

АО «Медицинский Университет Астана»

СРС

Методы диагностики микобактерий
Туберкулеза

Выполнила: Курмангалиева У.,
785 ВБ

АСТАНА 2017

Лабораторная диагностика туберкулеза

- * Наиболее характерные изменения в анализах крови. Основными причинами изменений состава крови у больных туберкулезом являются интоксикация и гипоксия. У больных с начальными формами туберкулеза в крови содержится нормальное количество эритроцитов и гемоглобина. По мере нарастания патологических изменений в легочной ткани нарушается газообмен, в результате чего у больных туберкулезом может развиваться гиперхромная анемия (увеличение количества гемоглобина при уменьшенном количестве эритроцитов). При резком исхудании больного могут наблюдаться явления гипохромной анемии, которая характеризуется уменьшением количества эритроцитов и гемоглобина.

* При начальных фазах инфильтрата, обострениях очагового, хронического, диссеминированного и кавернозного процесса, при казеозной пневмонии может наблюдаться лейкоцитоз в пределах 12 000 — 15 000. При всех остальных формах туберкулеза, если нет сопутствующих заболеваний, количество лейкоцитов редко бывает выше нормы. Более характерен нейтрофильный сдвиг влево, который наблюдается при начальных формах и обострении туберкулезного процесса. Появляются палочкоядерные и даже юные нейтрофилы. Количество эозинофилов может увеличиваться у некоторых больных при антибактериальной терапии, а также при сопутствующих аллергических заболеваниях.

Тяжелые формы туберкулеза протекает с эозинопенией и лимфопенией. Лимфопения характерна для казеозных форм бронхоаденитов, казеозной пневмонии, милиарного туберкулеза.

При малых и свежих формах туберкулеза обычно наблюдается лимфоцитоз.

Повышенная СОЭ зависит от процесса туберкулеза, только при туберкулезном менингите она может быть в пределах нормы.

Обнаружение микобактерий.

- * Обнаружение микобактерий имеет решающее значение не только для диагностики туберкулеза, оно чрезвычайно важно при прогнозировании течения процесса, выборе рациональной схемы лечения и правильной оценке его эффективности.

* **Сбор материала для исследования.** Соблюдение правил сбора, хранения и транспортировки диагностического материала имеет очень важное значение, так как от этого зависит не только достоверность получаемых результатов, но и эпидемиологическая безопасность окружающих.

Материал для исследования на наличие микобактерий туберкулеза собирают в стерильные контейнеры (стеклянные банки) с плотно завинчивающимися крышками. Применение герметичных контейнеров преследует двоякую цель: предотвращение просачивания содержимого и загрязнения окружающей больного среды чрезвычайно стойкими к физическим воздействиям микобактериями; изоляцию сохраняющегося в контейнере исследуемого материала от широко распространенных вегетирующих в окружающей среде кислотоустойчивых бактерий. **Для исследования может быть использован разнообразный патологический материал:** мокрота, аспират, содержимое бронхов и другие материалы, получаемые при бронхоскопическом исследовании, промывные воды бронхов и желудка, экссудаты, гной, отделяемое ран, спинномозговая жидкость, кровь, моча, операционный материал, смывы с предметов, органы экспериментальных животных и пр. У больных с легочными формами процесса объектом исследования чаще служит **мокрота**.

Правила сбора мокроты

Определение КУМ в мокроте в ходе диагностики туберкулеза является прямым и наиболее важным признаком туберкулеза. При этом качество результатов анализа во многом определяется правильностью проведения сбора мокроты. Вот несколько основных рекомендаций, как в ходе диагностики туберкулеза нужно правильно собирать мокроту для анализа на туберкулез:

Мокрота собирается в специальный контейнер, который выдает врач, назначивший анализ.

Согласно рекомендациям ВОЗ, для диагностики ТБЛ необходимо иметь 3 образца мокроты. У амбулаторных больных это лучше всего делать в два приема:

- 1-ю порцию мокроты больной сдает при обращении к врачу;
- 2-ю порцию – собирает самостоятельно утром на второй день;
- 3-ю порцию – в тот же день при сдаче утренней порции в лабораторию.

Оценку результатов исследования мокроты проводят следующим образом:

- если 2 или 3 образца мокроты положительные, то пациентов относят к МБТ(+);
- если 1 образец положительный, а 1 отрицательный – необходимо исследовать еще один мазок;
- если 1 образец мокроты положительный, а 2 отрицательных – пациента относят к МБТ(+) при наличии клинических проявлений ТБ и/или соответствующих рентгенологических изменений.

