

Лекция №3.

Выявление и диагностика туберкулеза.

План лекции.

I. Выявление туберкулеза.

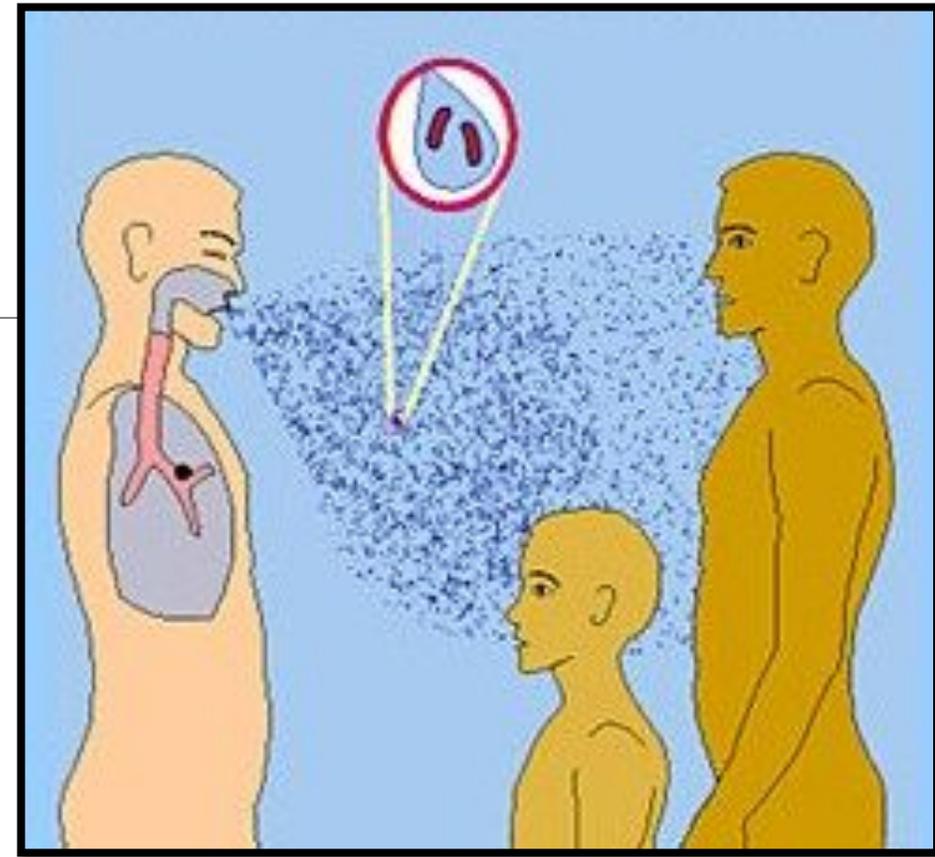
1. Процесс диагностики
2. Методы выявления туберкулеза
 - A. Клинический
 - B. Лучевой
 - C. Эндоскопический  Гистоморфологический 
 - D. Биопсия плевры, легких и лимфатических узлов
 - E. Бактериологический
 - F. Иммунологический
 - G. Микробиологический

Выявление туберкулеза.

Выявление больных —
составная часть борьбы
с туберкулезом,
направленная на
идентификацию случаев
этой болезни в обществе.



Длительное течение туберкулеза у больных, не учтенных противотуберкулезным диспансером, представляет большую эпидемиологическую опасность для окружающего населения, особенно при массивном и обильном выделении МБТ.



Процесс диагностики туберкулеза

ВКЛЮЧАЕТ НЕСКОЛЬКО ЭТАПОВ:

1. Отбор лиц с различными заболеваниями легких среди больных, обратившихся за медицинской помощью в учреждения первичной медико-санитарной помощи (ПМСП):

- Лица с рентгенологическими изменениями, подозрительными на туберкулез, при прохождении ежегодной флюорографии (ФГ).
- Лица с жалобами, подозрительными на туберкулез (кашель более 3 недель, кровохарканье, субфебрильная температура более 2 недель).
- Дети и подростки с положительными реакциями на диагностические тесты.



Методы обследования больных.

2. ОДМ в ПМСП

1. Анализ жалоб, анамнеза (включая сбор данных о возможном туб. контакте). Данные объективного осмотра.
2. ОАК, ОАМ
3. Рентгенография грудной клетки цифровая или аналоговая, линейная томография.
4. Микробиологическое исследование включающее
 - Исследование 2х образцов материала методом микроскопии, ПЦР, посева на питательные среды
 - Идентификация культур выросших на питательных средах
 - Определение лекарственной чувствительности
 - 5. Диаскинтест

3. Обследование в учреждениях противотуберкулезной службы (ПТС).



Методы выявления туберкулеза

- Массовые
- Групповые
- Индивидуальные

Методы выявления туберкулеза

1. Клинический

2. Лучевой

– флюорография

– R-графия

– КТ, МРТ

3. Эндоскопический (ФБС, медиастиноскопия...)

4. Бактериологический

– простая микроскопия с окраской по Цилю-Нельсену

– люминисцентная микроскопия

Клинический метод выявления туберкулеза.

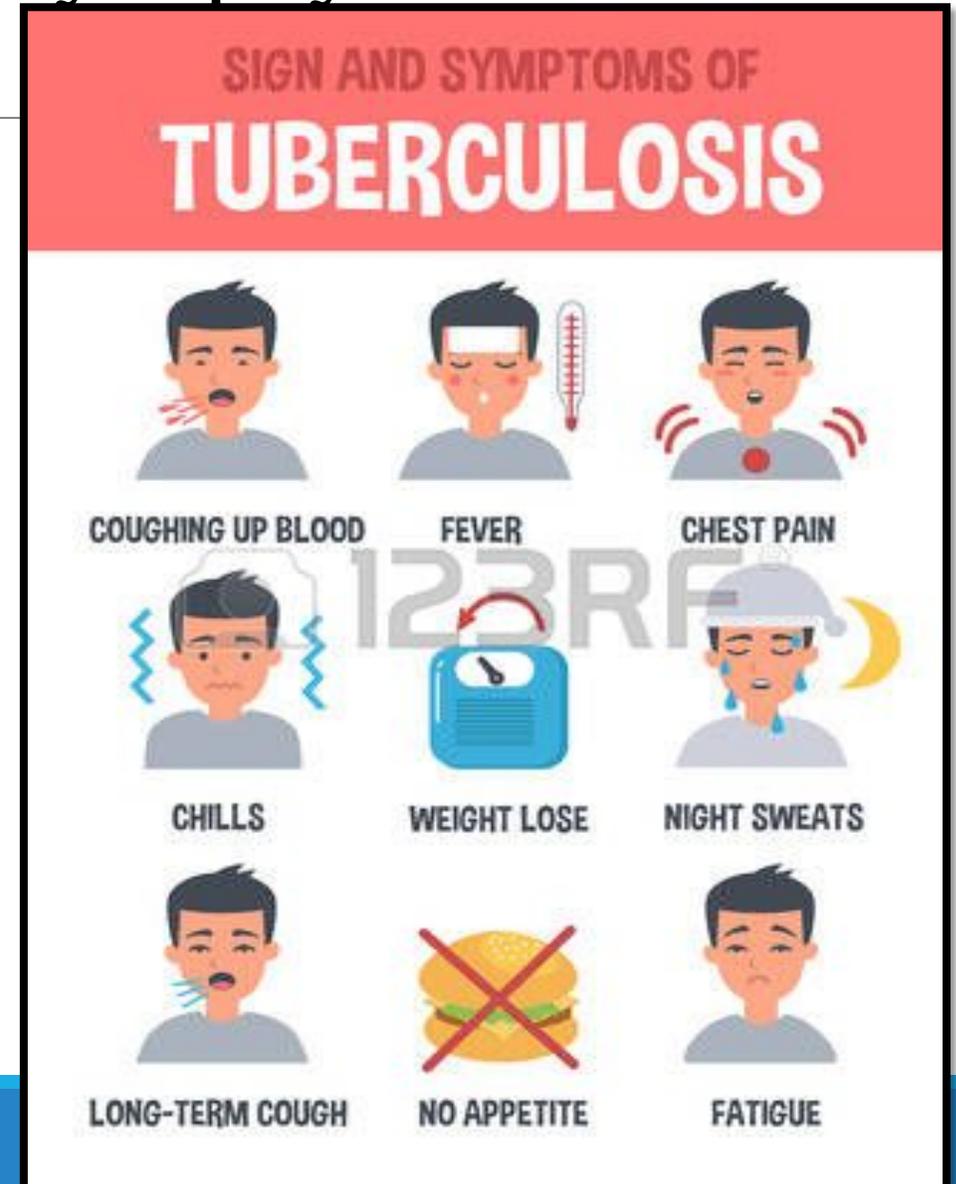
Исследование любого больного включает в себя этапы:

- сбор жалоб на момент заболевания;
- анамнез заболевания (*anamnesis morbi*);
- эпидемиологический анамнез
- анамнез жизни (*anamnesis vitae*);
- объективное исследование (осмотр, пальпация, перкуссия, аускультация)

Характерные клинические признаки по которым можно заподозрить туберкулёз:

Жалобы :

- слабость ,утомляемость;
- ночной пот;
- повышение температуры;
- подкашливание;
- кашель с мокротой ;
- боли в грудной клетке ;
- похудание;
- кровохарканье.

