2017 г.).
2. Roadmap to implement the tuberculosis action plan for the WHO European Region 2016–2020. WHO Regional Office for Europe; 2016 ([http://www.euro.who.int/\\_\\_data/assets/pdf\\_file/0020/318233/Roadmap-implement-TBC-action-plan-20162020.pdf](http://www.euro.who.int/__data/assets/pdf_file/0020/318233/Roadmap-implement-TBC-action-plan-20162020.pdf), по состоянию на 15 февраля 2017 г.).
3. Global Tuberculosis Report 2016. Geneva: World Health Organization; 2016 (WHO/HTM/TB/2016.13; <http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/250441/1/9789241565394-eng.pdf>, по состоянию на 15 февраля 2017 г.).
4. План "Остановить ТБ" для 18 наиболее приоритетных стран Европейского региона ВОЗ, 2007–2015 гг. Копенгаген: Всемирная организация здравоохранения; 2007 ([http://www.euro.who.int/\\_\\_data/assets/pdf\\_file/0006/68181/E91049R.pdf?ua=1](http://www.euro.who.int/__data/assets/pdf_file/0006/68181/E91049R.pdf?ua=1), по состоянию на 15 февраля 2017 г.).
5. Tuberculosis surveillance and monitoring in Europe 2016. Stockholm: European Centre for Disease Prevention and Control/WHO Regional Office for Europe; 2016 (<http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/ecdc-tuberculosis-surveillance-monitoring-Europe-2016.pdf>, по состоянию на 15 февраля 2017 г.).
6. Tuberculosis surveillance and monitoring in Europe 2017. Stockholm: European Centre for Disease Prevention and Control/WHO Regional Office for Europe; 2017 (по состоянию на 15 февраля 2017 г.).

7. Tuberculosis surveillance and monitoring in Europe 2013. Stockholm: European Centre for Disease Prevention and Control/WHO Regional Office for Europe; 2013 (<http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/Tuberculosis-surveillance-monitoring-2013.pdf>, по состоянию на 15 февраля 2017 г.).
8. План действий по борьбе с туберкулезом для Европейского региона ВОЗ на 2016–2020 гг. Европейское региональное бюро ВОЗ; 2015 ([http://www.euro.who.int/\\_\\_data/assets/pdf\\_file/0009/283968/65wd17r\\_Rev.1\\_TBActionPlan\\_150588\\_withCover.pdf?ua=1](http://www.euro.who.int/__data/assets/pdf_file/0009/283968/65wd17r_Rev.1_TBActionPlan_150588_withCover.pdf?ua=1), по состоянию на 15 февраля 2017 г.).
9. Дорожная карта по предупреждению и борьбе с лекарственно-устойчивым туберкулезом. Комплексный план действий по профилактике и борьбе с туберкулезом с множественной и широкой лекарственной устойчивостью в Европейском регионе ВОЗ на 2011–2015 гг.. Копенгаген: Европейское региональное бюро ВОЗ; 2011 ([http://www.euro.who.int/\\_\\_data/assets/pdf\\_file/0009/169704/e95786r.pdf?ua=1](http://www.euro.who.int/__data/assets/pdf_file/0009/169704/e95786r.pdf?ua=1), по состоянию на 15 февраля 2017 г.).
10. Европейская лабораторная инициатива по туберкулезу . In: Health topics [веб-страница]. Копенгаген: Европейское региональное бюро ВОЗ; 2017 (номер доклада; <http://www.euro.who.int/ru/health-topics/communicable-diseases/tuberculosis/activities/european-tuberculosis-laboratory-initiative>, по состоянию на 15 февраля 2017 г.).
11. Migliori GB, Zellweger JP, Abubakar I, Ibraim E, Caminero JA, De Vries G, et al. European union standards for tuberculosis care. *Eur Respir J* 2012;39(4):807-19; doi: 10.1183/09031936.00203811.
12. Ehsani S, van den Boom M, Gilpin C, Dara M, Europe WHOROf. The role of novel molecular techniques for tuberculosis diagnostics in the WHO European Region. *J Public Health (Oxf)* 2016; doi: 10.1093/pubmed/fdv200.
13. Meeting of the European Tuberculosis Laboratory Initiative (ELI) Core Group. Copenhagen, Denmark; 2016 ([http://www.euro.who.int/\\_\\_data/assets/pdf\\_file/0020/307433/ELI-TB-Core-Group-mtg.pdf](http://www.euro.who.int/__data/assets/pdf_file/0020/307433/ELI-TB-Core-Group-mtg.pdf), по состоянию на 15 февраля 2017 г.).
14. International Standards for Tuberculosis Care, third edition. The Hague: TB CARE I; 2014 ([http://www.who.int/tb/publications/ISTC\\_3rdEd.pdf](http://www.who.int/tb/publications/ISTC_3rdEd.pdf), по состоянию на 15 февраля 2017 г.).

