

ИММУНОДИАГНОСТИКА

ТУБЕРКУЛЕЗ: ВЧЕРА, СЕГОДНЯ...



Шилкин И.В.
РНМУ им. Н.И. Пирогова

МОСКВА 2018

В соответствии с пунктом 4 статьи 8 Федерального закона от 18 июня 2001 г. № 77-ФЗ «О предупреждении распространения туберкулеза в Российской Федерации» и подпунктом 5.2.102 Положения о Министерстве здравоохранения Российской Федерации, утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 19 июня 2012 г. № 608, приказываю:

- 1. Утвердить прилагаемые порядок и сроки проведения профилактических медицинских осмотров граждан в целях выявления туберкулеза.
- 2. Установить, что настоящий приказ вступает в силу с даты вступления в силу постановления Правительства Российской Федерации о признании утратившими силу Порядка и сроков проведения профилактических медицинских осмотров населения в целях выявления туберкулеза, утвержденных постановлением Правительства Российской Федерации от 25 декабря 2001 г. № 892 «О реализации Федерального закона «О предупреждении распространения туберкулеза в Российской Федерации» (Собрание законодательства Российской Федерации, 2001, № 53, ст. 5185; 2006, № 3, ст. 297).

Министр В.И. Скворцова

Зарегистрировано в Минюсте РФ 31 мая 2017 г.



МАССОВОЕ СКРИНИНГОВОЕ ОБСЛЕДОВАНИЕ НА ТУБЕРКУЛЕЗ

Приказ Минздрава России от 21.03.2017 №124н «Об утверждении Порядка и сроков проведения профилактических медицинских осмотров граждан в целях выявления туберкулеза»

- 8. Профилактические осмотры представляют собой комплекс медицинских вмешательств, направленных на выявление патологических состояний, свидетельствующих о наличии туберкулеза, с применением следующих методов обследования в зависимости от возраста



а) дети в возрасте от 1 до 7 лет (включительно) - иммунодиагностика с применением аллергена бактерий с 2 туберкулиновыми единицами очищенного туберкулина в стандартном разведении (пр.Манту с 2 ТЕ ППД-Л);

б) дети в возрасте от 8 до 14 лет (включительно) - иммунодиагностика с применением аллергена туберкулезного рекомбинантного в стандартном разведении (Диаскинтест);

в) дети в возрасте от 15 до 17 лет (включительно) - иммунодиагностика с применением аллергена туберкулезного рекомбинантного в стандартном разведении или рентгенологическое флюорографическое исследование органов грудной клетки (легких);

г) взрослые - флюорография легких или рентгенография органов грудной клетки (легких);

д) нетранспортабельные и маломобильные граждане - исследование мокроты на кислотоустойчивые микобактерии (КУМ) методом микроскопии

Кратность обследования зависит от принадлежности к группам риска или в индивидуальном порядке

СРОКИ ПРОВЕДЕНИЯ ПРОФИЛАКТИЧЕСКИХ ОСМОТРОВ

- 18. По завершении профилактического осмотра в Медицинскую карту пациента, получающего медицинскую помощь в амбулаторных условиях (историю развития ребенка), на отдельную страницу вносятся:
 - а) объективные данные по результатам проведенных исследований;
 - б) сведения о наличии контактов с больным туберкулезом, результаты осмотров врачами-специалистами (в случае выявления патологических состояний, свидетельствующих о наличии туберкулеза);
 - в) заключение об отсутствии (выявлении) патологических состояний, свидетельствующих о наличии туберкулеза.
- 19. При выявлении в результате профилактического осмотра патологических состояний, свидетельствующих о наличии туберкулеза, медицинский работник, проводящий профилактический осмотр, должен в течение 2 календарных дней со дня завершения профилактического осмотра организовать обследование гражданина в соответствии с Порядком оказания медицинской помощи больным туберкулезом
- 20. Информация о состоянии здоровья, полученная по результатам профилактического осмотра, предоставляется гражданину в доступной для него форме в соответствии с частью 1 статьи 22 Федерального закона от 21 ноября 2011 г. № 323-ФЗ «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации»
- В отношении несовершеннолетнего, не достигшего возраста, установленного частью 2 статьи 54 Федерального закона от 21 ноября 2011 г. № 323-ФЗ «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации», информация о состоянии здоровья предоставляется его законному представителю

ПРОБА С АТР VS МАНТУ

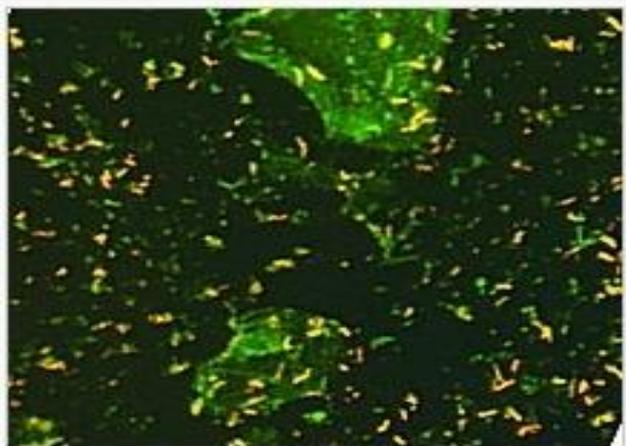
- ✓ Наука не стоит на месте. Предложен новый способ диагностики туберкулеза – проба с АТР («Диаскинтест»).
- ✓ Какие проблемы он решает и какие выводы на его основе можно сделать?
- ✓ Как соотносить его результаты с результатами туберкулиновой пробы Манту?
- ✓ Бывает ли ложно-положительная проба Манту?
- ✓ Ответы на эти вопросы узнаем дальше