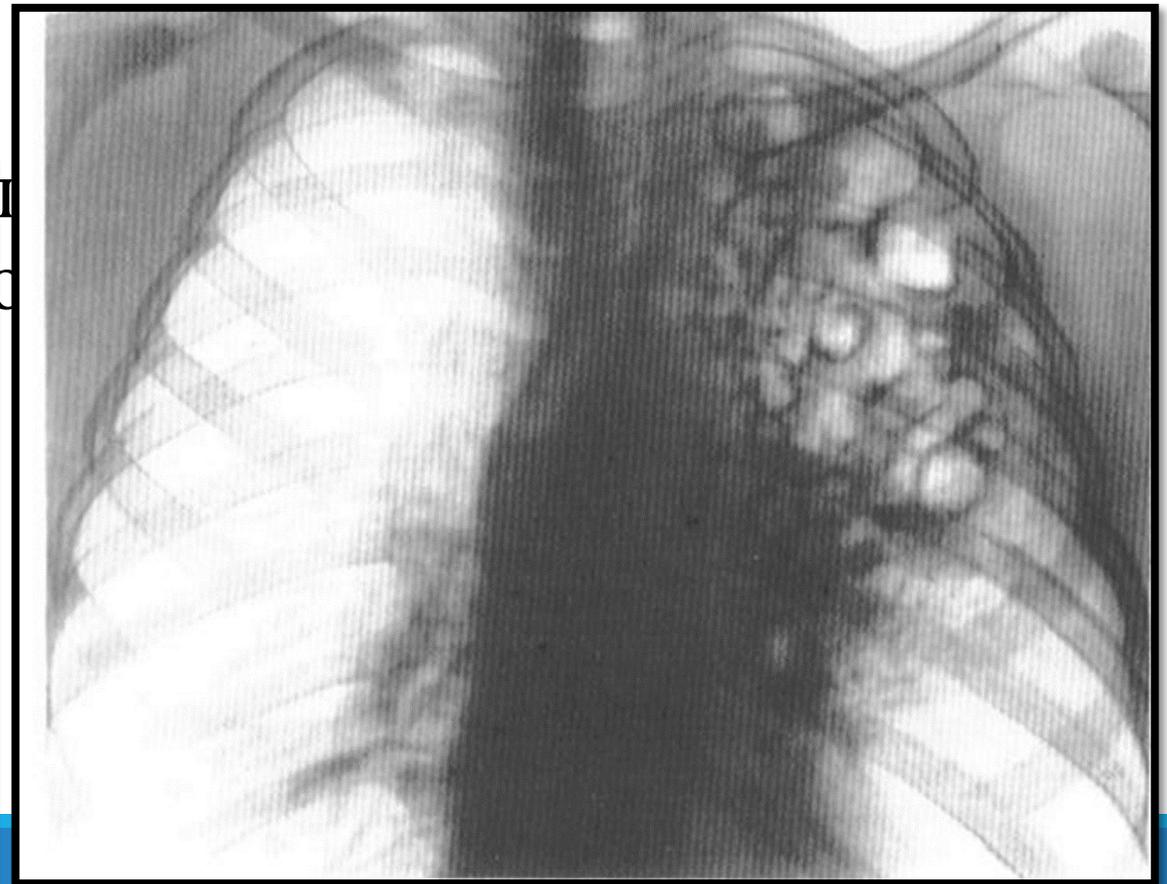


Анамнез жизни:

- психические и физические травмы , стрессы (экзамен, развод);
- беременность , роды ;
- сопутствующие заболевания (сахарный диабет, язвенная болезнь);
- наркомания;
- алкоголизм ;
- ВИЧ-инфекция;
- хронический бронхит и курение(синдром неподвижных ресничек);
- бесплодие (до 90% это туберкулёз);

• ИМПЕДИМЕНТЫ

Эпидемиологический анамнез:



П
С

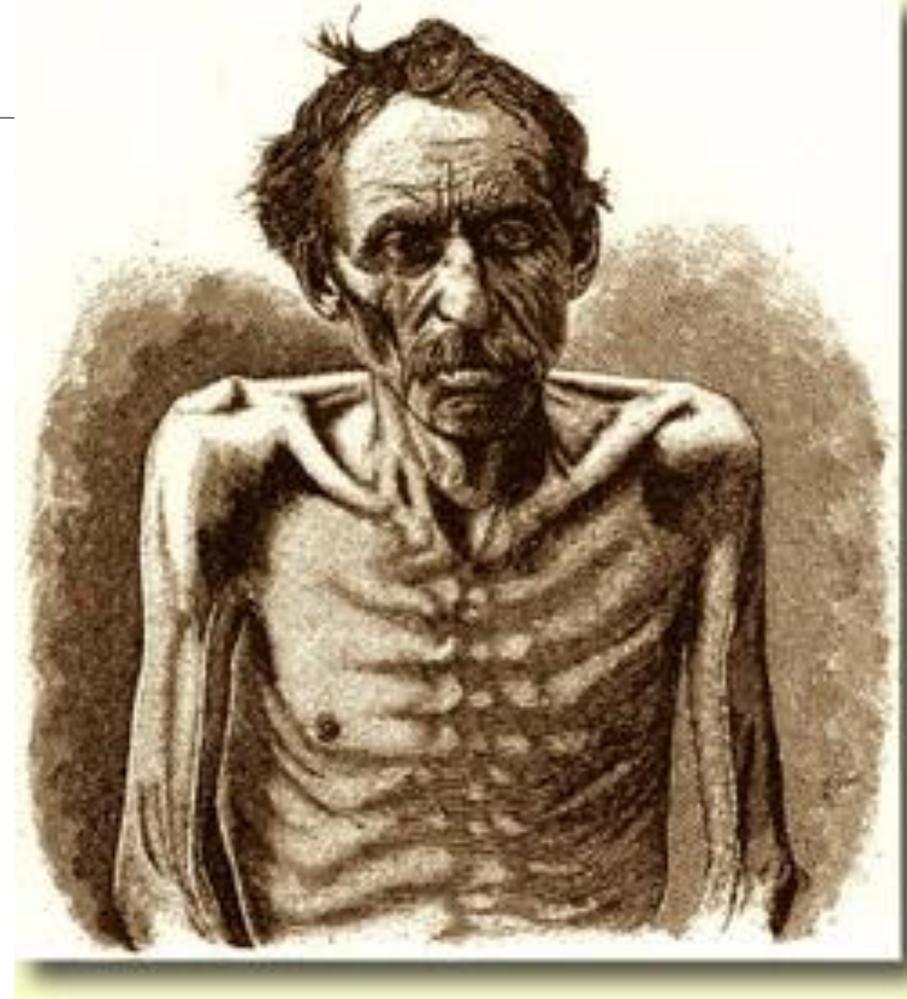
Анамнез заболевания:

- Острое, подострое, «бессимптомное» начало заболевания
- *Бессимптомный туберкулез – плохо собранный анамнез и плохо осмотренный больной*
- Длительность
- Регулярность ФГ исследований
- Регулярность проведения пробы Манту
- Детали маршрута пациента на этапах медицинской помощи
- Предшествующее лечение

Осмотр :

Внешний вид (*habitus phtisicus*):

дефицит массы тела,
румянец на бледном лице,
блеск глаз и широкие зрачки,
дистрофические изменения кожи,
длинная и узкая грудная клетка,
расширенные межреберные
промежутки, острый надчревный угол,
отстающие (крыловидные) лопатки



Кожные покровы:

Бледность, цианоз, бронзовый оттенок

Наличие сыпи (геморрагической, папулезной и т.д.)

Расширение венозной сети (симптомы Видергофера , Франка)

Гнойные свищи (шея, спина, над лимфоузлами)

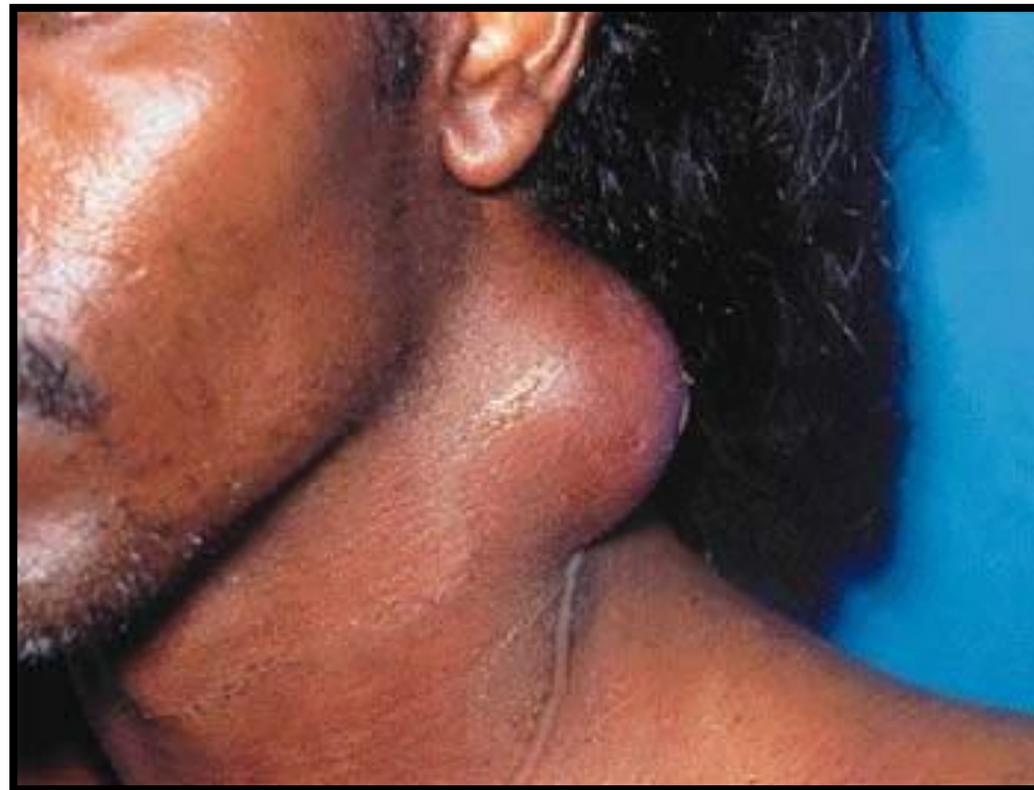
Стигмы дизонтогенеза:



Периферические лимфоузлы:

лимфоаденопатии

полиадения



Параспецифические реакции

(кератоконъюнктивит, артралгия и т.д.)



