

Иммунодиагностика туберкулеза

**Кафедра фтизиопульмонологии СГМУ
Составитель: зав. кафедрой,
д.м.н., доцент Т.В.Мякишева**

**Иммунодиагностика
туберкулеза - это совокупность
диагностических тестов для
определения специфической
сенсibilизации организма к
микобактериям туберкулеза с
использованием туберкулина и
других препаратов**

Туберкулинодиагностика

Возможность применения туберкулина в диагностических целях обуславливается следующими факторами:

1. Иммунитет к туберкулезу «нестерилен», т.е. сохраняется лишь до тех пор, пока в организме человека или животного имеются живые микобактерии.
2. Туберкулин, хотя и включает белковые вещества, проявляет свойства неполного антигена. Это значит, что он не способен самостоятельно сенсibilизировать организм, но может инициировать иммунологические реакции в организме, ранее сенсibilизированном микобактериями.
3. В защите организма от туберкулеза доминирующую роль играет клеточный иммунитет. Гуморальный же иммунитет практически не влияет на ход инфекционного процесса и лишь «отслеживает» его.

Туберкулинодиагностика

Исходя из вышеприведенных положений, можно сделать следующие выводы:

1. Реакция на введение туберкулина будет положительной только в том случае, если в организме имеются живые микобактерии туберкулеза.
2. Размер лимфогистиоцитарного инфильтрата, развивающегося в месте введения туберкулина прямо пропорционален напряженности клеточного иммунитета к туберкулезу.
3. Многократное введение туберкулина в организм, не инфицированный туберкулезом, не приводит к его сенсibilизации.

Иммунодиагностика (массовая и индивидуальная)

Цель массовой иммунодиагностики:

- **Выявление лиц впервые инфицированных МБТ («вираж» туберкулиновых проб)**
- **Выявление лиц с гиперергическими и усиливающимися реакциями на туберкулин**
- **Отбор контингентов для проведения вакцинации БЦЖ детям, старше 2 мес., не получивших прививку в роддоме, и для ревакцинации вакциной БЦЖ**
- **Определение эпидемиологических показателей по туберкулезу (инфицированность населения МБТ, ежегодный риск инфицирования МБТ)**

При массовой иммунодиагностике применяют:

- 1) Пробу Манту с 2 ТЕ ППД-Л один раз в год всем детям с 12 месячного возраста до 7 лет включительно**
 - (при отсутствии вакцинации БЦЖ (БЦЖ-М) – с 6-месячного возраста 2 раза в год до проведения вакцинации против туберкулеза)**

2) Диаскинтест

(Проба с аллергеном туберкулезным рекомбинантным в стандартном разведении белок CFP10-ESAT6 0,2 мкг) проводят один раз в год всем детям с 8 до 17 лет включительно

Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации от 29.12.2014 г. № 951 «Об утверждении методических рекомендаций по совершенствованию диагностики и лечения туберкулеза органов дыхания».

Цели индивидуальной иммунодиагностики:

- **Дифференциальная диагностика поствакцинальной (ПВА) и инфекционной аллергии (ИА) к туберкулину**
- **Диагностика и дифференциальная диагностика туберкулеза и других заболеваний**
- **Определение «порога» индивидуальной чувствительности к туберкулину**
- **Определение активности туберкулезного процесса**
- **Оценка эффективности противотуберкулезного лечения**

Для индивидуальной иммунодиагностики:

- **Применяют пробу Манту с 2 ТЕ очищенного туберкулина в стандартном разведении и Диаскинтест**

Реже применяют:

- **пробу Манту с различными дозами туберкулина**
- **накожную градуированную пробу Гринчар-Карпиловского**
- **пробу Коха**
- **определение туберкулинового титра и др.**

Используют очищенный туберкулин в стандартном разведении и сухой очищенный туберкулин (СОТ)

Препараты туберкулина

- Туберкулиновые препараты – препараты из антигенов МБТ или их культуральных фильтратов, обработанных различными способами
- Туберкулин – неполный антиген – гаптен, не способен вызвать заболевание или развитие иммунитета, но вызывает специфическую ответную реакцию (РГЗТ)
- Возникновение специфической реакции на туберкулин возможно лишь при условии предварительной сенсibilизации организма МБТ в результате спонтанного инфицирования или вакцинации БЦЖ
- Используют препараты для туберкулинодиагностики (очищенные туберкулины) и для выявления антител к МБТ

Очищенный туберкулин (ППД) - purified protein derivative (PPD)

Изготавливают из смеси убитых нагреванием фильтратов культуры МБТ человеческого и бычьего типов, очищенных ультрафильтрацией, осажденных трихлоруксусной кислотой, обработанных этиловым спиртом и эфиром.

