

КАЗНМУ ИМЕНА С.Д.АСФЕНДИЯРОВА
Фтизиатрия кафедрасы

GeneXpert MTB/RIF

Орындаған: Арызбеков Д
Топ: 612-02

Алматы 2018

План:

- 1. Введение
- 2. История туберкулинодиагностики.
Что представляет собой туберкулин?
 - Проба Манту
 - Подкожная туберкулиновая проба Коха
- GeneXpert при туберкулезе
- Заключение
- Список литературы

Введение

По оценке ВОЗ, около трети всего населения земного шара (приблизительно 1,7—2 млрд. человек.) инфицированы, в том числе около 50 млн. - мультирезистентными штаммами микобактерий туберкулеза. В промышленно развитых странах наибольшая доля инфицированных приходится на пожилых людей, в то время как в развивающихся странах подавляющее большинство инфицированных принадлежит к наиболее трудоспособным группам населения репродуктивного возраста.

Для улучшения эпидемической обстановки фтизиатры разных стран проводят мероприятия, способствующие снижению риска инфицирования человека в обществе. Для уменьшения риска заболеваемости туберкулезом необходима своевременная диагностика контагиозных случаев и эффективное лечение выявленных больных. Особую опасность представляют неэффективно и неадекватно леченные больные: лечение обеспечивает им увеличение продолжительности жизни, но при этом эти пациенты долгое время могут оставаться бацилловыделителями. Более того, у таких больных чаще развивается резистентность микобактерий к препаратам, используемым в стандартных схемах лечения, что ведет к неудаче лечения тех, у кого развивается туберкулез после заражения от такого хронического бактериовыделителя. Так формируются контингенты больных с первичной лекарственной устойчивостью.

- Туберкулинодиагностика основана на определении туберкулиновой аллергии, возникшей в результате заражения вирулентными микобактериями туберкулеза или вакцинации БЦЖ. Реакция Манту- это реакция повышенной чувствительности замедленного типа это ответ организма на внутрикожное введение туберкулина. У инфицированных и бецежированных лиц через 6 час. в месте инъекции препарата возникает специфическое воспаление, вызванное инфильтрацией лимфоцитов, ответственными за клеточный иммунитет.

История

туберкулинодиагностики

- История туберкулинодиагностики.
- Туберкулин в его классическом виде был изобретен в 1890 известным немецким врачом Робертом Кохом, именем которого назван и возбудитель туберкулеза – палочка Коха.
- Авторство метода туберкулинодиагностики, то есть применения туберкулина Коха с целью диагностики, принадлежит Пирке, который в 1907 году впервые предложил применять туберкулин для диагностики туберкулеза. На поврежденную специальным бориком кожу наносился туберкулин. Позднее этот метод был модифицирован и повреждение кожи (скарификацию) стали производить специальным ланцетом. Приблизительно в таком виде проба Пирке дошла и до нынешних дней.
- Несколько позже французский врач Манту (Mantoux) предложил другую модификацию пробы - внутрикожное введение туберкулина. Проба в модификации Манту применяется в России с 1965 года.
- Что представляет собой туберкулин?
- Смысл туберкулина – «обозначить» в организме присутствие туберкулезной палочки с тем, чтобы можно было оценивать реакцию организма (качественно и количественно) на это «присутствие». В этом смысле туберкулин отлично справляется со своей задачей – именно по этой причине препарат так и не был подвергнут коренной переработке и вот уже более 100 лет, до настоящего дня является одним из основных средств диагностики туберкулеза.
- .

● Туберкулин (точное название «альтотуберкулин», АТ) Коха – это «вытяжка», лизат из микобактерий туберкулеза, инактивированных нагреванием. Классический препарат, помимо самого туберкулина, содержит много примесей – остатки питательной среды, на которой выращивали бактерии, соли и другие вещества, повлиявшие на чистоту реакции и затруднявшие оценку результата проб. С конца 60-х годов 20-го столетия были разработаны более чистые препараты туберкулина, так называемые PPD (Purified Protein Derivate – очищенный дериват белка), которые применяются и по сей день. В России применяется препарат ППД-Л, т.е. очищенный туберкулин, полученный русским ученым Линниковой в 1965 году. Современный препарат туберкулина, помимо самого туберкулина, содержит соли фосфатного буферного раствора, натрия хлорид, стабилизатор Твин-80, и фенол в качестве консерванта. В основном препарат избавлен от балластных примесей, однако он может содержать их в следовых количествах, что может влиять на результат реакции.