Методы физикального обследования:

Перкуссия :

- лёгких;
- подвижности диафрагмы
- сердца.

Аускультация :

- жёсткое , ослабленное дыхание ;
- хрипы.



Лабораторные исследования :

- анализ крови : СОЭ 16-40 ;
лимфопения;
моноцитоз.
- анализ мочи : белок ;
эритроцитурия;
лейкоцитурия.

После того, как врач предположил туберкулез. Ему необходимо подтвердить свой диагноз.

В соответствии с федеральными клиническими рекомендациями по диагностике и лечению туберкулеза органов дыхания от 2014г:
Обязательный диагностический минимум (ОДМ) включает в себя:

- Рентгенография грудной клетки цифровая или аналоговая.
- Линейная томография.
- Микробиологические исследования, включающие:
 - исследование двух образцов диагностического материала методами микроскопии, ПЦР, посева на жидкие и/или плотные питательные среды;
 - идентификация культур, выросших на питательных средах;
 - определение лекарственной чувствительности (ЛЧ) микобактерий туберкулеза (МБТ) к противотуберкулезным препаратам (ПТП) классическими микробиологическими и молекулярно-генетическими методами (МГМ).
- Диаскинтест детям и подросткам

Если диагноз не ясен, проводятся дополнительные методы исследования (ДМИ):

Неинвазивные

- Допускается (при необходимости) увеличение кратности микробиологического исследования мокроты.
- Спиральная компьютерная томография в алгоритме высокого разрешения с шагом томографа не более 2-мм легких и средостения.

Лучевые.

- крупнокадровая флюорография(размер кадров 70х70,100х100 и 110х110мм) – устарел, практически не используется ;
- цифровая малодозная флюорография;
- рентгенография;
- различные виды томографии, в том числе компьютерная томография (КТ);
- томосинтез
- рентгеноконтрастные методы: бронхография, фистулография, плеврография, ангиопульмонография
- радиоизотопное исследование
- ультразвуковое исследование

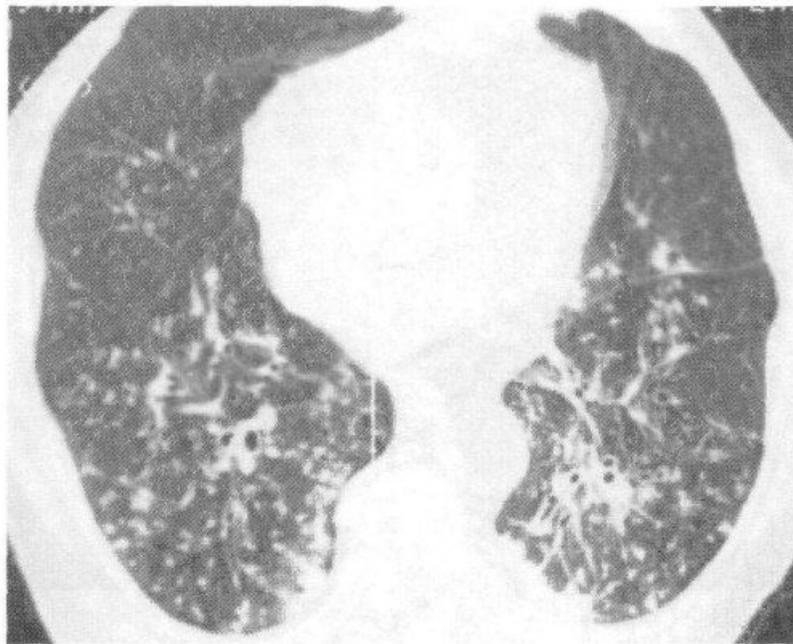


крупнокадровая
флюорография

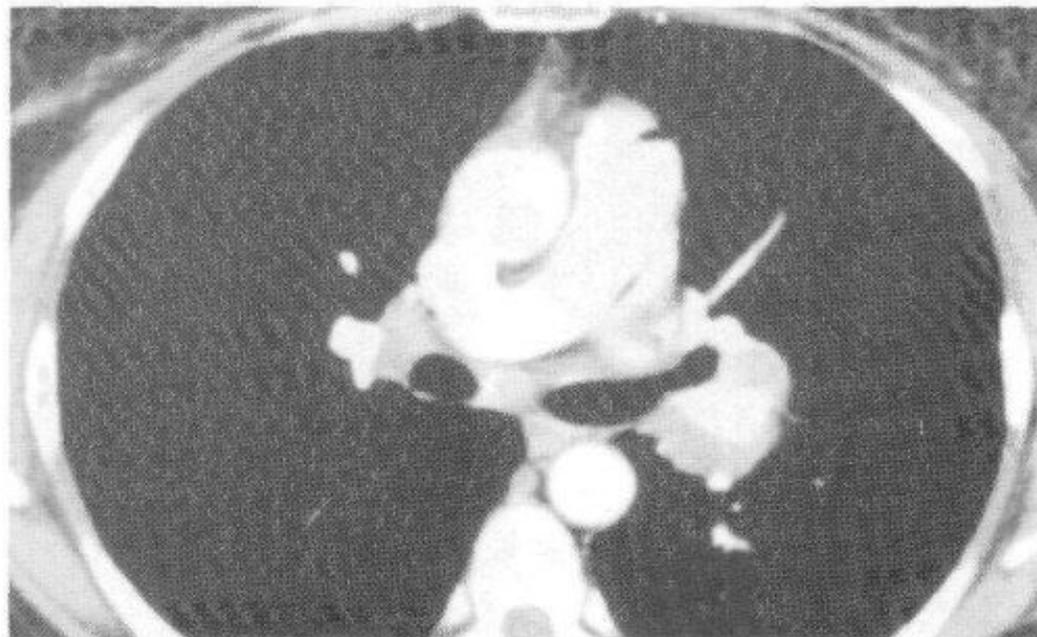
Множественные туберкулемы, очаги



а



б



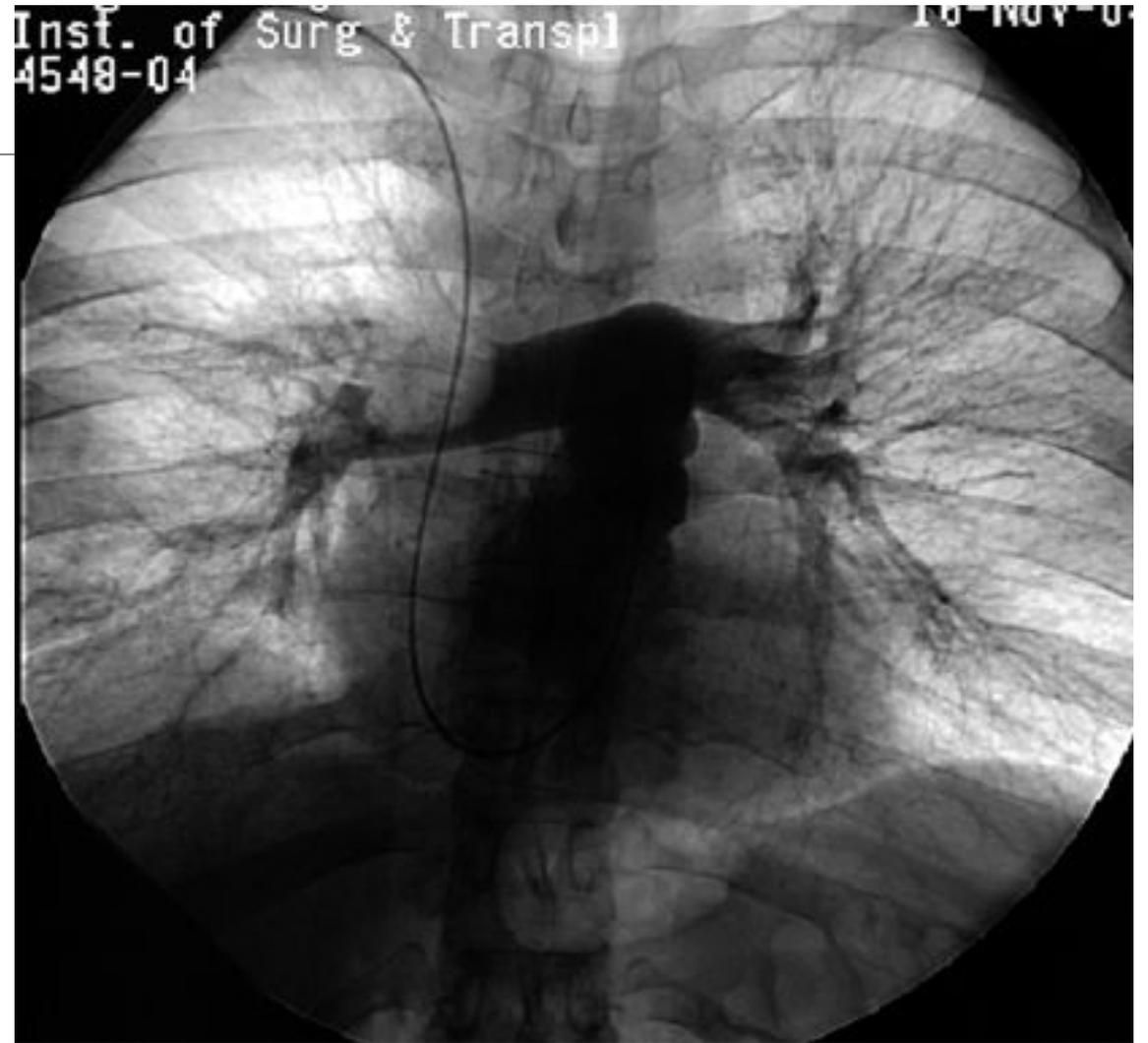
(в) КТ-ангиография, мягкотканное окно, уровень левого главного бронха. В корне левого легкого крупные увеличенные лимфатические узлы.

