



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 62717

(13) A

(51) 7 G01N33/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ
НА ВИНАХІДВИДАЄТЬСЯ ПІД
ВІДПОВІДАЛЬНІСТЬ
ВЛАСНИКА
ПАТЕНТУ

(54) СПОСІБ ДІАГНОСТИКИ ТУБЕРКУЛЬОЗУ

1

2

(21) 2003054152

(22) 08 05 2003

(24) 15 12 2003

(46) 15 12 2003, Бюл. № 12, 2003 р.

(72) Зайцева Світлана Іванівна, Ющенко Леонід Павлович, Герасимова Тетяна Геннадівна, Матвеева Світлана Леонідівна, Сасова Олена Вячеславівна

(73) ХАРКІВСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ
УНІВЕРСИТЕТ

(57) Спосіб діагностики туберкульозу, що включає дослідження двох проб букального епітелію пацієнта, який відрізняється тим, що попередньо одну пробу букального епітелію обробляють розчином туберкуліну і, якщо кількість рухомих ядер збільшується не менше ніж на 10 % у порівнянні до іншої, діагностують туберкульоз

Винахід відноситься до медицини, а саме до фтизіатрії і може використовуватись для ранньої діагностики туберкульозу будь-якої локалізації, як в спеціалізованих протитуберкульозних закладах, так і в умовах загальної лікувальної мережі, включаючи поліклініки, амбулаторії сімейного лікаря, фельдшерсько-акушерські пункти, тощо

Загальновідомо, що флюорографія та інші рентгенологічні методи до цього часу залишаються єдиним методом своєчасного виявлення туберкульозу у дорослих, оскільки дозволяють виявити зміни в легенях ще задовго до розвитку деструктивних змін та появи бактеровиділення. Однак для постановки діагнозу туберкульозу одного рентгенологічного обстеження недостатньо, оскільки туберкульоз легень часто має клінічну симптоматику та рентгеноморфологічні зміни подібні до інших захворювань органів дихання. Тому при відсутності бактеровиділення діагностика легеневого туберкульозу становить певні труднощі. Негативні результати дослідження харкотиння методом бактеріоскопії часто обумовлюють необхідність проведення інструментальної діагностики - трансторакальної, трансбронхіальної або прямої біопсії легень (Черенько С. А. Діагностика туберкульозу органів дихання // Doctor "2002" № 3 - с. 21-24), що неможливо в умовах переважної більшості протитуберкульозних диспансерів України. Проведення імунологічних досліджень або методів ампліфікації нуклеїнових кислот МБТ (полімеразна ланцюгова реакція, лігазна ланцюгова реакція та транскрибуючі ампліфікаційні системи), polegшующих постановку діагнозу, також не під силу більшості лікувальних закладів практичної охорони здоров'я

Туберкулінодіагностика (проба Манту) та серологічні тести однаково свідчать про інфікованість МБТ, неактивний туберкульозний процес та активний туберкульоз і тому мають обмежене значення для верифікації діагнозу (Чернушенко Е. Ф., Когосова Л. С. Иммунологические исследования в пульмонологической клинике // К. Здоров'я, 1981, Спосіб прогнозування перебігу туберкульозу у хворих на вперше діагностований туберкульоз легень / Л. П. Кадан, К. Ф. Чернушенко, О. Р. Панасюкова та інші // Інформаційний лист інституту фтизіатрії та пульмонології ім. Ф. Г. Янозського АМН України, К., 2002, - 4с.)

У зв'язку з недостатньою інформативністю внутрішньошкірної туберкулінової проби Манту для діагностики туберкульозного процесу рекомендують застосовувати більш інформативну підшкірну туберкулінову пробу Коха (Растворцева Т. Н. Определение активности впервые диагностированных малых форм туберкулеза легких у взрослых // Проблемы туберкулеза - 1976 - № 2 - с. 87-91, Рабухин А. Е., Стефани Д. В., Лобанова С. М. Иммуноглобулино-туберкулиновая проба для дифференциальной диагностики и определения активности туберкулеза легких // Проблемы туберкулеза - 1980, - № 3 - с. 23-37). Підшкірна туберкулінова проба Коха є цінним способом діагностики туберкульозу. Проте застосування її не було необхідного розповсюдження у зв'язку з наявністю суттєвих недоліків, перш за все цілої низки протипоказань. Найбільш суттєвим з протипоказань для постановки проби Коха є тяжкий загальний стан хворого з наявністю вираженої інтоксикації і розповсюджених інфільтративно-