Первый вид очищенного туберкулина

Аллерген туберкулезный очищенный жидкий (очищенный туберкулин в стандартном разведении ППД-Л) – готовый к употреблению раствор туберкулина. Препарат выпускают в ампулах в виде раствора,

содержащего 2 ТЕ ППД-Л в 0,1 мл.

Срок годности – 1 год.

Второй вид очищенного туберкулина

Аллерген туберкулезный очищенный сухой (сухой очищенный туберкулин – СОТ) – это растворенный в фосфатном буфере с сахарозой лиофильно высушенный очищенный туберкулин.

Препарат имеет вид сухой компактной массы или порошка белого (слегка сероватого или кремового) цвета, легко растворяющегося в прилагаемом растворителе – карболизированном изотоническом растворе натрия хлорида. Выпускается в ампулах, содержащих 50 000 ТЕ. Срок годности – 5 лет.

Сухой очищенный туберкулин используют для диагностики туберкулеза и туберкулинотерапии только в противотуберкулезных диспансерах и стационарах.

Диаскинтест - аллерген туберкулёзный рекомбинантный в стандартном разведении

представляет собой:

- Рекомбинантный белок, продуцируемый генетически модифицированной культурой *Escherichia coli* BL21(DE3)/pCFP-ESAT**
- Препарат содержит два связанных между собой антигена – CFP10 и ESAT6, присутствующие в вирулентных штаммах микобактерий туберкулёза, в том числе *M.tuberculosis* и *M.bovis***
- Эти антигены отсутствуют в штаммах БЦЖ *M.bovis*, из которого готовятся вакцины БЦЖ и БЦЖ-М**

Диагностические тесты, основанные на высвобождении Т-лимфоцитами in vitro ИФН-γ

- Quanti FERON –TB Gold (проходит регистрацию в России) использует твердофазный иммуносорбентный анализ для измерения антиген-специфичной продукции ИФН циркулирующими Т-клетками в цельной крови (под влиянием ESAT6, CFP10 и TB 7.7)**
- T-SPOT.TB с помощью техники Elispot, определяет количество моноклеарных клеток периферической крови, продуцирующих ИФН-γ**

Иммунологические пробы

1. Внутрикожная проба Манту

Выполняется с туберкулином ППД-Л в стандартном разведении. Доза – 2 ТЕ в 0,1 мл раствора.

Противопоказания для проведения пробы Манту:

- кожные заболевания, острые и хронические инфекционные и соматические заболевания (в том числе эпилепсия) в период обострения;
- аллергические состояния, ревматизм, бронхиальная астма, идиосинкразия в период обострения;
- карантин по детским инфекциям в детских коллективах;
- интервал менее 1 месяца после проведения других профилактических прививок (АКДС, корь и др.)

Пробу Манту проводят через 1 месяц после излечения или сразу после снятия карантина

Противопоказания для постановки пробы с аллергеном туберкулезным рекомбинантным в стандартном разведении -Диаскинтест

В случаях дифференциальной диагностики локального туберкулеза и других заболеваний, кроме индивидуальной непереносимости туберкулина, противопоказаний для постановки пробы с препаратом-Диаскинтест не имеется.

Техника постановки пробы Манту с 2 ТЕ

- **Применяются туберкулиновые шприцы объемом 1 мл, внутрикожные иглы № 0415 с коротким срезом.**
- **Ампулу обтирают марлей с 70⁰ этиловым спиртом, шейку ампулы подпиливают и отламывают. В шприц набирают 0,2 мл (т.е. две дозы) туберкулина, затем выпускают 0,1мл для удаления воздуха. Вскрытую ампулу сохраняют в асептических условиях не более 2 часов.**
- **Участок кожи в средней трети предплечья обрабатывается 70⁰ этиловым спиртом и просушивается ватой. Игла срезом вверх вводится внутрикожно. Вводят строго 0,1 мл раствора туберкулина, т.е. одну дозу. При правильной технике в коже образуется бледная папула типа лимонной корочки диаметром 7-8 мм.**
- **В четные годы проба Манту ставится на правой руке, в нечетные - на левой. ДСТ- на противоположной руке.**