Туберкулез
внутригрудных
лимфатических узлов,
осложненный
— бронхолимфогенной —
диссеминацией. (а, б)
высокоразрешающая КТ,
легочное окно, уровень
базальных сегментов
нижних долей . В задних
сегментах нижних долей
обоих легких,
преимущественно в
кортикальных отделах,
множественные
полиморфные
центрилобулярные очаги,

Бронхография

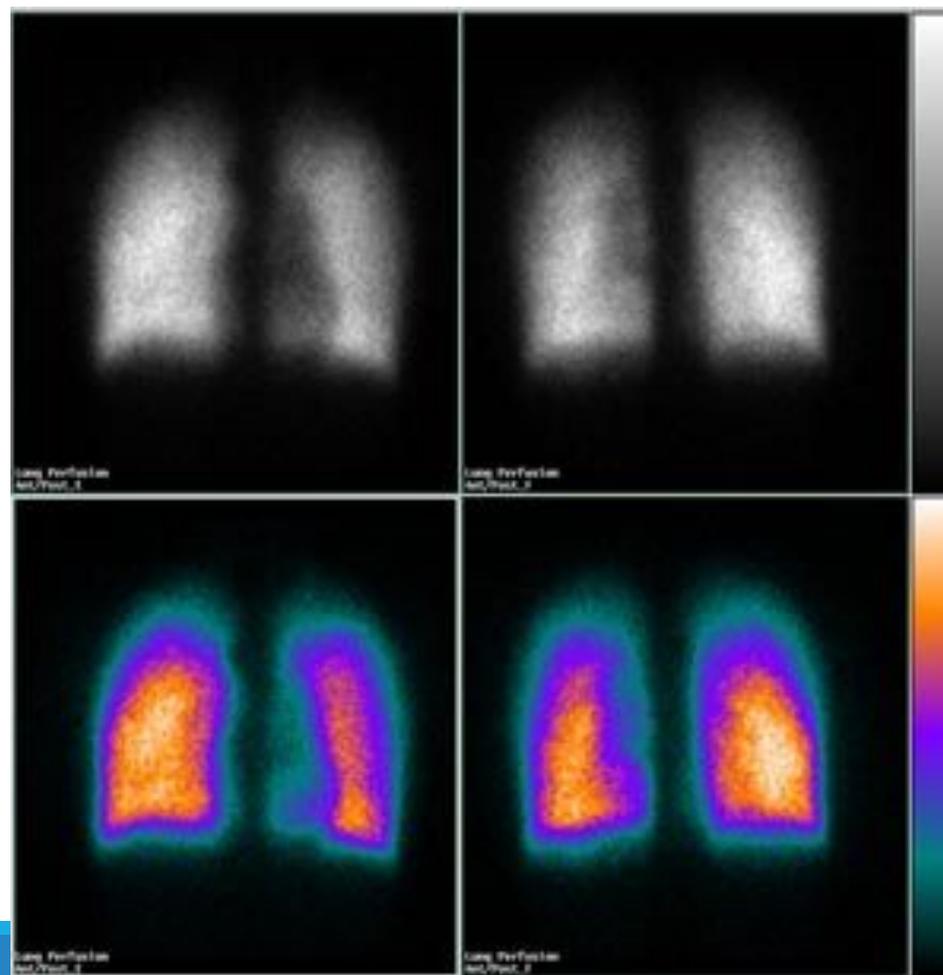


Ангиопульмонография



ТЭЛА

Радиоизотопное исследование



Ультразвуковое исследование



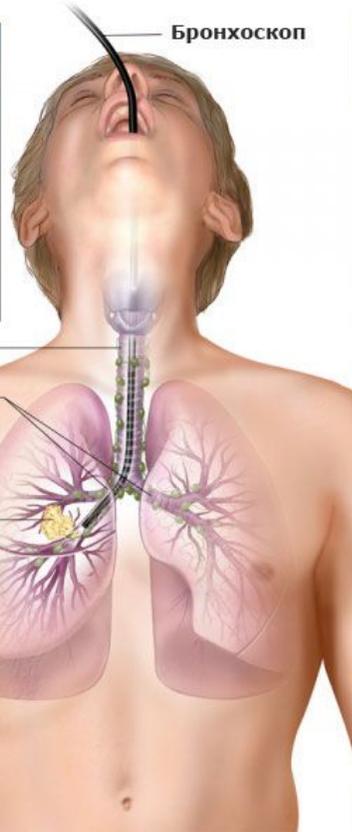
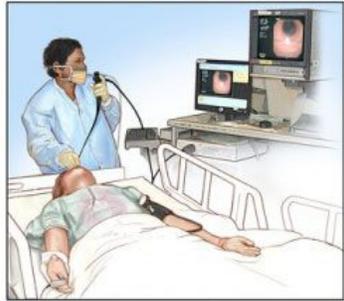
Эхографическая семиотика кавернозного туберкулеза левой почки. В проекции паренхимы визуализируется округлой формы образование с нечеткими контурами и гиперэхогенной капсулой. Содержимое образования гипоэхогенно, с небольшим количеством дисперсного осадка. На правой половине снимка - изображение с использованием функции ZOOM.

Инвазивные (по показаниям)

с цитологическим, гистологическим и микробиологическим исследованием диагностического материала (микроскопия, ПЦР, посев, определение ЛЧ микробиологическими и молекулярно-генетическими методами)

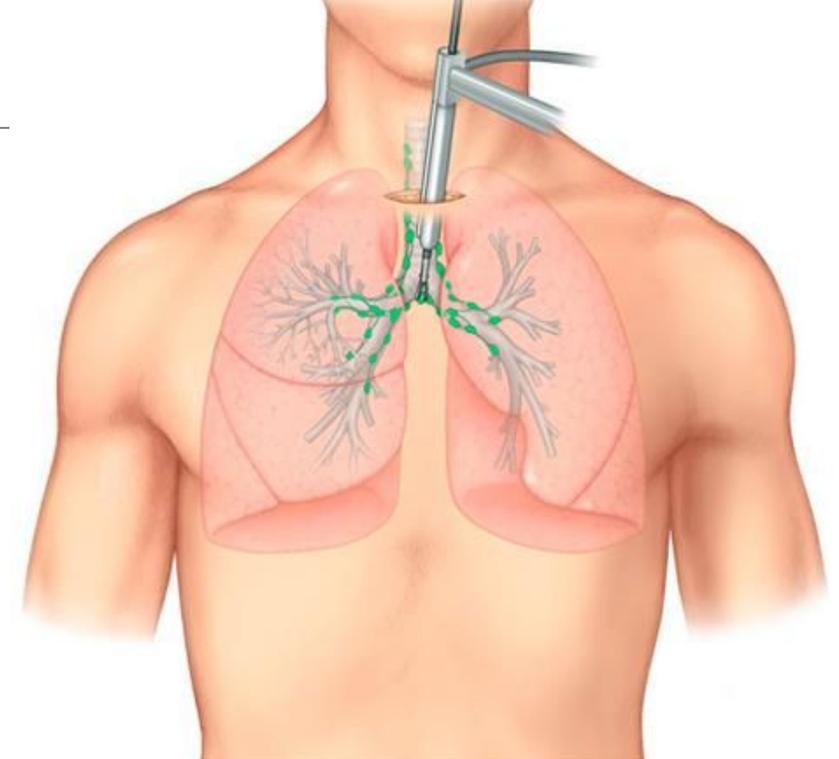
- Фибробронхоскопия с комплексом биопсий: браш-биопсией, транстрахеальной и трансбронхиальной пункцией, прямой биопсией слизистой оболочки бронхов, патологических образований в них, исследование бронхоальвеолярных смывов (БАС).
- Трансторакальная аспирационная биопсия легкого.
- Пункционная биопсия плевры.
- Диагностические операции: медиастиноскопия с биопсией лимфоузлов, открытая биопсия легкого и лимфоузлов, открытая биопсия плевры.