15. Implementing tuberculosis diagnostics: policy framework. Geneva: World Health Organization; 2015 (WHO/HTM/TB/2015.11; [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/162712/1/9789241508612\\_eng.pdf](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/162712/1/9789241508612_eng.pdf), по состоянию на 15 февраля 2017 г.).
16. Drobniewski FA, Hoffner S, Rusch-Gerdes S, Skenders G, Thomsen V, Force WHOELST. Recommended standards for modern tuberculosis laboratory services in Europe. *Eur Respir J* 2006;28(5):903-9; doi: 10.1183/09031936.06.00084906.
17. Automated real-time nucleic acid amplification technology for rapid and simultaneous detection of tuberculosis and rifampicin resistance: Xpert MTB/RIF assay for the diagnosis of pulmonary and extrapulmonary TB in adults and children. Policy update. Geneva: World Health Organization; 2013 (WHO/HTM/TB/2013.16; [http://www.stoptb.org/wg/gli/assets/documents/WHO\\_Policy\\_Statement\\_on\\_Xpert\\_MTB-RIF\\_2013\\_pre\\_publication\\_22102013.pdf](http://www.stoptb.org/wg/gli/assets/documents/WHO_Policy_Statement_on_Xpert_MTB-RIF_2013_pre_publication_22102013.pdf), по состоянию на 15 февраля 2017 г.).
18. Winetsky DE, Negoescu DM, DeMarchis EH, Almukhamedova O, Dooronbekova A, Pulatov D, et al. Screening and rapid molecular diagnosis of tuberculosis in prisons in Russia and Eastern Europe: a cost-effectiveness analysis. *PLoS Med* 2012;9(11):e1001348; doi: 10.1371/journal.pmed.1001348.
19. Доклад о состоянии здравоохранения в Европе 2015. Целевые ориентиры и более широкая перспектива – новые рубежи в работе с фактическими данными. Основные положения. Копенгаген: Европейское региональное бюро ВОЗ; 2015 ([http://www.euro.who.int/\\_\\_data/assets/pdf\\_file/0008/291518/EHR\\_High\\_RU\\_WEB\\_01.pdf?ua=1](http://www.euro.who.int/__data/assets/pdf_file/0008/291518/EHR_High_RU_WEB_01.pdf?ua=1), по состоянию на 15 февраля 2017 г.).
20. Policy Framework for Implementing New Tuberculosis Diagnostics. Geneva: World Health Organization; 2010 ([http://www.who.int/tb/laboratory/whopolicyframework\\_rev\\_june2011.pdf](http://www.who.int/tb/laboratory/whopolicyframework_rev_june2011.pdf), по состоянию на 15 февраля 2017 г.).
21. Guidance on regulations for the Transport of Infectious Substances 2015–2016. Geneva: World Health Organization; 2015 (WHO/HSE/GCR/2015.2; [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/149288/1/WHO\\_HSE\\_GCR\\_2015.2\\_eng.pdf](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/149288/1/WHO_HSE_GCR_2015.2_eng.pdf), по состоянию на 15 февраля 2017 г.).
22. Руководство по биологической безопасности лабораторных исследований при туберкулезе. Женева: Всемирная организация здравоохранения; 2012 (WHO/HTM/TB/2012.11; [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/77949/1/9789244504635\\_rus.pdf?ua=1](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/77949/1/9789244504635_rus.pdf?ua=1), по состоянию на 15 февраля 2017 г.).

