

ІНФОРМАЦІЯ

про медико-біологічне нововведення,
яке рекомендоване для впровадження

КПКВ, ШИФР, № ДЕРЖАВНОЇ РЕЄСТРАЦІЇ, НАЗВА НДР ТА ТЕРМІН ВИКОНАННЯ: 6561040 (прикладні наукові та науково-технічні розробки), А.10.11, 0110U001216. “Розробити організаційні заходи щодо раннього виявлення та профілактики туберкульозу серед ВІЛ-інфікованих дітей та дітей, народжених від ВІЛ-інфікованих матерів”. 2010.01 – 2012.12.

НАЗВА НОВОВВЕДЕННЯ: Спосіб діагностики туберкульозу у дітей.

АНОТАЦІЯ.

Туберкульоз є одним із найпоширеніших інфекційних захворювань у світі. Епідеміологічна ситуація щодо туберкульозу стає дедалі загрозливішою: у світі понад 1,7 млрд. людей хворі на туберкульоз. В Україні продовжує зберігатись стан епідемії туберкульозу з неухильним погіршенням клінічної структури серед дітей. За останні роки збільшилась кількість захворювань, викликаних атипovими штамми мікобактерій, появою поєднаних перебігів туберкульозу зі СНІДом, неспецифічними захворюваннями органів дихання (НЗОД) та ін., що утруднює верифікацію діагнозу.

Для детекції та диференціації мікобактерій туберкульозу (МБТ) використовують бактеріоскопічні, морфологічні, біохімічні (відновлення нітрату, накопичення ніацину), мікробіологічні та сучасні молекулярно-генетичні методи. Утім остаточно проблема ефективної і своєчасної діагностики цього захворювання залишається невирішеною, що значно погіршує результати лікування туберкульозу у дітей, збільшує його тривалість, має негативні соціально-економічні наслідки.

Сучасна діагностика туберкульозу ґрунтується на комплексі клініко-рентгенологічних, інструментальних та бактеріологічних обстежень пацієнтів. Для виявлення мікобактерій туберкульозу за допомогою мікроскопії, в 1 мл мокротиння повинно міститися від 5 до 10 тисяч мікроорганізмів. Така значна кількість мікобактерій, міститься в мокротинні лише тієї частини хворих на туберкульоз, які є масивними бактеріовиділювачами. У дітей такі випадки вкрай рідкісні.

Традиційні прийоми бактеріологічного дослідження (посів біологічного матеріалу на селективні й диференціальні живильні середовища, а також пересівання для виділення чистих культур збудника) не забезпечують 100 % діагностики туберкульозу. У дітей відсоток виявлення туберкульозу за допомогою цього методу досить низький – близько 3 %.

Великим проривом в діагностиці туберкульозу можна вважати розробку рідких

середовищ для культивування МБТ, які дають змогу задовольнити всі культуральні потреби збудника, та появу автоматичних аналізаторів (автоматизованих систем обліку росту типу VACTEC). Цей метод має вищі показники виявлення туберкульозу у дітей, але і їх не можна вважати високими.

Відомо, що *M. tuberculosis* може тривалий час персистувати в організмі людини. За певних умов відбувається активація збудника і перехід захворювання з латентної або хронічної форми в активну. Дуже часто туберкульоз у дітей перебігає безсимптомно або в латентній формі. Крім того, діагностика туберкульозу за пробою Манту, яка до останнього часу залишається найпоширенішим та найдоступнішим методом, дає великий відсоток хибних результатів.

Експрес-діагностику збудника дозволяють проводити молекулярні методи, зокрема застосування техніки полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР), але самі по собі результати такого дослідження ще не дають підстав для остаточного діагнозу, а техніка виконання цього методу досить складна і несе в собі небезпеку контамінації досліджуваних зразків.

Усі перелічені вище чинники утруднюють ранню діагностику туберкульозу у дітей, що призводить до появи занедбаних форм недуги, а іноді до торпідного перебігу захворювання, часто з великими залишковими змінами та подовження термінів лікування.

Вищевказане спонукало наукові дослідження щодо пошуку нових підходів до діагностики туберкульозу у дітей, а саме до спроби поєднати два діагностичні методи.