(13) A

(11) 62717

(19) UA

запальних змін в легенях, оскільки її постановка може спровокувати прогресування специфічного процесу при наявності туберкульозу з лімфогематогенним розсіюванням інфекції, виникненням деструктивних змін з можливим кровохарканням, кровотечею, або викликати рецидив захворювання у вилікуваних осіб, алергічних реакцій різного типу та тощо. Крім того проба Коха може проводитись тільки в умовах спеціалізованого стаціонару, застосування її заборонено в амбулаторно-поліклінічних установах у зв'язку з можливістю розвитку різноманітних ускладнень. Обмежує застосування проби Коха також і складність та трудоемкість рекомендованих досліджень. Наприклад, 12-годинне дослідження білкових фракцій, визначення імуноглобулінів А, М, G, реакція бластної трансформації та інші складні методики під силу тільки добре оснащеним біохімічним та імунологічним лабораторіям. Виходячи з актуальності даної проблеми як для теоретичної, так і для практичної фтизіатрії, нами були вивчені можливості застосування для діагностики туберкульозу легень сучасних досягнень світової науки. Зокрема було вивчене питання про значення для діагностики туберкульозу електрокінетичних властивостей клітинних ядер.

Відмінності в зміні електрокінетичних властивостей ядер буккального епітелію під впливом туберкуліну були використані для диференціальної діагностики в складних випадках, і на основі цього було розроблено новий спосіб діагностики туберкульозу (Деклараційний патент України 41827А МКВ А61В10/00, А61К39/04 - № 2001042491, заявл. 13.04.2001, опубл. 17.09.2001 р., Бюл. № 8).

Названий вище спосіб діагностики туберкульозу був прийнятий за прототип. Головним недоліком відомого способу є досить тривалий термін діагностики - 72 години. Вказаний недолік не має суттєвого значення для пацієнтів, що знаходяться на обстеженні в стаціонарі, але є істотною проблемою при обстеженні амбулаторних хворих, особливо інгородних, які приїхали на консультацію із віддалених регіонів та не мають часу чекати. Крім того, у частини хворих можуть бути протипоказання для постановки проби Манту.

У зв'язку з вищевикладеним, в основу винаходу покладено задачу скоротити термін діагностики туберкульозу та розширити її можливості.

Задача, яку покладено в основу винаходу, вирішується тим, що у відомому способі діагностики туберкульозу, який включає дослідження двох проб буккального епітелію пацієнта, згідно з винаходом, попередньо одну пробу буккального епітелію обробляють розчином туберкуліну і, якщо кількість рухомих ядер збільшується не менш чим на 10% у порівнянні до іншої, діагностують туберкульоз.

Скорочення терміну діагностики до 15 хвилин досягають за рахунок того, що внутрішньошкірне введення туберкуліну хворому - проба Манту, яка оцінюється через 72 години, оцінюється на екстракорпоральне додавання туберкуліну безпосередньо в мазок.

Розширення, можливостей діагностики полягає з тому, що екстракорпоральне застосування туберкуліну дозволяє обстежувати пацієнтів, які

мають протипоказання для постановки проби Манту (алергічні стани, враження шкіри та тощо) та уникнути також завдяки цьому різноманітних ускладнень. Спосіб діагностики виконують наступним чином.

Пацієнту за допомогою стерильного шпателя легенько зіскоблюють епітелій внутрішньої поверхні щок (буккальний епітелій). Отриманий матеріал переносять на 2 покривні скельця, на які заздалегідь нанесено по 1 краплі відповідних розчинів. На перше із скельць заздалегідь необхідно нанести 1 краплю розчину 3,03Моль фосфатного буферу (pH-7,0) з додатком 2,89Моль хлориду кальцію (Замість розчину 3,03Моль фосфатного буферу з додатком 2,89Моль хлориду кальцію можна використовувати звичайну відстояну водопровідну воду). На друге скельце заздалегідь наносять 1 краплю стандартного розчину туберкуліну ППД-Л, у розведенні № 10. Таке розведення стандартного розчину туберкуліну підібране нами експериментальним шляхом, і готують його наступним чином. 0,1мл розчину туберкуліну в стандартному розведенні, який містить 2 ТУ, розчиняють у 100мл дистильованої води. Отриманий розчин позначають як розведення № 1. Із отриманого розведення № 1 беруть 0,1мл розчину та розчиняють у 10,0 мл дистильованої води (розведення № 2). Далі знову беруть 0,1мл розчину розведення № 2 та знову розчиняють у 10,0мл дистильованої води. Отриманий розчин позначають як розведення № 3. Надалі 0,1мл розчину розведення №3 розчиняють в 10,0мл дистильованої води та отримують розведення №4. Подальші розведення готують за аналогічною методикою і доходять до розведення № 10.

Зіскоби буккального епітелію, перенесені на покривні скельця, рівномірно розподіляють у вигляді мазка та покривають другим покривним склом. Приготовлені таким чином препарати почергово умищують в камеру для внутрішньоклітинного електрофорезу, що встановлена на предметному столику світлового мікроскопу та проводять мікроелектрофорез під напругою 30 Вольт і протягом 5-10 хвилин, візуально підраховуючи число ядер буккального епітелію, які рухаються в електричному полі із загальної кількості 100 клітин.