● Однако до конца до сих пор неизвестен в точности механизм взаимодействия туберкулина с иммунной системой. С одной стороны, лизат белков (пептиды, аминокислоты) не может являться полноценным антигеном. И действительно, туберкулин не вызывает образования иммунитета. Но эта точка зрения не объясняет усиления, как при вакцинации, реакции при частой постановки пробы – т.н. «бустерный эффект» пробы Манту. Так что же такое туберкулин? Скорее всего, туберкулин можно охарактеризовать как разнородную смесь из органических веществ разной степени сложности, полученных из микобактерий

● **Проба Манту**

- Проба Манту (проба Пирке, туберкулиновая проба, туберкулинодиагностика, tuberculin skin-test, PPD test) – метод исследования напряженности иммунитета к возбудителю туберкулеза с помощью оценки реакции на специальный препарат микобактерий, туберкулин.

● **Определение реакции Манту.**

- Реакция Манту – это результат реакции организма на введение туберкулина. В месте инъекции препарата в кожу возникает специфическое воспаление, вызванное инфильтрацией Т-лимфоцитами – специфическими клетками крови, ответственными за клеточный иммунитет (в отличие от антительного иммунного ответа, при котором основную роль играют белки-антитела). Фрагменты микобактерий как бы притягивают к себе лимфоциты из пролегающих поблизости кровеносных сосудов кожи. Но в игру вступают не все Т-лимфоциты, а только те, что уже полностью или частично «знакомы» с палочкой Коха.

● Реакция (проба) Манту нужна для:

- • выявления первично-инфицированных, то есть тех, у кого впервые выявлен факт инфицирования туберкулезной палочкой;
- • выявления инфицированных более одного года с гиперергическими реакциями на туберкулин;
- • инфицированных более одного года с увеличением инфильтрата на 6 мм и более;
- • диагностики туберкулеза у лиц, которые инфицированы палочкой Коха, но не проявляют, в данный момент, симптомов заболевания; подтверждения диагноза туберкулеза;
- • отбора контингентов детей, подлежащих ревакцинации против туберкулеза.

- Противопоказаниями к проведению туберкулиновой пробы являются:
- 1. кожные заболевания,
- 2. острые и хронические инфекционные и соматические заболевания в стадии обострения (проба Манту ставится через 1 месяц после исчезновения всех клинических симптомов или сразу после снятия карантина),
- 3. аллергические состояния,
- 4. эпилепсия.

- **Подкожная туберкулиновая проба Коха**
- Подкожная туберкулиновая проба Коха представляет собой подкожное введение туберкулина. В детской практике пробу Коха чаще начинают с 20 ТЕ. Для этого подкожно вводят 1 мл очищенного туберкулина в стандартном разведении или 0.2 мл 3-го разведения сухого очищенного туберкулина без учёта предварительного исследования порога чувствительности к туберкулину.
- Рядом авторов первая доза 20 ТЕ для пробы Коха рекомендована при нормергическом характере пробы Манту с 2 ТЕ и отрицательной или слабоположительной реакции на 100% раствор туберкулина при ГКП. При отрицательной реакции на пробу Коха с 20 ТЕ дозу увеличивают до 50 ТЕ, а затем до 100 ТЕ. У детей с гиперергическими реакциями на пробу Манту с 2 ТЕ пробу Коха начинают с введения 10 ТЕ.

БЦЖ

Техника проведения



Оценка реакции



Виды реакции на пробу



Отрицательная реакция
при полном отсутствии папулы



Сомнительная реакция
при наличии гиперемии без папулы



Положительная реакция
при наличии папулы
любого размера



Гиперергическая реакция
при наличии папулы
 ≥ 15 мм или везикуло-
некротических
изменениях



Эффективность молекулярно-генетического метода **GeneXpert** МТВ/RIF для диагностики туберкулеза