23. Методы молекулярной гибридизации с типоспецифичными зондами для ускоренного скрининга пациентов группы риска по туберкулезу с множественной лекарственной устойчивостью (млу-тб). Программное заявление. Женева: Всемирная организация здравоохранения; 2008 ([http://www.who.int/tb/publications/who\\_policy\\_line\\_probe\\_assays\\_revocst10\\_ru.pdf?ua=1](http://www.who.int/tb/publications/who_policy_line_probe_assays_revocst10_ru.pdf?ua=1), по состоянию на 15 февраля 2017 г.).
24. Автоматизированная технология амплификации нуклеиновых кислот в режиме реального времени для быстрого и одновременного выявления туберкулеза и устойчивости к рифампицину: система Xpert MTB/RIF. Программное заявление: Женева: Всемирная организация здравоохранения; 2011 (WHO/HTM/TB/2011.4; [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/44586/2/9789241501545\\_rus.pdf](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/44586/2/9789241501545_rus.pdf), по состоянию на 15 февраля 2017 г.).
25. Руководство по внедрению диагностического теста Xpert MTB/RIF Технические и операционные рекомендации; вопросы практического применения. Женева: Всемирная организация здравоохранения; 2014 (WHO/HTM/TB/2014.1; [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/112469/5/9789244506707\\_rus.pdf?ua=1](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/112469/5/9789244506707_rus.pdf?ua=1), по состоянию на 15 февраля 2017 г.).
26. The use of molecular line probe assays for the detection of resistance to second-line anti-tuberculosis drugs: Policy guidance. Geneva: World Health Organization; 2016 (WHO/HTM/TB/2016.07; <http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/246131/1/9789241510561-eng.pdf>, по состоянию на 15 февраля 2017 г.).
27. WHO treatment guidelines for drug-resistant tuberculosis, 2016 update. Online Annexes 4,5,6. Geneva: World Health Organization; 2016 (WHO/HTM/TB/2016.04; <http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/250125/5/9789241549639-webannexes-eng.pdf>, по состоянию на 15 февраля 2017 г.).
28. Определения и система отчетности по туберкулезу – пересмотр 2013 г. Женева: Всемирная организация здравоохранения; обновление от декабря 2014 (WHO/HTM/TB/2013.2; [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/79199/10/9789244505342\\_rus.pdf?ua=1](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/79199/10/9789244505342_rus.pdf?ua=1), по состоянию на 15 февраля 2017 г.).
29. Guidelines for the programmatic management of drug-resistant tuberculosis: update 2011. Geneva: World Health Organization; 2011 (WHO/HTM/TB/2011.6; [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/44597/1/9789241501583\\_eng.pdf](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/44597/1/9789241501583_eng.pdf), по состоянию на 15 февраля 2017 г.).

30. Same-day diagnosis of tuberculosis by microscopy: policy statement. Geneva: World Health Organization; 2011 (WHO/HTM/TB/2011.7; [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/44603/1/9789241501606\\_eng.pdf](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/44603/1/9789241501606_eng.pdf), по состоянию на 15 февраля 2017 г.).
31. Handbook on TB laboratory diagnostic methods for the European Union. Stockholm: ECDC: European Centre for Disease Prevention and Control; 2016 (<http://ecdc.europa.eu/en/publications/publications/tuberculosis-laboratory-diagnostic-methods-eu.pdf>, по состоянию на 15 февраля 2017 г.).
32. Using the Xpert MTB/RIF assay to detect pulmonary and extrapulmonary tuberculosis and rifampicin resistance in adults and children. Expert Group Meeting Report. Geneva: World Health Organization; 2013 (WHO/HTM/TB/2013.14; [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/112659/1/WHO\\_HTM\\_TB\\_2013.14\\_eng.pdf](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/112659/1/WHO_HTM_TB_2013.14_eng.pdf), по состоянию на 15 февраля 2017 г.).
33. Fluorescent light-emitting diode (LED) microscopy for diagnosis of tuberculosis: policy statement. Geneva: World Health Organization; 2011 (WHO/HTM/TB/2011.8; [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/44602/1/9789241501613\\_eng.pdf](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/44602/1/9789241501613_eng.pdf), по состоянию на 15 февраля 2017 г.).
34. Use of liquid TB culture and drug susceptibility testing in low- and medium-income settings. Summary report of the Expert Group Meeting on the use of liquid culture media. Geneva: World Health Organization; 2007 ([http://www.who.int/tb/laboratory/use\\_of\\_liquid\\_tb\\_culture\\_summary\\_report.pdf](http://www.who.int/tb/laboratory/use_of_liquid_tb_culture_summary_report.pdf), по состоянию на 15 февраля 2017 г.).
35. Стратегические рекомендации по определению лекарственной чувствительности (ОЛЧ) к противотуберкулезным препаратам второго ряда. Женева: Всемирная организация: Департамент "Остановить ТБ"; 2008 (WHO/HTM/TB/2008.392; [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/70500/2/WHO\\_HTM\\_TB\\_2008.392\\_rus.pdf](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/70500/2/WHO_HTM_TB_2008.392_rus.pdf), по состоянию на 15 февраля 2017 г.).
36. Noncommercial culture and drug-susceptibility testing methods for screening patients at risk for multidrug-resistant tuberculosis: policy statement. Geneva: World Health Organization; 2011 (WHO/HTM/TB/2011.9; [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/44601/1/9789241501620\\_eng.pdf](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/44601/1/9789241501620_eng.pdf), по состоянию на 15 февраля 2017 г.).