- * Выявление МБТ в патологическом материале осуществляется
- * бактериоскопическим,
- * бактериологическим (культуральным) и
- * биологическим методами.

* Основным методом выявления МБТ является **бактериоскопический**. Во многих развивающихся странах он широко применяется не только для диагностики, но и для выявления больных туберкулезом при массовых обследованиях населения. При прямой бактериоскопии препарат окрашивают по методу Циля — Нильсена: вначале карболовым раствором фуксина, а затем после обесцвечивания 5 % раствором серной кислоты или 3 % раствором солянокислого спирта, докрашивают 0,25 % раствором метиленового синего. Окрашенные препараты микроскопируют в иммерсионной системе. МБТ окрашиваются в красный, а окружающий фон и некислотоустойчивые микроорганизмы — в синий цвет. Информативность бактериоскопического метода выявления МБТ увеличивается на 14—30 % при применении люминесцентной микроскопии. Для окраски препарата используют флюорохромы — органические красители, флюоресцирующие при освещении ультрафиолетовыми, фиолетовыми или синими лучами. Такими красителями являются аурамин, родамин С. Препарат исследуют с помощью люминесцентного микроскопа. МБТ светятся золотисто-желтым цветом на темном фоне. Для обнаружения бактериоскопическим методом МБТ в препарате необходимо, чтобы в **1 мл мокроты** содержалось **не менее 100 000 микробных тел**. При меньшем числе микобактерий исследование может дать ложноотрицательный результат.

* Для увеличения количества МБТ в единице исследуемого объема мокроты используют методы флотации и седиментации, особенно при отрицательных результатах прямой бактериоскопии. Наибольшее распространение получил метод флотации, основанный на том, что после встряхивания водной суспензии с углеводородом МБТ всплывают вместе с образующейся пеной на поверхность. В качестве углеводорода используют бензин, бензол, ксилол. Образующееся на поверхности сливообразное (флотационное) кольцо из частиц углеводорода с микобактериями служит материалом для приготовления препаратов. При использовании метода флотации число положительных результатов бактериоскопии увеличивается на 10 %.

* **Бактериологический (культуральный)** метод выявления МБТ заключается в посеве мокроты на питательные среды. Перед посевом мокроту обрабатывают с целью подавления роста неспецифической микрофлоры. Стандартной питательной средой для выращивания МБТ служит твердая яичная среда Левенштейна — Йенсена. Существуют также полужидкие и жидкие питательные среды. Рост культуры МБТ происходит за 14—90 дней. Для выделения культуры МБТ достаточно 20—100 микробных клеток в 1 мл мокроты. Получение чистой культуры микобактерий позволяет определить их жизнеспособность, вирулентность, а также чувствительность к лекарственным препаратам. Нередко определяемые при бактериоскопии микобактерии не растут на питательных средах вследствие утраты способности к размножению под влиянием химиопрепаратов. По данным бактериологического исследования проводится количественная оценка бактериовыделения: скудное — до 50 колоний на среде и обильное — более 50 колоний.

* **Биологический метод** заключается в заражении инфицированной мокротой животных (морских свинок), обладающих высокой чувствительностью к МБТ. Перед заражением животных мокроту обрабатывают серной кислотой с целью уничтожения неспецифической микрофлоры и центрифугируют. Осадок (в изотоническом растворе хлорида натрия) вводят свинке подкожно в паховую область, внутрибрюшинно или в яичко. С целью снижения резистентности морской свинки к МБТ ей ежедневно вводят большие дозы кортизона. Примерно через месяц после заражения у свинки увеличиваются лимфатические узлы и развивается генерализованный туберкулез.

* Бактериологическое и бактериоскопическое исследование необходимо проводить в сочетании. Если при бактериоскопии микобактерии не обнаружены, а при посеве наблюдается их рост, то это означает, что больной выделяет небольшое количество микобактерий туберкулеза. В случаях, когда при бактериоскопии микобактерии обнаруживаются, а результаты посева отрицательны, то это свидетельство того, что больной выделяет кислотоустойчивые бактерии пониженной жизнеспособности или же погибшие микобактерии туберкулеза.

* В настоящее время началось использование молекулярно-биологического метода гибридизации ДНК, или, по-другому, полимеразной цепной реакции (ПЦР). Сначала выделяется ДНК микобактерии, затем она клонируется и идентифицируется. Метод очень чувствительный (достаточно 1 МБТ), однако без одновременной оценки клинической картины заболевания использовать его надо осторожно. Он не различает мертвые МБТ, штамм БЦЖ и может выявить случайно попавшие микробы.