Эндоскопические.



Бронхоскоп
Трахея
Бронхи
Исследуемый объект

© 2006 Terese Winslow
U.S. Govt. has certain rights



Бронхоскопия

Торакоскопия

Медиастиноскопия

Иммунологические.

Иммунологические методы — диагностические методы исследования, основанные на специфическом взаимодействии антигенов и антител.

- Туберкулинодиагностика:
 - Проба Манту
 - Проба Коха
 - Проба Пирке
- Диаскинтест
- Тесты освобождения гамма-интерферона (IGRA-тесты)

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.

Согласно рекомендациям ВОЗ и Международного союза по борьбе с туберкулезом и легочными заболеваниями (International Union against Tuberculosis and Lung Diseases, IUATLD), пробу проводят с двумя туберкулиновыми единицами очищенного туберкулина (PPD).

Туберкулин (точное название «альт-туберкулин», АТ) Коха – это «вытяжка», лизат из микобактерий туберкулеза, инактивированных нагреванием.

С конца 60-х годов 20-го столетия были разработаны чистые препараты туберкулина (не содержащие примесей), так называемые РРД (Purified Protein Derivate – очищенный дериват белка), которые применяются и по сей день.

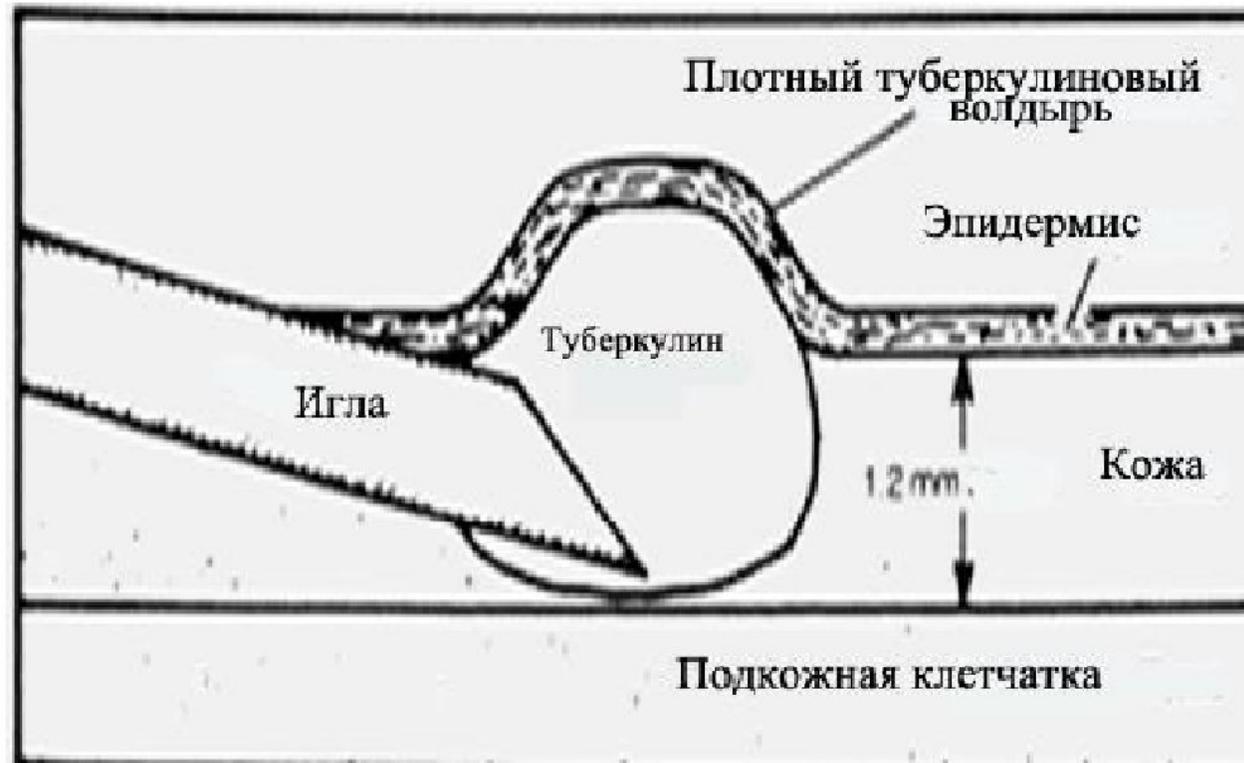
В России применяется препарат ППД-Л, т.е. очищенный туберкулин, полученный русским ученым Линниковой в 1965 году.

Что такое реакция Манту?

Реакция Манту – это результат реакции организма на введение туберкулина.

В месте инъекции препарата в кожу возникает специфическое воспаление, вызванное инфильтрацией Т-лимфоцитами.

Схема правильного введения туберкулина



Реакция считается:

отрицательной - при полном отсутствии уплотнения или при наличии только уколочной реакции (0-1 мм);

сомнительной - при “пуговке” размером 2-4 мм и при покраснении любого размера без уплотнения;

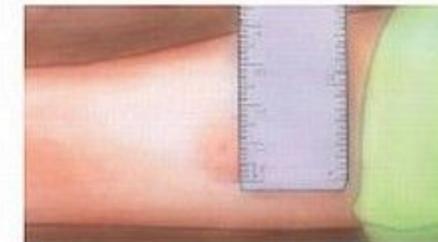
положительной - при наличии выраженного уплотнения диаметром 5 мм и более. Слабо положительными считаются реакции с размером “пуговки” 5-9 мм в диаметре; средней интенсивности - 10-14 мм; выраженными - 15-16 мм;

очень сильно выраженной у детей и подростков считается реакция с диаметром уплотнения 17 мм и более.

Техника проведения



Оценка реакции



Виды реакции на пробу



Отрицательная реакция
при полном отсутствии
папулы



Положительная реакция
при наличии папулы
любого размера



Сомнительная реакция
при наличии гиперемии
без папулы



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



В Российской Федерации впервые в мировой практике разработан на базе двух рекомбинантных белков ESAT-6/CFP-10 препарат **ДИАСКИНТЕСТ**, предназначенный для:

- **дифференциальной диагностики туберкулеза;**
- **оценки активности процесса;**
- **дифференциальной диагностики инфекционной и поствакциной аллергии;**
- **оценки эффективности лечения в комплексе с другими методами.**

Препарат ДИАСКИНТЕСТ® представляет собой рекомбинантный белок, продуцируемый генетически модифицированной культурой *Escherichia coli*.

Содержит два антигена (ESAT-6 и CFP-10), продуцируемые вирулентными и размножающимися штаммами МБТ и не продуцируемые:

- БЦЖ-МБТ,**
- не размножающимся МБТ**
- большинством нетуберкулезных микобактерий (M.avium, M.fortuitum, M.xenopi, M.celatum и др.)**

ПРИ ВНУТРИКОЖНОМ ВВЕДЕНИИ ПРЕПАРАТА ДИАСКИНТЕСТ®

**развивается специфическая кожная реакция, являющаяся
проявлением **гиперчувствительности**
замедленного типа**



УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

- ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ – полное отсутствие инфильтрата и гиперемии или “уколочная реакция”
- СОМНИТЕЛЬНЫЙ – при наличии гиперемии без инфильтрата
- ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ – при наличии инфильтрата (папулы) любого размера
 - СЛАБО ВЫРАЖЕННАЯ – инфильтрат до 5 мм
 - УМЕРЕННО ВЫРАЖЕННАЯ – инфильтрат 5-9 мм
 - ВЫРАЖЕННАЯ – инфильтрат 10 мм и более
 - ГИПЕРЕРГИЧЕСКАЯ – инфильтрат 15 мм и более, при везикуло-некротических изменениях и (или) лимфангите, лимфадените независимо от размера инфильтрата

**А., 16 лет, с 2005 г. по поводу инфицирования ,
ежегодно проводилась превентивная химиотерапия.**

Диаскинтест «-», р. Манту «+».



**Г., 12 лет, ТВГЛУ в фазе кальцинации,
излечение
ДИАСКИНТЕСТ «-»., п. Манту «+»**



К. , 8 лет ТВГЛУ



М., 9 лет, поствакцинная аллергия (Манту «+», Диаскинтест «-»)



**С., 11 лет, из контакта с
бактериовыделителем:
(п. Манту «+», Д – тест «+»)**



Уколоточная реакция на Диаскинтест



Пример «извращенной» реакции на Диаскинтест у больного атопическим дерматитом



ОСНОВНЫЕ ПРИЧИНЫ ОТРИЦАТЕЛЬНОЙ РЕАКЦИИ НА ДИАСКИНТЕСТ®

- Отсутствие инфицирования МБТ**

- Неактивная туберкулезная инфекция у ранее инфицированных лиц**
- Инфицирование или заболевание, вызванное нетуберкулезными микобактериями**
- У больных с иммунопатологическими нарушениями, обусловленными тяжелым течением туберкулезного процесса**
- У лиц с сопутствующей патологией, сопровождающейся иммунодефицитным состоянием (ВИЧ, иммуносупрессивная терапия в т.ч. после трансплантации органов)**

Выводы:

1. Диаскинтест является:

одним из основных тестов в дифференциальной диагностике поствакцинальной и инфекционной аллергии.

тестом с высокой информативностью (чувствительность - 92,7% у детей и 81,5% у взрослых, специфичности - 93,7% у взрослых).