37. Bwanga F, Hoffner S, Haile M, Joloba ML. Direct susceptibility testing for multi drug resistant tuberculosis: a meta-analysis. *BMC Infect Dis* 2009;9:67; doi: 10.1186/1471-2334-9-67.
38. Arentz M, Sorensen B, Horne DJ, Walson JL. Systematic review of the performance of rapid rifampicin resistance testing for drug-resistant tuberculosis. *PLoS One* 2013;8(10):e76533; doi: 10.1371/journal.pone.0076533.
39. Drobniowski F, Cooke M, Jordan J, Casali N, Mugwagwa T, Broda A, et al. Systematic review, meta-analysis and economic modelling of molecular diagnostic tests for antibiotic resistance in tuberculosis. *Health Technol Assess* 2015;19(34):1-188, vii-viii; doi: 10.3310/hta19340.



## Приложение 1

Результаты, полученные при использовании молекулярных (Хpert MTB/RIF и LPA-анализ для препаратов первого ряда) и фенотипических (на среде MGIT и Левенштейна-Йенсена) методов, в помощь специалистам НРЛ или региональных референс-лабораторий для лучшего понимания и интерпретации противоречивых результатов

Оба метода, Хpert MTB/RIF и анализ молекулярной гибридизации с типоспецифичными зондами для препаратов первого ряда (LPA), имеют высокую чувствительность и специфичность для выявления туберкулеза и устойчивости к рифампицину. Чувствительность теста Хpert MTB/RIF для выявления устойчивости к рифампицину составляет 95%, а специфичность – 98%, а у LPA-анализа чувствительность достигает 97% и специфичность – 99%, соответственно [25, 26]. Это означает, что лечащие врачи получают небольшое число результатов с ложной чувствительностью и ложной резистентностью штаммов.

Рекомендуется информировать лечащих врачей в первую очередь о результатах молекулярных исследований вследствие быстроты, высокой чувствительности и специфичности этих методов. При наличии этой информации врач может начать соответствующее лечение препаратами первого ряда или использовать схему лечения туберкулеза с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ) на основании результатов исходного быстрого молекулярного теста.

После повторного тестирования с использованием другого молекулярного метода (обычно LPA, поскольку Хpert MTB/RIF предлагается использовать в качестве исходного теста) и фенотипического ТЛЧ (фТЛЧ) результаты в редких случаях могут различаться. Если оба молекулярных метода ТЛЧ (гТЛЧ) указывают на устойчивость, а результаты фТЛЧ – на чувствительность, вероятнее всего произошла ошибка в проведении традиционного фенотипического ТЛЧ. До выяснения причин появления противоречивых результатов лечащий врач должен приступить к лечению согласно результатам гТЛЧ.



**Немые мутации**, которые встречаются редко и могут быть выявлены только при использовании генотипических методов, не приводят к изменению аминокислот и поэтому не ведут к появлению устойчивости.

**Редкие или спорные мутации** выявляются в результате проведения гТЛЧ, но при сравнении с результатами фТЛЧ возможны расхождения, поскольку гТЛЧ способны выявлять устойчивость низкого уровня, которая может оставаться недиагностированной при использовании некоторых методов фТЛЧ.

**Редкие случаи устойчивости, вызванные мутациями за пределами горячей точки (hotspot region)** будут выявлены фенотипическими методами, но не диагностированы тестами Xpert MTB/RIF и LPA.

Для дальнейшего подтверждения немых, редких и спорных мутаций предпочтительными являются методы секвенирования.