Отримані результати дослідження електрокінетичних властивостей ядер буккального епітелію в обох препаратах порівнюють. Перевага кількості рухомих ядер буккального епітелію у препараті з додаванням стандартного розчину туберкуліну в розведенні № 10 на 10% та більше свідчить про наявність у хворого туберкульозу.

Ефективність діагностики за способом, що пропонується нами ілюструють наступні клінічні спостереження.

1. Хворий М., 63 років, хворіє майже місяць. Захворювання розпочалося з підвищення температури до 38 градусів та кашлю. За допомогою не звертався, лікувався дома самостійно без ефекту. Рентгенологічно обстежений 04.02.03. Виявлена інфільтрація у верхніх частинах обох легень. Враховуючи верхньочасткову локалізацію запідозрено туберкульоз. Госпіталізований до Харківського обласного протитуберкульозного диспансеру 10.02.03р з метою дообстеження, уточнення

діагнозу та лікування (історія хвороби №)

При фізикальному обстеженні виявлено скорочення перкуторного звуку над підключичними ділянками легень, аускультативно дихання над верхніми частками ослаблене, вислуховувались сухі та дрібнопухирчаті вологі хрипи. Тони серця приглушені Р-84 уд за хвилину, АТ=160/80 мм рт.ст. Печінка не збільшена.

Багатократне дослідження харкотиння на мікобактерії туберкульозу (МБТ) методом скопі негативне.

Аналіз крові: еритроцити - $3,8 \times 10^{12}$ л, гемоглобін - 116 г/л, лейкоцити $8,7 \times 10^9$ л, ШОЕ 65 мм на годину. Аналіз сечі без змін. Функція печінки не порушена.

Таким чином, у хворого на момент госпіталізації бактеріовиділення відсутнє, що потребувало проведення диференціальної діагностики між двосторонньою пневмонією та інфільтративним туберкульозом верхніх часток.

Хворому проведено дослідження електрокінетичних властивостей ядер бук" кального епітелію. Показник кількості електронегативних ядер (ЕНЯ) у мазках з розчином фосфатного буферу 54%. Показник ЕНЯ в мазках з розчином туберкуліну (розведення №10) становить 90%. Різниця становить 36%.

Висновок: Збільшення кількості рухливих в електричному полі ядер буккального епітелію на 36% свідчить про туберкульозну етіологію захворювання.

Через 3 тижні після госпіталізації (5.03) у хворого в посівах від 12.02, а 20.03 в посівах від 13.02 та 13.02 отримано ріст МБТ, що підтверджує туберкульоз.

Отже, застосування пропонуємого способу діагностики дозволило правильно діагностувати туберкульоз на 3 тижні раніше, ніж застосування традиційних методів діагностики (бактеріоскопія та бактеріологічне дослідження харкотиння).

2. Хворий М., 43 років, захворів гостро - підвищилась температура до 37,8 з'явився кашель

з незначною кількістю харкотиння слизового характеру. Дихання з легень ослаблене, хрипи не вислуховуються, Тони серця приглушені, ритмічні Р-82 уд за хвилину, АТ=120/80 мм рт.ст. Рентгенологічно (рентгенограма № 233 від 27.02.03 р.) у верхніх частках вогнище тіні різної величини та інфільтрація в 2 та 3 сегментах, у язичковому сегменті ліворуч кругла тінь. З підозрою на інфільтративний туберкульоз госпіталізований до Харківського протитуберкульозного диспансеру.

Хворому проведено дослідження ЕНЯ буккального епітелію методом мікроелектрофорезу. Показник кількості електронегативних ядер (ЕНЯ) у мазках з розчином фосфатного буферу 78%. Показник ЕНЯ з мазках з розчином туберкуліну (розведення № 10) становить 100%. Різниця становить 22%.

Висновок: Збільшення кількості рухливих в електричному полі ядер буккального епітелію на 22% свідчить про туберкульозну етіологію захворювання.

Крім цього 27.02 хворому досліджувалось харкотиння на МБТ методом скопі, результат позитивний, що підтверджує туберкульозну етіологію захворювання та результат отриманий за допомогою способу діагностики, який пропонується.

Таким чином, переваги способу діагностики, що заявляється, в порівнянні з відомими полягають

В скороченні терміну проведення диференціальної діагностики між туберкульозом та нетуберкульозною патологією до 10-20 хвилин замість 72 годин, порівнюючи з прототипом,

Розширення можливостей діагностики полягає в можливості обстежувати пацієнтів, які мають протипоказання для постановки проба Манту (алергічні стани, враження шкіри та тощо).

Спосіб діагностики простий в технічному відношенні, дозволяє уникнути ускладнень і тому може використовуватись в амбулаторно-поклінічних умовах.