2. Считается целесообразным с целью дифференциальной диагностики и определения активности туберкулезного процесса одновременное проведение пробы Манту с 2 ТЕ и Диаскинтеста

Тесты освобождения гамма-интерферона (IGRA-тесты)

Открытие антигенов, специфичных для МБТ и отсутствующих в штамме VCG и большинстве НТМБ, привело к разработке диагностических тестов **in vitro**.

В основе этих методов лежит выявление секреции **интерферона-гамма (ИНФ γ)** мононуклеарными клетками периферической крови в результате их **взаимодействия со специфическими белками микобактерий туберкулеза (ESAT-6 и CFP-10)**.

У людей с ВИЧ-негативным статусом эти тесты показали **высокую чувствительность** и **почти абсолютную специфичность** по выявлению Латентной ТИ.

В Российской Федерации в клинической практике используются тест-системы

T-SPOT.TB и **QuantiFERON-TB Gold.**

Широкому применению IGRA-тестов препятствует высокая стоимость исследования и необходимость специального лабораторного оборудования.

Микробиологические методы диагностики туберкулеза.

Бактериоскопический (прямая, люминесцентная микроскопия)

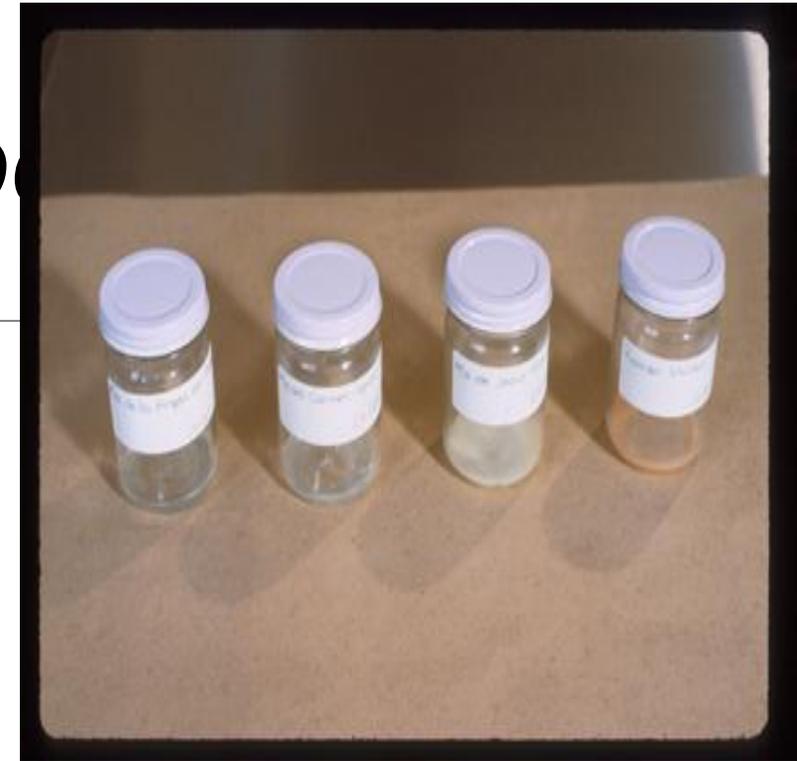
Бактериологический (культуральный, посев на питательные среды, ВАСТЕС)

Биологический (заражение подопытных животных патологическим материалом), в настоящее время в клинической практике не используется.

Патологическим материалом для исследования на наличие МБТ является

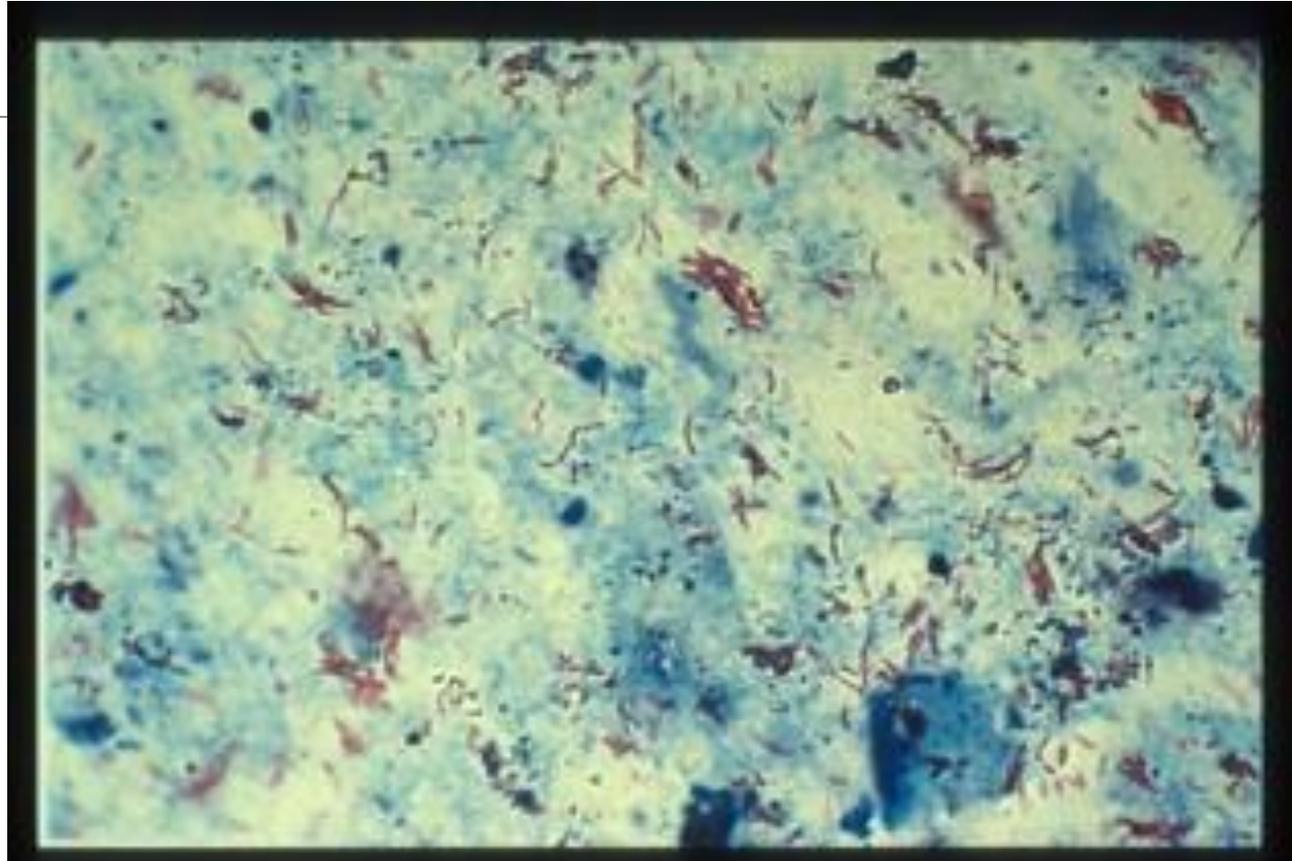
- мокрота,
- промывные воды желудка, бронхов,
- моча,
- кал,
- спинномозговая жидкость,
- экссудат из плевральной и брюшной полостей,
- гной из натеchnиков,
- синовиальная жидкость,
- пунктат из лимфоузлов,
- менструальная кровь.

Бактериоскопический метод



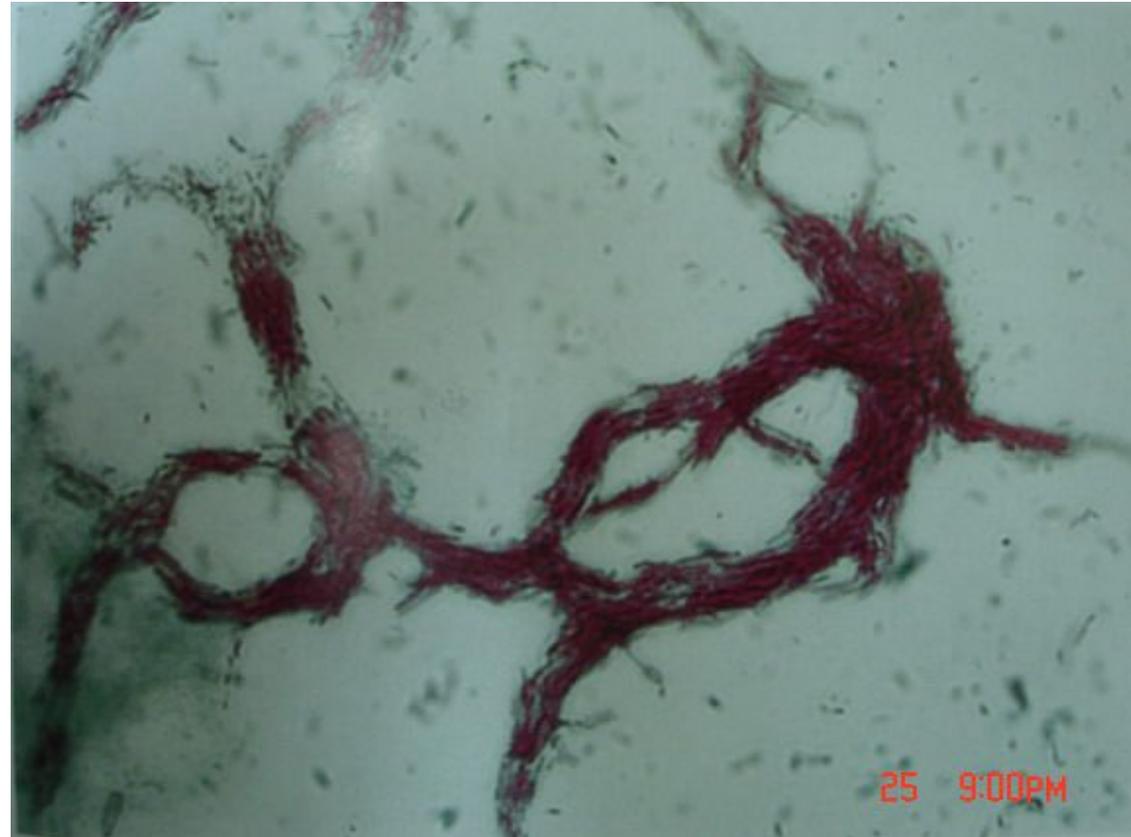
С целью лучшего выявления бактерии туберкулеза рекомендуется забирать три пробы. Хотя бы одна из них должна быть собрана **ранним утром**.