**Гетерорезистентность** может возникать главным образом в странах с высокими показателями МЛУ-ТБ вследствие того, что больные могут инфицироваться двумя и более штаммами (так называемые микст-инфекции). В LPA-анализе можно наблюдать гетерорезистентность, поскольку положительными будут как дикий тип, так и пробы на мутации, в то время как при проведении фТЛЧ гетерорезистентность можно определить не всегда. Если лекарственно-чувствительные микобактерии присутствуют в образце в более высокой концентрации, результатом фТЛЧ обычно является «чувствительность». В этом случае ТЛЧ необходимо повторить на другом образце для выявления устойчивого штамма, предпочтительнее использовать для этого все методы.

**Таким образом**, в условиях с высокой распространенностью МЛУ, результаты быстрых молекулярных тестов (GeneXpert и LPA к препаратам первого ряда) в отношении устойчивости к рифампицину следует сразу сообщать лечащим врачам в помощь выбора лекарственных препаратов для включения в схему лечения. В случае расхождения результатов фТЛЧ и гТЛЧ, отсутствие лабораторной ошибки необходимо подтвердить для того и другого подхода (гТЛЧ и фТЛЧ), а в качестве второго шага следует рассмотреть разнообразные возможности для появления потенциально противоречивых результатов, объяснения которых приведены в Таблице А.1.

Таблица А.1. Интерпретация и объяснение потенциальных несогласующихся результатов

Хpert MTB/RIF-первичный образец	LPA-первый ряд	Сообщение результатов лечащему врачу	Лечение, которое должен назначить врач
У <sub>стойчивость</sub>	ДТ: нет МУТ: да	Устойчивость к RIF по результатам Хpert MTB/RIF	1. Начать лечение по схеме препаратами второго ряда 2. При необходимости скорректировать схему после получения результатов LPA к препаратам второго ряда и фТЛЧ
Ч <sub>увствительность</sub>	ДТ: да МУТ:нет	Чувствительность к RIF	Начать лечение по схеме препаратов первого ряда
У <sub>стойчивость</sub>	ДТ: нет МУТ: да	Устойчивость к RIF по результатам Хpert MTB/RIF	1. Начать лечение по схеме препаратами второго ряда. 2. При необходимости скорректировать схему после получения результатов LPA к препаратам второго ряда и фТЛЧ
У <sub>стойчивость</sub>	ДТ: нет МУТ:нет	Устойчивость к RIF по результатам Хpert MTB/RIF	1. Назначить лечение по схеме препаратами второго ряда. 2. При необходимости скорректировать схему после получения результатов LPA к препаратам второго ряда и фТЛЧ
У <sub>стойчивость</sub>	ДТ: да МУТ: да	Устойчивость к RIF Примечание: свидетельство наличия смешанного заражения RIF-резистентным и RIF-чувствительным штаммом	1. Назначить лечение по схеме препаратами второго ряда. 2. При необходимости скорректировать схему после получения результатов LPA к препаратам второго ряда и фТЛЧ
У <sub>стойчивость</sub>	ДТ: нет МУТ:нет	Устойчивость к RIF по результатам Хpert MTB/RIF  Если есть возможность секвенирования и подтверждено наличие немых мутаций, зарегистрировать как «Чувствительность к RIF», в противном случае, регистрировать как «Устойчивость к RIF». Если есть возможность, определить МИК RIF для выявления устойчивости низкого уровня.	1. Назначить лечение по схеме препаратами второго ряда. 2. При необходимости скорректировать схему после получения результатов LPA к препаратам второго ряда и фТЛЧ
У <sub>стойчивость</sub>	ДТ: да МУТ:нет	Зависит от результата исследования  Чувствительность к RIF  Устойчивость к RIF Примечание: свидетельство наличия смешанного заражения RIF-резистентным и RIF-чувствительным штаммом	Зависит от результата исследования
Ч <sub>увствительность</sub>	ДТ: да МУТ:нет	Чувствительность к RIF  Сообщить результат: «Генетические маркеры устойчивости к RIF не выявлены, нет возможности провести фТЛЧ вследствие смешанной с НТМ культуры»  Устойчивость к RIF  Устойчивость к RIF Примечание: свидетельство наличия смешанного заражения RIF-резистентным и RIF-чувствительным штаммом	Зависит от результата исследования
Ч <sub>увствительность</sub>	ДТ: да МУТ:да	Зависит от результата исследования	Зависит от результата исследования