Суть нововведення, яке рекомендується до впровадження, полягає у культивуванні мікобактерій туберкульозу на рідкому поживному середовищі в автоматичному аналізаторі VacT/ALERT® 3D, та додатково поетапно, а саме кожні 2-3 дні з 20-го по 30-й день інкубації, проводять забір проб досліджуваних зразків із подальшою ідентифікацією мікобактерій туберкульозу методом полімеразної ланцюгової реакції, завдяки чому досягається скорочення терміну ідентифікації мікобактерій туберкульозу в мокротинні дітей хворих на туберкульоз.

Для виконання способу зразки мокротиння, які підлягають дослідженню, збирають у стерильні контейнери (флакони), що герметично закриваються корками, і зберігають при температурі 2 – 6 °С у побутовому холодильнику до доставки в лабораторію. Час зберігання зразків не повинен перевищувати 3-х діб. Кожен зразок реєструють у лабораторному журналі, записують дату прийому зразка, його номер і, якщо необхідно, інші коментарі. Якщо матеріал не використовується негайно, його заморожують при (- 20) °С.

Після доставки в лабораторію отриманий патологічний матеріал (мокротиння) за допомогою стандартних маніпуляцій завантажують у флакони автоматичного аналізатора системи BacT/ALERT® 3D, де відбувається інкубація й моніторинг зразків.

Починаючи з 20-го дня інкубації роблять забір проб із флаконів, де відбувається інкубація зразків патологічного матеріалу, для проведення полімеразної ланцюгової реакції, причому спосіб забору проб для аналізу унеможлиблює контамінацію зразків, що досліджуються, завдяки наявності в конструкції флаконів спеціальної мембрани. Далі проводять ідентифікацію мікобактерій туберкульозу за методом полімеразної ланцюгової реакції.

Полімеразна реакція відбувається автоматично в програмованому термостаті термоциклері (ампліфікаторі), який може нагрівати і охолоджувати пробірки з реакційною сумішшю за дуже короткий час. Ланцюговий характер реакція полімеризації має внаслідок наростаючої участі в циклах синтезованої de novo ДНК. На кінцевій стадії ПЛР амплікони ідентифікують методом електрофорезу в гелі.

При отриманні ПЛР-позитивного результату зразок вважають МБТ-позитивним, що дає підстави для підтвердження діагнозу туберкульоз. У таких випадках пацієнту негайно призначається курс терапії протитуберкульозними препаратами, а зразок продовжує інкубуватися у флаконі автоматичного аналізатора системи BacT/ALERT® 3D до 42-го дня, як це передбачено програмою приладу, для підтвердження діагнозу. Якщо ж результат ПЛР виявився негативним, то спробу повторюють через 2-3 дні.

ПОКАЗАННЯ ДЛЯ ЗАСТОСУВАННЯ: діти, хворі на туберкульоз.

НАУКОВА ЗНАЧИМІСТЬ: запропонований новий підхід до діагностики туберкульозу, що полягає в поєднанні двох прогресивних методів ідентифікації МБТ: культурального (культивування досліджуваних зразків біологічного матеріалу з імовірним вмістом МБТ на рідких живильних середовищах) та молекулярно-генетичного (техніка ПЛР) на проміжних етапах культивування.

ПРАКТИЧНА ЗНАЧИМІСТЬ: застосування культурального методу перед проведенням ПЛР дає можливість збільшити кількість матеріалу для ПЛР за рахунок росту й розмноження МБТ. Крім того, культивування біологічних зразків на рідких живильних середовищах у спеціалізованих системах для прискорення росту МБТ передбачає усунення небажаних чинників і контамінації зразків додатковим джерелом фрагментів ДНК. Застосування способу дозволяє прискорити термін діагностики туберкульозу у дітей на 13 – 19 днів, що дає підстави для раннього призначення адекватної терапії, скорочення термінів госпіталізації.

Апробація запропонованого способу проведена у відділенні терапії туберкульозу

легень у дітей ДУ “Національний інститут фтизіатрії і пульмонології ім. Ф. Г. Яновського Національної академії медичних наук України”.