Окраска по Ziehl Neelsen



Кислотоустойчивые микобактерии видны как тонкие красные палочки на голубом фоне. Они могут быть слегка изогнутыми, зернистыми и могут располагаться поодиночке, парами или группами.

Микроколонии *M. tuberculosis* в виде жгутов и кос. Циль-Нельсен x900



Бактериоскопический метод

прямая микроскопия, разрешающая способность очень низкая (100 000 микобактерий туберкулеза в 1 мл исследуемого материала).

люминесцентная микроскопия (10 000 МБТ в 1 мл исследуемого материала).

Результаты бактериоскопии оценивают следующим образом:

- 1-9 КУМ в 100 п/з (указывают точное число КУМ) – единичные КУМ в препарате;
- 10-99 КУМ в 100 п/з (1+) – единичные КУМ в поле зрения;
- 1-10 КУМ в 1 п/з (2+) – умеренное количество КУМ;
- более 10 КУМ в 1 п/з (3+) – значительное количество КУМ.

Исследование мокроты с окраской по Циль-Нельсену на КУМ

чувствительность метода – 50% (в 50% случаев ложноотрицательные результаты)

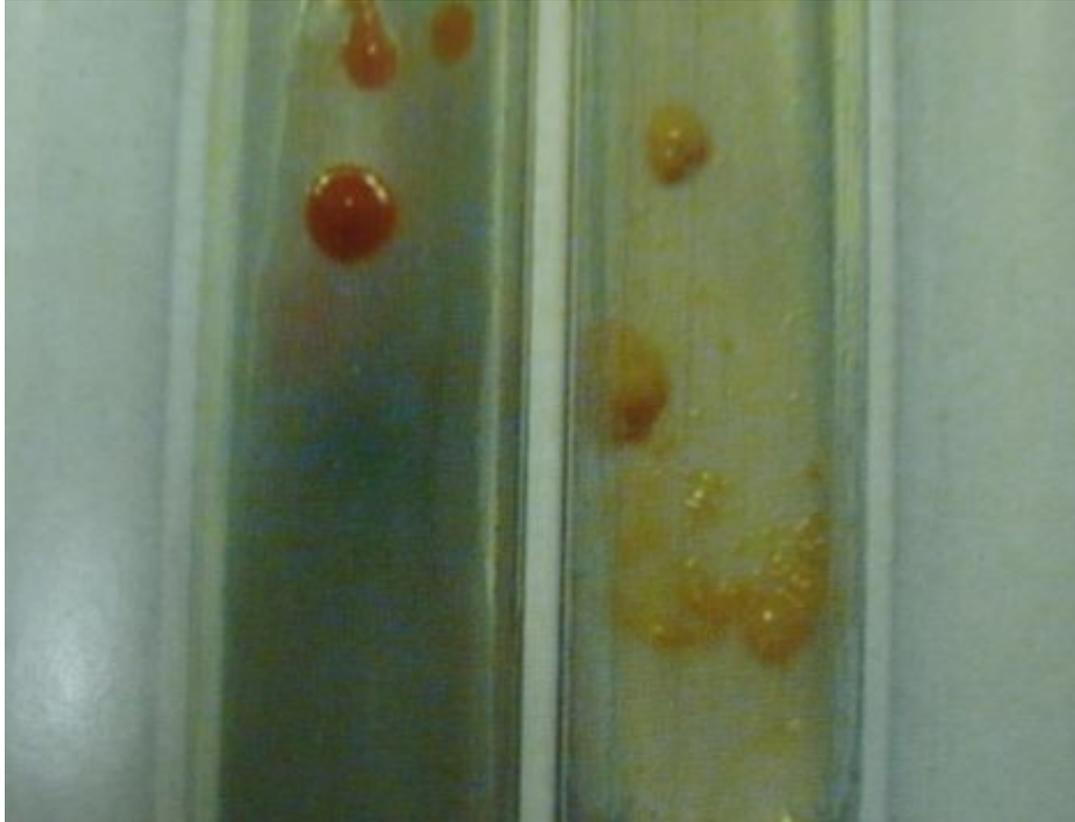
специфичность метода – 96% (4% ложноположительных результатов)

Бактериологический метод

позволяет типировать культуру микобактерий

позволяет судить о чувствительности культуры микобактерий к различным химиопрепаратам

Результаты посева на МБТ



S -формы
колоний
микобактерий



R-формы колоний
микобактерий

Оценка культурального метода

1-20 КОЕ (1+) – «скудное» бактериовыделение;

21-100 КОЕ (2+) – «умеренное» бактериовыделение;

более 100 КОЕ (3+) – «обильное» бактериовыделение.

Посев мокроты на МБТ

- чувствительность метода – 87% (13% ложноотрицательных результатов)

- специфичность метода – 99% (1% ложноположительных результатов)

ВАСТЕС

В последние годы для ускорения роста микобактерий предложены питательные среды на агаровой основе с различными ростовыми добавками и применением специальной газовой смеси.



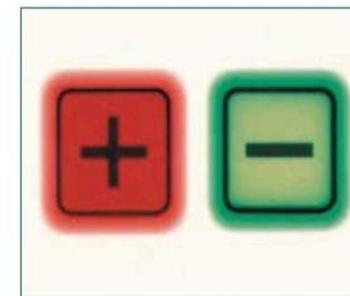
Выбор операции



Сканирование штрих-кода



Загрузка ячейки, выделенной зеленым индикатором



Указатели положительной и отрицательной детекции МБ

Система ВАСТЕС относится к разработкам высоких технологий и предназначена для **ускоренной** бактериологической диагностики туберкулёза и определения чувствительности микобактерий к препаратам первого ряда и некоторым препаратам второго ряда.



Определение ЛЧ МБТ с помощью системы ВАСТЕС MGIT 960 Рис. 43

В её основе лежит флюоресценция, возникающая при потреблении кислорода микобактериями в процессе роста.

Кислородзависимый флюорохромный краситель содержится на дне специальной пробирки и покрыт слоем силикона.

Размножение микобактерий приводит к уменьшению количества кислорода в пробирке и снижению его концентрации, что вызывает усиление флюоресценции, которая становится видимой при облучении пробирки ультрафиолетовым светом и автоматически регистрируется фотодатчиками, встроенными в прибор ВАСТЕС- 960.

Интенсивность свечения регистрируют в единицах роста (GU— *growth units*). Данные роста заносятся в компьютер, где их можно сохранить, автоматически.

Компьютерный анализ кривых роста может дать информацию о наличии различных пулов микобактерий, в том числе нетуберкулезных, а также помогает оценить ростовые свойства микобактерий.



Флуоресценция пробирок MGIT Рис. 40

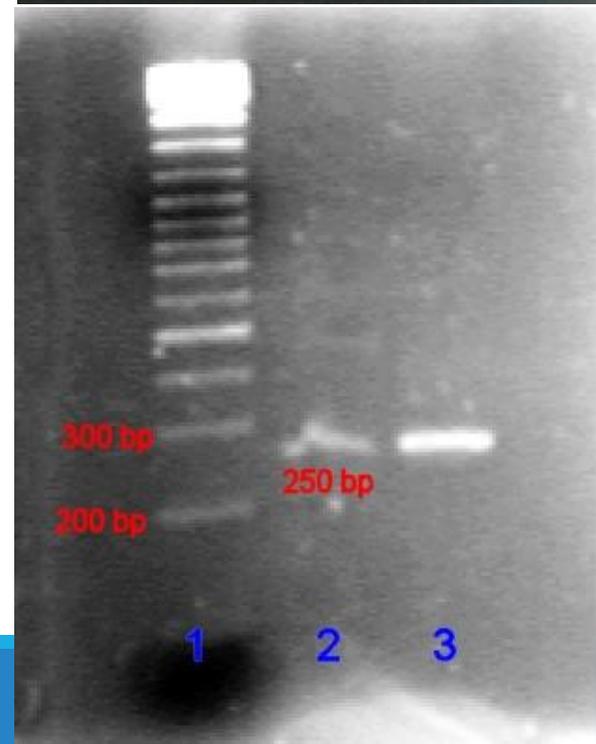
В результате внедрения таких систем время появления роста микобактерий значительно сократилось, составляя в среднем 11 - 19 дней, против 30-60 дней на стандартной плотной питательной среде.