Реакция на пробу Манту с 2 ТЕ ППД-Л может оцениваться как:

I. Отрицательная (отсутствие папулы и гиперемии, только уколочная реакция)

II. Сомнительная (папула до 4 мм или гиперемия любого размера)

III. Положительная нормергическая

а) для детей папула от 5 до 16 мм (слабоположительная – 5-9 мм, средней интенсивности – 10-14 мм, выраженная – 15-16 мм)

б) для взрослых папула от 5 до 20 мм

IV. Положительная гиперергическая

а) для детей папула от 17 мм и более

б) для взрослых папула от 21 мм и более

в) наличие везикуло-некротических реакций, лимфаденита и лимфангоита независимо от размера папулы

Иммунологические пробы

2. Диаскинтест:

- проводят один раз в год всем детям с 8 до 17 лет включительно
- детям до 8-летнего возраста проводят пробу Манту с 2 ТЕ ППД-Л и по показаниям (положительные туберкулиновые пробы) пробу с Диаскинтестом, возможно одновременная постановка проб на разных руках.
- Диаскинтест используется для:
 - Диагностики туберкулёза и оценки активности туберкулёзного процесса
 - Дифференциальной диагностики туберкулёза
 - Дифференциальной диагностики поствакцинальной и инфекционной аллергии
 - Наблюдения за эффективностью лечения в комплексе с другими методами

Оценка Диаскинтеста

- 1. отрицательная** – при полном отсутствии инфильтрата (папулы) или гиперемии или при наличии уколочной реакции (возможно в виде «синячка» 2–3 мм);
- 2. сомнительная** – при наличии гиперемии любого размера без инфильтрата;
- 3. положительная** – при наличии инфильтрата (папулы) любого размера;
 - слабо выраженная** – инфильтрат размером до 5мм;
 - умеренно выраженная** – инфильтрата 5–9 мм;
 - выраженная** – инфильтрат 10 мм и более;
 - гиперергическая** – инфильтрат 15 мм и более, а также везикуло-некротические реакции, лимфангоит, независимо от размера инфильтрата.

Применение иммунодиагностики в группах риска заболевания туберкулезом

Дети, нуждающиеся в постановке иммунологических проб

2 раза в год в условиях общей лечебной сети:

- больные сахарным диабетом, язвенной болезнью, болезнями крови, системными заболеваниями, ВИЧ-инфицированные, получающие длительную гормональную терапию (более 1 месяца)**
- с хроническими неспецифическими заболеваниями (пневмонией, бронхитом, тонзиллитом), субфебрилитетом неясной этиологии**
- не вакцинированные против туберкулеза, начиная с 6-месячного возраста**

Для детей и подростков из социальных групп риска, не имеющих медицинской документации, пробу Манту/ ДСТ проводят сразу при поступлении и затем 2 раза в год в течение 2-х лет при непрерывном медицинском наблюдении с последующим переходом на ежегодную туберкулинодиагностику

Детям и подросткам из социальных групп риска, имеющим медицинскую документацию при оформлении в детские и подростковые коллективы, пробу Манту/ДСТ проводят, если после предыдущей пробы прошло более 6 месяцев, с последующей постановкой 1 раз в год при регулярном медицинском наблюдении

Все дети и подростки из социальных групп риска, имеющие выраженную реакцию на туберкулин (папула 15-16 мм), должны быть обследованы и наблюдаться в противотуберкулезном диспансере в VIБ группе

3. Подкожная проба Коха. Выполняется с сухим очищенным туберкулином (СОТ), разведенным до нужной концентрации или с очищенным туберкулином в стандартном разведении (ППД-Л), взятом в необходимом количестве.

Доза для детей – 20 ТЕ, для взрослых – от 50 до 100 ТЕ в зависимости от массы тела.

Проба Коха может использоваться:

- для определения активности туберкулезного процесса
- для дифференциальной диагностики между туберкулезом и нетуберкулезными заболеваниями
- для уточнения локализации туберкулезного процесса

Перед постановкой пробы Коха пациенту обязательно ставится проба Манту. При гиперергической реакции на последнюю проба Коха противопоказана.

