

СЪВРЕМЕНИ ЛАБОРАТОРНИ МЕТОДИ В МИКРОБИОЛОГИЧНАТА ДИАГНОСТИКА НА ПСЕВДОМЕМБРАНОЗЕН КОЛИТ

Автори: Емануела Атанасова, Елена Лапарева, Мария Прошенска, Пенка Аргилашка

Медицински Университет - Пловдив, Медицински колеж
специалност "Медицински лаборант"

Адрес за кореспонденция:
Пловдив 4004, бул. "Бр. Бъкстон" 120, Медицински колеж,
специалност "Медицински лаборант",
e-mail: emanuela_atanasova@abv.bg

РЕЗЮМЕ: Clostridium difficile е анаеробен грам-положителен, спорообразуващ бактерия, който причинява около 20% от антибиотик-асоцираните диарии и е най-честата причина за развитието на псевдомембранозният колит. Той е нормален сапрофитен организъм в чревния тракт на човек. Открива се при 2-3% здрави възрастни. Патогенното действие на микроорганизма се дължи на образуваните от него токсини А и В, причиняващи съответната симптоматика на заболяването. Използваният в диагностиката на псевдомембранозен колит ензимен имуноанализ ProELISA C.difficile.tox A/B служи за тяхното доказване. Поставянето на ранна диагноза прави възможно навременната промяна в лечебната схема и очаквано успешно терапевтично повлияване.

КЛЮЧОВИ ДУМИ: ELISA метод, псевдомембранозен колит, диагностика.

ЦЕЛ: Акцентиране върху приложението на ELISA метод в диагностиката на псевдомембранозен колит.

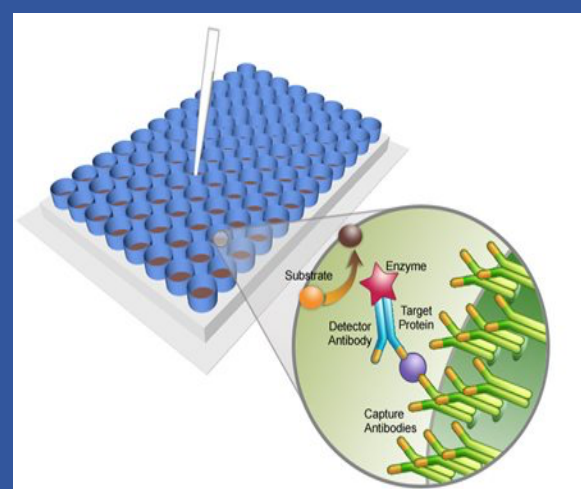
МЕТОДИ: Анализ на лабораторна и болнична документация, анализ на работната процедура.

ЛАБОРАТОРНИ ПОКАЗАТЕЛИ И МЕТОДИ ЗА ДИАГНОСТИКА НА ПСЕВДОМЕМБРАНОЗЕН КОЛИТ

1. Доказване наличието на ензима глутаматдехидрогеназа (GDH), продуциран от бактерия и токсини А и В (достъпен, бърз, високоспецифичен и евтин тест, време за даване на резултат: 2-6 часа).
2. Доказване на специфичен антитоксин В-антитяло от фекална проба (златен стандарт, даване на резултат до 24 часа).
3. Микробиологично изолиране на Clostridium difficile от фецес (конвенционален метод, не доказва продукцията на токсини. Изисква 2-5 дни).
4. Полимеразно-верижна реакция (PCR) за изолиране гените на А и В токсин (високоспецифичен тест, със 100% точност).

СЪВРЕМЕНИ МЕТОДИ ЗА БЪРЗА ДИАГНОСТИКА

ELISA е основен имуоензимен метод в микробиологичната диагностика на бактерии, вируси и гъби чрез доказване техните антигени или антитела. Тестът CoproELISA C.difficile.tox A/B се използва за бърза диагностика на псевдомембранозен колит чрез потвърждаване наличието на А/В копротоксини.



ЕДИН КЛИНИЧЕН СЛУЧАЙ НА ПСЕВДОМЕМБРАНОЗЕН КОЛИТ, ПОТВЪРДЕН С CoproELISA C.difficile.tox A/B.

Пациент: Дете на възраст 11г. и 8м. (Клиника по педиатрия и генетични болести към УМБАЛ „Свети Георги“ – Пловдив)

Диагноза: K52,1 Токсичен гастроентерит и колит

Анамнеза: Касае се за момче, постъпващо за 1-ви път в клиниката. Заболяло за около 1м. с фебрилитет, главоболие, кашлица и хрема. Лекувано амбулаторно с Амоксиклав, оплакванията персистират. Хоспитализирано в МБАЛ Велинград, лекувано 7 дни с Медаксон, с подобрение, изписано в дома. На следващия ден отново с фебрилитет, майката дала Клеримед, последвали долнодиспетични оплаквания. Хоспитализиран отново и лекуван с Тобрамицин - без ефект. Фебрилитетите персистирали, придружени с коликообразна болка и диарични изхождания.