Необходимо отметить, что эти системы требуют высокой квалификации персонала. Посев материала на жидкие среды обязательно сопровождают посевом на среду Левенштейна-Йенсена, играющую роль дублёра в тех случаях, когда на других средах микобактерий туберкулеза не дают роста.

Полимеразная цепная реакция (ПЦР)

ПЦР позволяет проводить прямое определение микроорганизмов непосредственно в клиническом материале без получения чистой культуры возбудителя.

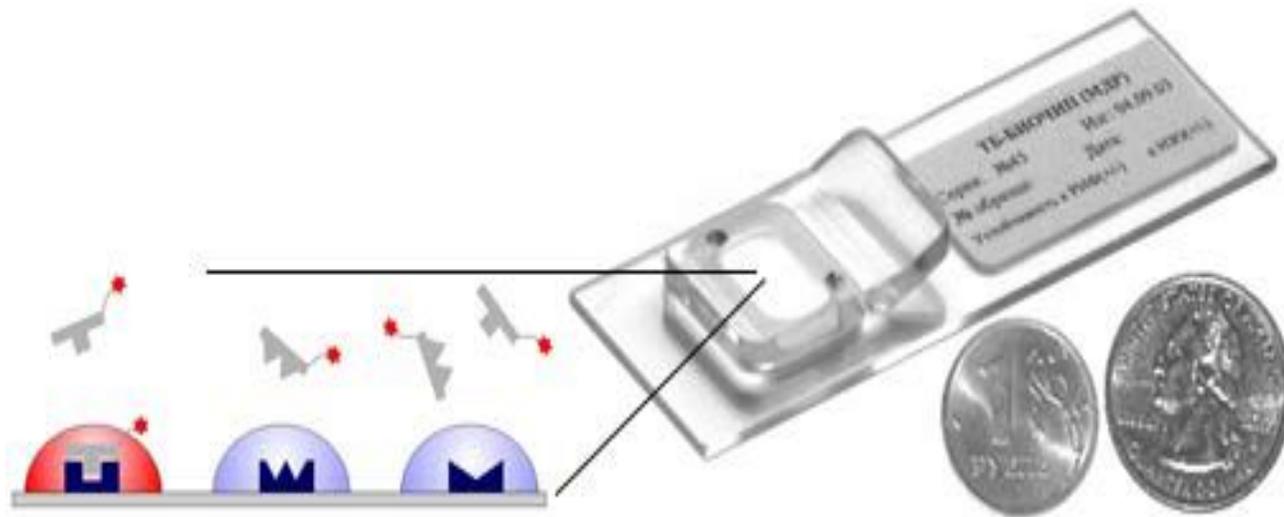
ПЦР - диагностика туберкулеза как правило строится на использовании последовательностей ДНК специфичных для всех видов группы туберкулеза.



Биочипы



В основе принципа работы всех молекулярных биочипов с иммобилизованными зондами лежит способность биологических макромолекул к молекулярному узнаванию (высокоспецифичному избирательному связыванию с другими молекулами).

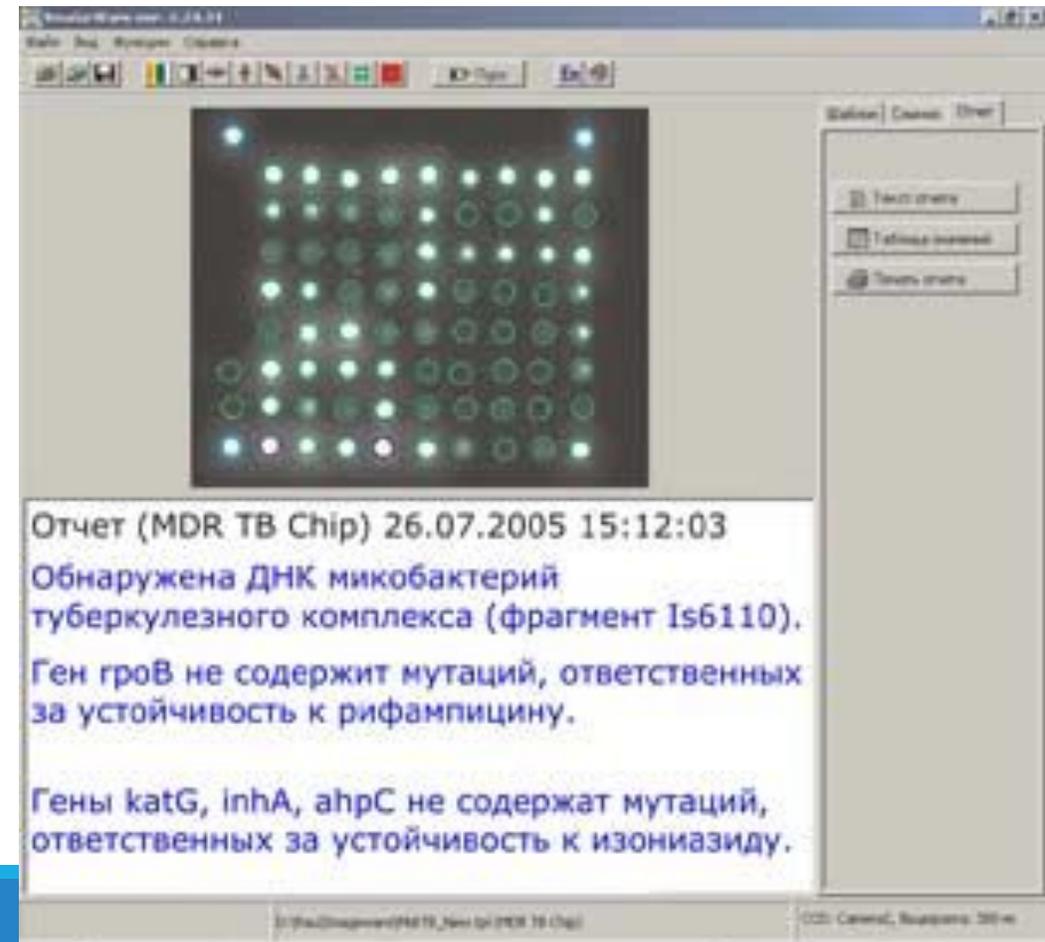
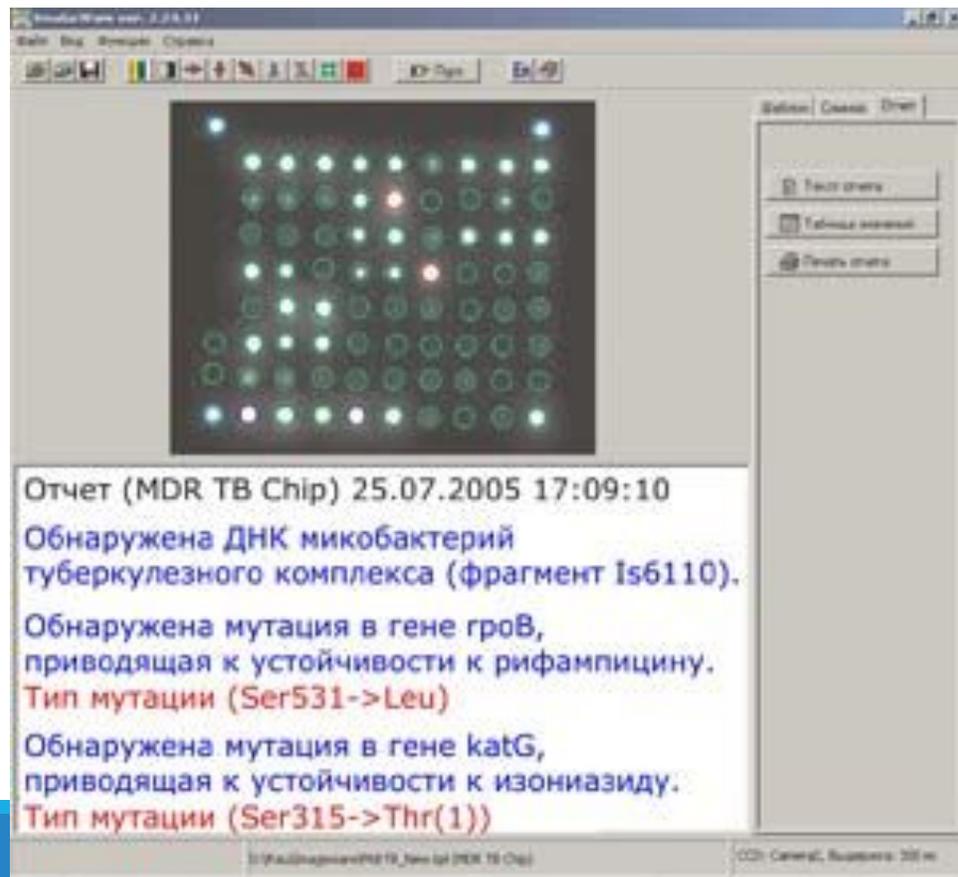


На матрице расположено около 100 ячеек в которых содержится вещество позволяющее определить наличие определенного участка ДНК.

При нанесении материала, содержащего участки ДНК способные связаться с материалом ячейки биочипа, после соответствующей обработки, появляется флюоресцентное свечение.



Интенсивности флуоресценции из ячеек измеряются с помощью люминесцентного микроскопа, передающего сигнал на прибор с зарядовой связью. После этого данные подвергаются компьютерной обработке.



Благодарю за внимание!