Техника постановки пробы Коха при туберкулезе органов дыхания

До введения туберкулина: общий анализ крови, определение белковых фракций сыворотки крови, общий и бактериологический анализ мокроты, профиль температуры тела через каждые 3 часа в течение 2-х суток, убеждаются в наличии свежей рентгенограммы ОГК

После этого пациенту подкожно вводят туберкулин в верхнюю треть плеча или подлопаточную область

Далее в течение 3-х суток (72 часа) записывают профиль температуры тела. На третьи сутки повторяются все вышеперечисленные анализы крови и мокроты. Повторная рентгенография выполняется обычно через 5-7 дней после введения туберкулина.

Оценка результатов: производится сравнение данных, полученных до и после введения туберкулина.

Выделяют 3 вида реакции в ответ на подкожное введение туберкулина:

- 1. местная – образование подкожного инфильтрата в месте инъекции**
- 2. общая – проявляется появлением (или усилением) слабости, недомогания, повышением температуры тела, изменениями в гемограмме и протеинограмме**
- 3. очаговая – развивается в том органе, который поражен туберкулезным процессом. Она проявляется в зависимости от локализации**

Объективные критерии положительной общей реакции на пробу Коха:

1. Повышение температуры тела не менее, чем на $0,5^{\circ}\text{C}$ по сравнению с максимальной до введения туберкулина.
2. Увеличение СОЭ не менее, чем на 5 мм/час, увеличение количества лейкоцитов не менее, чем на $0,5 \times 10^9/\text{л}$, уменьшение количества лимфоцитов и моноцитов не менее, чем на 10% в общем анализе крови по сравнению с исходным.
3. Снижение альбуминов и нарастанием фракций α_2 - и γ -глобулинов совокупно на 10% и более по сравнению с исходными данными.

Объективные критерии очаговой реакции на пробу

Коха:

1. Рентгенологические:

- увеличение размеров тени
- увеличение количества теней
- появление размытости контуров тени
- появление просветлений в структуре тени

2. Лабораторные:

- появление МБТ в мокроте (абсолютный критерий)
- появление или увеличение эритроцитов в мокроте не менее, чем на 10%
- увеличение лейкоцитов в мокроте не менее, чем на 10%
- увеличение альвеолярных макрофагов в мокроте не менее, чем на 10%,
- появление в мокроте эластичных волокон и других элементов тетрады Эрлиха

Интерпретация результатов массового обследования детей и подростков посредством пробы Манту

С целью установления первичного инфицирования при массовой туберкулинодиагностике необходимо направлять к фтизиатру следующих детей:

- с подозрением на «вираж» туберкулиновых проб
- с усиливающейся чувствительностью к туберкулину
- с гиперергической чувствительностью к туберкулину

Характерные особенности поствакцинальной аллергии:

- **Размер папул при пробе Манту у здоровых вакцинированных детей не превышает 11 мм**
- **Гиперергических реакций не отмечается**
- **Наибольший размер папулы регистрируется в первый год после вакцинации (ревакцинации). В последующие годы размеры папул постепенно уменьшаются вследствие постепенной элиминации вакцинного штамма и падения напряженности иммунитета**
- **К 4-7 году после вакцинации (ревакцинации) у большинства детей отмечается отрицательная реакция Манту**

Инфекционной аллергией считается:

- **Гиперергическая реакция**
- **Появление положительной реакции Манту после отрицательной, не связанное с иммунизацией вакциной БЦЖ («вираж»)**
- **Стойко (на протяжении нескольких лет) сохраняющаяся реакция с инфильтратом 12 мм и более**
- **Резкое усиление чувствительности к туберкулину (за 1 год возросла на 6 мм и более по сравнению с предыдущей) у туберкулиноположительных детей и подростков**
- **Постепенное, в течение нескольких лет, усиление чувствительности к туберкулину с образованием инфильтрата размерами 12 мм и более**

Интерпретация результатов массового обследования детей посредством пробы с аллергеном туберкулезным рекомбинантным в стандартном разведении (белок CFP10 – ESAT6 0.2мкг) – Диаскинтест.