Изследвания:

- кръвна картина без отклонения (Hb 133g/l, RBC 5,13T/l, HCT 0,40l/l, MCV 79,1 fl, WBC 8,33 G/l, PLT 439 G/l)
- СУЕ - ускорено (32 mm/h)
- диференциална кръвна картина - без отклонения (Sg - 56,0%, Eo - 0,4%, Ba - 0,5%, Mo - 9,4%, Ly - 30,3%)
- клинично-химични показатели - без отклонения (глюкоза 4,4 mmol/l, Креатинин 49 μmol/L, Урея 2,3 mmol/l, Общ белтък 55 g/l, ASAT- 20 U/l, ALAT 17 U/l, LDH 401 U/l)
- микробиологично изследване: копротоксина - C.difficile тип А/В ELISA положителна.

Обсъждания: Касае за дете с токсичен псевдомембранозен колит на базата на дисбактериоза след продължителен антибиотичен прием. В полза на диагнозата е положителен тест за токсини за C.difficile.

АКЦЕНТИ ПРИ ИЗВЪРШВАНЕ НА ИЗСЛЕДВАНЕТО С CoproELISA C.difficile.tox A/B, ЧИЕТО СЪБЛЮДАВАНЕ Е ЗАДЪЛЖИТЕЛНО ЗА КАЧЕСТВЕНТО ИЗСЛЕДВАНЕ.

При подготовка на реагентите:

1. Задължително темперирание на реагентите и клиничните проби на стайна температура преди самият анализ (съхраняват се на 2° - 4° C).

При преданалитичната обработка на пробите:

1. Преди добавяне на разредител към фекалната проба е необходимо добре да се размеси с цел хомогенизиране. Течните проби също следва да бъдат хомогенни.

При изпълнението на аналитичната процедура

1. При ползване на гнездата трябва да се внимава да не се надраскат дъната им, тъй като това може да доведе до разчитане на по-висока абсорбция (недействителен резултат).
2. Накрайниците на микропипетите, колекторите на фекални проби и използваните работни епруветки Eppendorf са за еднократна употреба.
3. Спазване стриктно стъпките от алгоритъма – точни количества, време за инкубация и т.н.

При отчитане на резултатите

1. Дъното на работната плака трябва да бъде добре подсушено.
2. Преди разчитане на резултатите трябва да бъдат отстранени всички въздушни мехурчета.
3. Измерването не трябва да надвишава 10 мин след стопирането на хромогенната реакция.
4. HRP конюгатът може да акумулира протеинови преципитати (протеинов блокер), но това не се отразява на резултатите от теста.

ИЗВОДИ И ЗАКЛЮЧЕНИЕ

CoproELISA C.difficile.tox A/B позволява надеждно поставяне на диагнозата "псевдомембранозен колит". В сравнение с конвенционалните микробиологични методи методът осигурява по-бърз резултат, важен за навременната диагностика.

Високото качество на изследването се гарантират от правилно взетия материал, стриктното провеждане и компетентността на изпълняващия анализа микробиологичен лаборант.

Навременната диагноза и подходящите промени в терапевтичната антибиотична схема са жизнено важни за правилното лечение и благоприятният изход от инфекцията.

ИЗТОЧНИЦИ:

1. Лаборатория Здраве- Clostridium Difficile: http://ruse.cibalab.com/?page_id=1865
2. Гастроентерология – Clostridium difficile диария: Рискови фактори за Clostridium difficile диария. [електронен ресурс] <http://medicine-bg.net/the-ancient-art-of-the-treatment/dr-kehayov/2984-clostridium-difficile-diarija>
3. Антибиотик-асоцирана диария и псевдомембранозен колит в клиничната практика. И. Николов, Б. Томов. MEDINFO, брой 9, 2018
4. CoproELISA™ C. difficile Toxin A/B: <http://www.savyondiagnosics.com/ArticleID=264>
5. Хайдушка, И. Атанасова, М. Кирина, В. (2011) Медицинска микробиология.
6. Ръководство за практически упражнения по микробиология под редакцията на проф Г. Митов
7. НАРЕДБА №4 от 25.01.2010 г. за утвърждаване на медицински стандарт "Микробиология"
8. Атанасов, Н., А. Атанасов, 2001. Към рационално лабораторно изследване.