фТЛЧ	Объяснение/возможная лабораторная ошибка	Действие
Устойчивость	Типичная мутация в регионе гена <i>groV</i> , определяющем устойчивость к рифампицину	Сообщить результаты
Чувствительность		Сообщить результаты
Чувствительность	<p>Ошибочный фТЛЧ, например:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• бактериальная суспензия не добавлена или добавлена в очень небольшом количестве;</li> <li>• добавлено слишком много RIF;</li> <li>• слишком высокая концентрация RIF</li> </ul> <p>Если можно исключить ошибочный фТЛЧ, возможно ожидать наличия мутаций, которые вызывают устойчивость низкого уровня</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Повторить фТЛЧ</li> <li>• Проверить исходный раствор /концентрацию RIF и контроль качества</li> </ul>
Устойчивость	Мутации на полоске HAIN не выявлены	Сообщить результаты
Устойчивость	Гетерорезистентность	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Повторить LPA-первый ряд из фТЛЧ</li> <li>• Секвенирование (двойные пики)</li> </ul>
Чувствительность	Ошибочный фТЛЧ (например, не добавлена суспензия ТБ микобактерий)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Повторить фТЛЧ</li> <li>• Проверить исходный раствор /концентрацию RIF и контроль качества</li> </ul>
	Немые или редкие мутации	Секвенирование
Чувствительность	<p>Ошибочный результат Xpert MTB/RIF, например,</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• спутаны образцы</li> <li>• контаминация</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Повторить LPA-первый ряд, фТЛЧ другого изолята от пациента</li> <li>• Проверить образцы, протестированные до и после образца под вопросом</li> <li>• Проверить учетные записи по техобслуживанию</li> </ul>
	Гетерорезистентность	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Повторить анализ Xpert на другом образце мокроты</li> <li>• Повторить LPA к препаратам первого ряда</li> <li>• фТЛЧ другого изолята от пациента</li> </ul>
Устойчивость	<p>Ошибочный результат фТЛЧ, например:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• не внесен препарат</li> <li>• контаминация</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Повторить фТЛЧ</li> <li>• Микроскопия</li> <li>• Посев на кровяной агар из фТЛЧ</li> </ul>
	Смешанная с НТМ культура	Провести тест HAIN CM из пробирки MGIT на RIF или ТЛЧ к RIF на плотной среде, проверить исходный посев на плотной среде, проверить на НТМ, повторить фТЛЧ на другом положительном изоляте
	Мутация за пределами региона горячей точки 511-524 гена <i>groV</i>	Секвенировать ген <i>groV</i> (за пределами региона, определяющего устойчивость к RIF)
	Гетерорезистентность	<ul style="list-style-type: none"> <li>• LPA-первый ряд: проверить на слабые сигналы</li> <li>• Повторить LPA-первый ряд из фТЛЧ</li> <li>• Секвенирование (двойные пики)</li> </ul>
Чувствительность	Лабораторная ошибка (например, контаминация LPA к препаратам первого ряда)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Проверить отрицательные контроли в LPA-анализе к препаратам первого ряда.</li> <li>• Повторить LPA к препаратам первого ряда.</li> </ul>





## Региональный отдел ВОЗ в Европе

Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) это специальное созданное ООН в 1948 агенство с первостепенной обязанностью решать проблемы международного и общественного здравоохранения. Региональный отдел ВОЗ в Европе является одним из шести региональных отделов по всему миру, каждый из которых имеет собственную программу приспособленную к специфике здравоохранения обслуживаемых им стран.

### Страны участники

Албания	Испания	Словения
Австрия	Италия	Соединенное
Азербайджан	Казахстан	Королевство
Албания	Кипр	Таджикистан
Андорра	Кыргызстан	Туркменистан
Армения	Латвия	Турция
Беларусь	Литва	Узбекистан
Бельгия	Люксембург	Украина
Болгария	Мальта	Финляндия
Босния и Герцеговина	Монако	Франция
Бывшая югославская	Нидерланды	Хорватия
Республика Македония	Норвегия	Черногория
Венгрия	Польша	Чешская Республика
Германия	Португалия	Швейцария
Греция	Республика Молдова	Швеция
Грузия	Российская Федерация	Эстония
Дания	Румыния	
Израиль	Сан-Марино	
Ирландия	Сербия	
Исландия	Словакия	

### Всемирная Организация Здравоохранения

#### Региональный отдел Европы

UN City, Marmorvej 51, DK-2100 Copenhagen Ø, Denmark

Тел. +45 45 33 70 00. Факс: +45 45 33 70 01. E-mail: euwhocontact@who.int

Интернет страница: [www.euro.who.int](http://www.euro.who.int)