На “Спосіб діагностики туберкульозу у дітей” отриманий деклараційний патент України № 68342 від 26.03.2012 р. на корисну модель.

ПЕРЕЛІК НЕОБХІДНОГО ОБЛАДНАННЯ ДЛЯ ВПРОВАДЖЕННЯ НОВОВВЕДЕННЯ: прилад для культивування МБТ на рідкому живильному середовищі; набір реактивів для проведення ПЛР, ампліфікатор, холодильник для зберігання зразків біологічного матеріалу, або холодильна камера для їх заморожування; стерильні контейнери (флакони), що герметично закриваються корками, для зберігання зразків мокротиння; одноразові шприци ємністю 5 мл.

ПОСЛУГИ РОЗРОБНИКІВ ДЛЯ ОВОЛОДІННЯ НОВОВВЕДЕННЯМ.

Білогорцева, О. І. Спосіб діагностики туберкульозу у дітей [Текст] : інформаційний лист / О. І. Білогорцева [та ін.] ; Державна установа “Національний інститут фтизіатрії і пульмонології ім. Ф. Г. Яновського Національної академії медичних наук України”. – Київ, 2012. – 4 с. ; курси інформації та стажування; публікація у науковому виданні; доповідь на науково-практичній конференції; прочитана лекція.

УСТАНОВА-РОЗРОБНИК, АДРЕСА І РЕКВІЗИТИ. Державна установа «Національний інститут фтизіатрії і пульмонології ім. Ф. Г. Яновського Національної академії медичних наук України» (НІФП). 03680, м. Київ, вул. М. Амосова, 10, тел. 275-04-02, факс (044) 275-21-18.

ПРИЗВИЩЕ, ІМ'Я ТА ПО БАТЬКОВІ АВТОРІВ РОЗРОБНИКІВ:

Білогорцева О. І., Симоненкова Н. В., Сіваченко О. Є., Чередник Ю. О., Волик М. О., Доценко Я. І., Стополянський О. В.

КОНТАКТНИЙ ТЕЛЕФОН: (044) 275-36-02.

ВІДПОВІДАЛЬНИЙ ЗА ВПРОВАДЖЕННЯ: Доценко Ярослава Ігорівна.

ВИСНОВОК ВЧЕНОЇ РАДИ ІНСТИТУТУ.

Нововведення, що стосується способу діагностики туберкульозу у дітей є актуальним і має практичне значення.

Наукове значення полягає у новому підході до діагностики туберкульозу у дітей, коли для її прискорення використовують поєднання посіву мокротиння на рідке живильне середовище та ідентифікацію мікобактерій туберкульозу (МБТ) за допомогою полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР).

Практичне значення нововведення полягає у застосуванні культурального методу перед проведенням ПЛР, що дає можливість збільшити кількість матеріалу для ПЛР за рахунок росту й розмноження МБТ. Крім того, культивування біологічних зразків

на рідких живильних середовищах у спеціалізованих системах для прискорення росту МБТ передбачає усунення небажаних чинників і контамінації зразків додатковим джерелом фрагментів ДНК.

Застосування способу дозволяє прискорити термін діагностики туберкульозу у дітей на 13 – 19 днів, що дає підстави для раннього призначення адекватної терапії, скорочення термінів госпіталізації.

Нововведення може бути впроваджено шляхом проведення курсів інформації та стажування, публікацій у наукових виданнях, доповідей на науково-практичних конференціях, з'їздах.

Нововведення рекомендовано до впровадження в педіатричних відділеннях протитуберкульозних та загально соматичних лікувально-профілактичних закладів України.

ДАНА РОЗРОБКА ГРИФУ СЕКРЕТНОСТІ НЕМАЄ.

Директор

ДУ "Національний інститут фтизіатрії

і пульмонології ім. Ф. Г. Яновського

Національної академії медичних наук України",

академік НАМН України,

д-р мед. наук, професор

Керівник НДР,

завідувач відділенням дитячої фтизіатрії,

д-р мед. наук, професор

2012.12.24

Ю. І. Фещенко

О. І. Білогорцева