Лица с сомнительной и положительной реакцией на препарат подлежат направлению к фтизиатру и обследованию на туберкулез

Дети, направляемые к фтизиатру, должны иметь при себе сведения:

- **о вакцинации (ревакцинации) БЦЖ**
- **о результатах туберкулиновых проб по годам**
- **о контакте с больным туберкулезом**
- **о флюорографическом обследовании окружения ребенка**
- **о перенесенных хронических и аллергических заболеваниях**
- **о предыдущих обследованиях у фтизиатра**
- **данные клинико-лабораторного обследования (общий анализ крови и мочи)**
- **заключение соответствующих специалистов при наличии сопутствующей патологии**

Дообследование ребенка фтизиатром включает:

1. Изучение медицинской документации:

- Контроль правильности интерпретации проб Манту в прививочной карте**
- Оценка сведений о вакцинации (ревакцинации). У ребенка, не привитого БЦЖ, любая положительная проба Манту свидетельствует об инфицировании. Первая положительная реакция на туберкулин у двух-трехлетнего ребенка может быть проявлением поствакцинальной аллергии**
- Анализ сведений о других прививках и заболеваниях, перенесенных данным ребенком незадолго перед пробой Манту**
- Изучение аллергоанамнеза ребенка. У высоко реактивных детей в первый год после вакцинации (ревакцинации) может появляться папула 12-16 мм, имеющая, однако, тенденцию к уменьшению в последующие годы**

Дообследование ребенка фтизиатром включает:

2. Опрос и при необходимости флюорографическое обследование взрослых из окружения ребенка (родителей, дедушек, бабушек и т.д.) для выявления возможного контакта с больным туберкулезом.

3. Телесный осмотр и физикальное обследование ребенка:

- **Поиск рубчика, оставшегося после прививки БЦЖ. Нередки случаи, когда вакцинация технически выполнялась, однако по той или иной причине вакцинный штамм «не привился», о чем свидетельствуют отсутствие или малые размеры рубчика (менее 5 мм)**
- **Поиск объективных признаков туберкулезной интоксикации**

Дообследование ребенка фтизиатром включает:

4. Углубленная туберкулинодиагностика:

- **Изучение остаточных реакций на месте пробы Манту. Длительно сохраняющаяся пигментация характерна для инфекционной аллергии.**
- **Постановка градуированной пробы. Гиперергическая, уравнительная и парадоксальная реакции утверждают инфекционный характер аллергии, адекватная – не исключает таковой, хотя более типична для поствакцинальной аллергии**

5. Лабораторное обследование ребенка с целью поиска изменений, подозрительных на туберкулезную интоксикацию.

6. Рентгенологическое обследование органов грудной клетки для поиска возможных локальных изменений в легких, лимфоузлах, плевральной полости.

На время дифференциальной диагностики инфекционной и поствакцинальной аллергии (до 3 месяцев), ребенка берут на диспансерный учет по «0» группе.

- **Нарастание чувствительности к туберкулину (в т.ч. и гиперергические реакции) может вызвать соматическая патология, бактериальная инфекция, аллергические, частые простудные заболевания**
- **Эти дети требуют обязательного проведения на педиатрическом участке профилактических мероприятий (гипосенсибилизация, санация очагов инфекции и т.д.) под контролем фтизиатра. Повторное обследование в диспансере проводят через 1-3 месяца**
- **Снижение после неспецифического лечения туберкулиновой чувствительности свидетельствует о неспецифическом характере аллергии**

Сохранение чувствительности к туберкулину на прежнем уровне, либо ее дальнейшее нарастание, подтверждает инфекционный характер аллергии и требует диспансерного наблюдения ребенка.

Детей, у которых установлено инфицирование, но нет туберкулезного заболевания берут в **VI группу риска:**

- **Ранний период первичной туберкулезной инфекции, «вираж» туберкулиновых проб**
- **Инфицированы МБТ, гиперергическая проба**
- **Инфицированы МБТ, усиливающаяся туберкулиновая чувствительность**
- **Детей, у которых выявлено туберкулезное заболевание переводят в **I группу** (активный туберкулез любой локализации)**

Если подозрение на заболевание и свежее инфицирование МБТ будет отвергнуто, ребенка снимают с учета.

ВЫВОДЫ

- 1. В общей лечебной сети проводится массовая иммунодиагностика с применением пробы Манту с 2 ТЕ и Диаскинтеста.**
- 2. Педиатр должен уметь интерпретировать результаты массового обследования детей и подростков посредством пробы Манту и Диаскинтеста.**
- 3. Педиатр должен знать показания для направления к фтизиатру, алгоритм дообследования и диспансерное наблюдение пациента.**