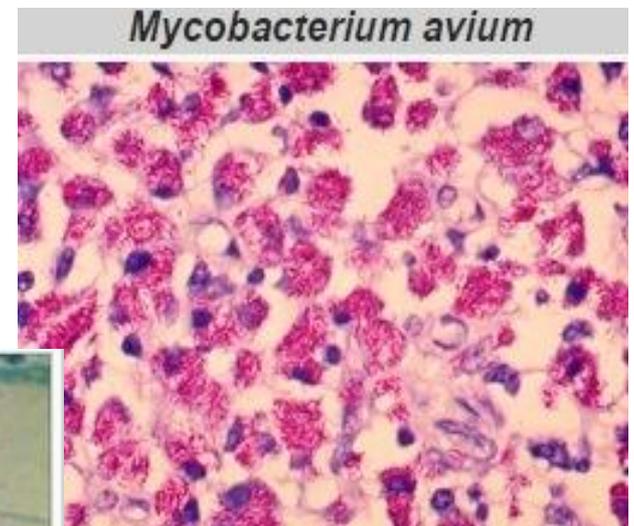
- ✓ Заболевание туберкулёзом у человека и животных может вызываться любой из группы патогенных туберкулёзных микобактерий, обозначаемой общим названием «туберкулёзная палочка» или *Mycobacterium tuberculosis*, бацилла Коха (БК).
- ✓ Всего имеется 24 патогенных и потенциально патогенных для человека и животных вида микобактерий. Возбудителями ТУБЕРКУЛЁЗА человека и животных в разных странах являются восемь видов микобактерии



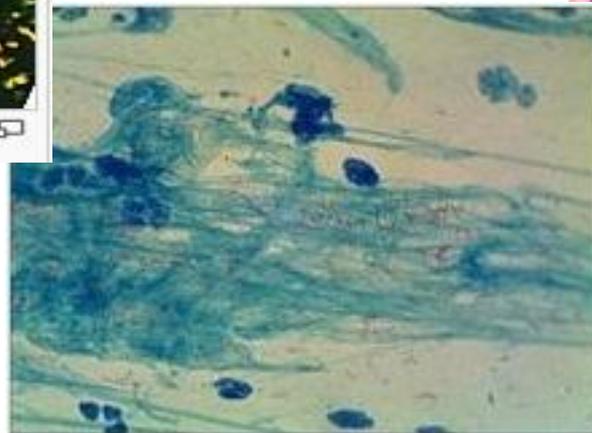
- В Европе и в России обнаружены четыре из них, а именно: *M. tuberculosis humanis*— «человечий»,
- *M. tuberculosis africanum* —«промежуточный»,
- *M. tuberculosis bovis* — «бычий»,
- *M. tuberculosis avium* — «птичий



Люминесцентная микроскопия.



Mycobacterium avium



Микроскопия по Цилю —
Нельсену.