Молекулярно-генетические методы диагностирования туберкулеза – совокупность современных методов диагностики, благодаря которым сокращаются длительные диагностические мероприятия и проводится выявление и определение МКБ в исследуемом материале с высокой чувствительностью и специфичностью, позволяет распознать МКБ и определить их чувствительность к лекарственному препарату. ольшую популярность в современных условиях стала приобретать внедренная система GeneXpert. Сама тест-система GeneXpert представляет собой полуколичественную гнездовую ПЦР, реакция проводится в картридже, для определения ДНК микобактерий туберкулеза в образцах мокроты. Также при помощи GeneXpert диагностики выявляются мутации устойчивости к рифампицину в тех образцах, получают от пациентов, у которых возможен риск развития устойчивости к данному лечебному препарату. Современная диагностическая система GeneXpert – это система закрытого типа, все диагностические мероприятия – определение, выделение проводят в одноразовом картридже, за счет чего предварительной обработки исследуемого материала не требуется, а это позволяет по максимуму избежать контаминации этого материала. По многочисленным клиническим исследованиям устойчивость к рифампицину обычно взаимосвязана с устойчивостью и к изониазиду, а это требует проводить полный диагностический тест к препаратам 1 — 2 ряда. Диагностика проводится только после выделения микобактерий туберкулеза. Затем результат диагностики обрабатывается на ПК и проясняет клиническую картину для решения вопросов лечения данного больного.

- К недостаткам этого метода исследования относится тот факт, что определить устойчивость возбудителя возможно только к одному препарату рифампицину, а это ведет к необходимости дальнейшей диагностики, чтобы определить мультирезистентность. Недостатком есть то, что для исследования возможно только использования мокроты и в современном мире ведутся работы, чтобы обеспечить возможность применения других биологических материалов, метод диагностики является достаточно дорогостоящим удовольствием, из-за этого имеет свои ограничения. Чаще всего такой метод проводят для обследования населения такой группы: ***ВИЧ инфицированные, лица, который имели тесный контакт с туберкулезным больным и ранее пролеченные больные***

Но, в тоже время, такой метод пользуется популярностью и преимущественно выделяется среди других за счет того, что процесс диагностики занимает по времени всего 2 часа, специфичность метода достигает 100%, для пациентов с положительным мазком мокроты высокая чувствительность – до 98%.

Проведение такого метода диагностики требует минимальный уровень навыков, т.к. проводится все в закрытом картридже нет необходимости выделять отдельную комнату для проведения диагностики. К недостаткам этого метода исследования относится тот факт, что определить устойчивость возбудителя возможно только к одному препарату рифампицину, а это ведет к необходимости дальнейшей диагностики, чтобы определить мультирезистентность.

Этот метод применяют в лабораториях 2 — 3 уровней для того, чтобы быстро определить и выявить МБТ, для своевременной изоляции и лечения больного.

Такой современный метод диагностики туберкулеза позволяет улучшить качество, своевременность выявления и лечения туберкулеза в стране. На сегодняшний день, далеко не все лаборатории имеют систему GeneXpert, поэтому в рамках общегосударственной социальной программы по борьбе с туберкулезом, планируется полное оснащение лабораторий такой современной диагностической системой.

Чувствительность, специфичность, прогностическая ценность
положительного и отрицательного результатов бактериологического,
микроскопического методов и молекулярно-генетического метода GeneXpert
MTB/RIF

Результаты	Название исследования					
	Бактериологическое		Микроскопическое		GeneXpert MTB\RIF	
	туберкулез	пневмония	туберкулез	пневмония	туберкулез	пневмония
Положительный результат	30	0	15	0	29	0
Отрицательный результат	0	10	15	10	1	10

Заключение.

Молекулярно-генетический метод GeneXpert MTB/RIF является эффективным и быстрым методом диагностики туберкулеза. Высокая эффективность метода GeneXpert MTB/RIF доказана в обеих группах и составила не менее 97,5 %. Являясь полностью автоматизированным методом, он помогает обеспечить должный уровень биологической безопасности персонала, проводящего исследования на туберкулез. Метод позволяет быстро, за 2 часа, выявить ДНК *M. tuberculosis* в биологическом материале, а также установить наличие лекарственной устойчивости микобактерии к рифампицину. Результаты лекарственной устойчивости к Rif, полученные бактериологическим методом и методом GeneXpert MTB/RIF, сопоставимы. Вследствие этого возможно произвести раннюю своевременную коррекцию схемы химиотерапии.

Список литературы

1. Егоров А.М., Сазыкин Ю.О.// Антибиотики и химиотерапия. - 2000.- Т 45. № 5.-С. 3-5.
2. Скрягина Е.М., Гуревич Г.Л., Зюзиков В.Ф. // В кн.: 11-ый Национальный конгресс по болезням органов дыхания. М., 2000. - С.361.
3. Davies J. // In: Genetics and tuberculosis, John Wiley and Sons 1998. – P. 195-205.
4. Cole S.T, Barrell B.G.// Ibid. – P.160- 173.
5. Heiden van P.D.// Ibid. – P.178— 190