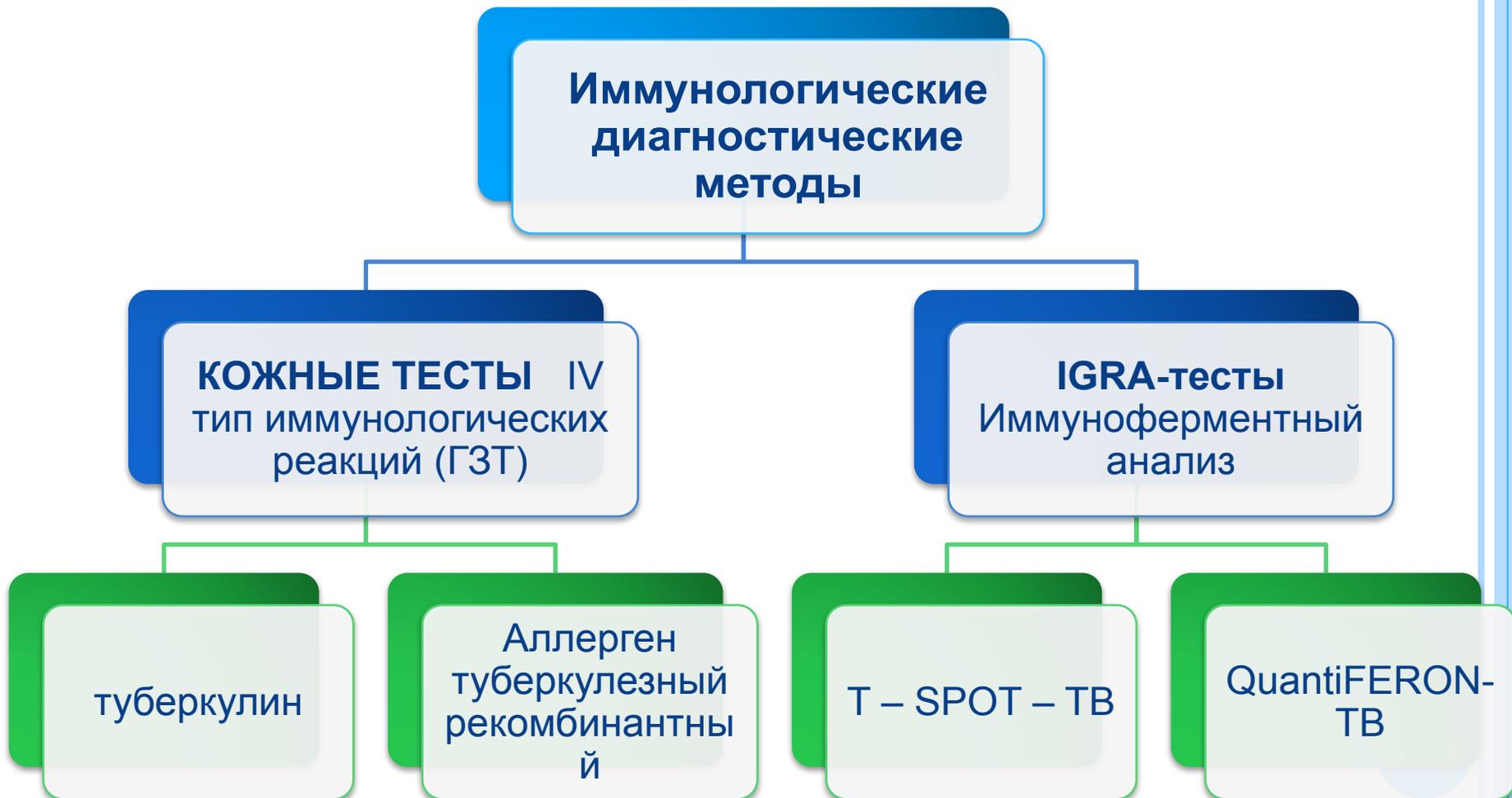
- Эпидемическое значение в России и Европе имеют два близкородственных вида туберкулёзной микобактерии, а именно *M. tuberculosis humanis* и *M. tuberculosis bovis*, то есть "человечий" и "бычий". Лаборатории строго не нацелены на определение (весьма не простое) каждого вида микобактерии отдельно, так как биологическое совпадение составляет 99,9%, а лечение одинаково.

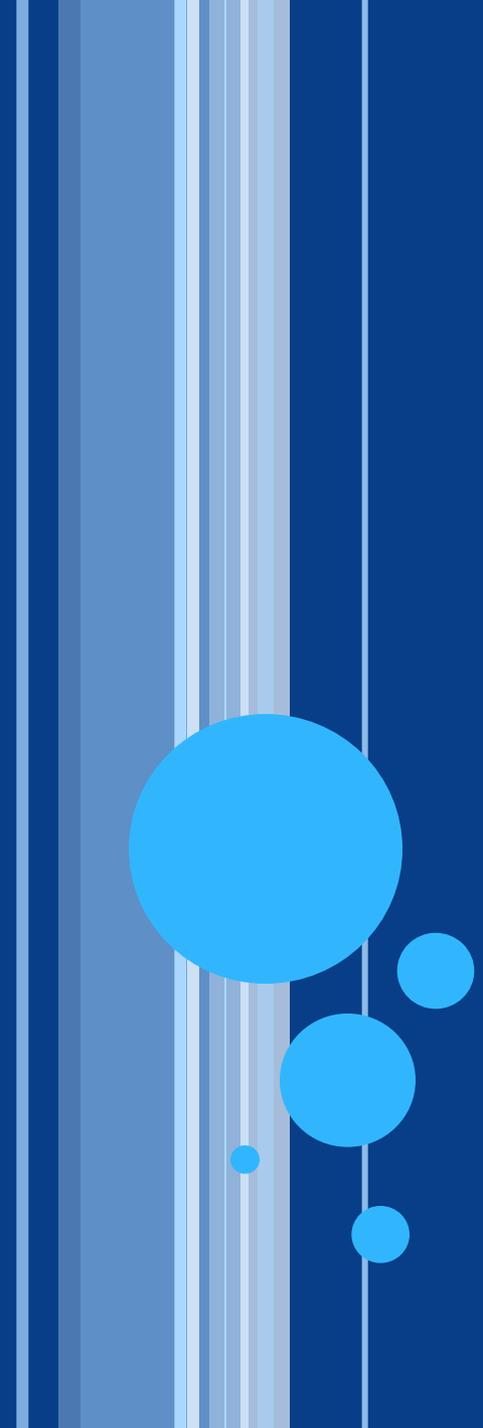


- Взрослые люди после 30-40 лет практически все инфицированы (**не больны!**) микобактерией туберкулёза и сенсибилизированы ею.
- Внутри-кожный тест с ТУБЕРКУЛИНОМ (проба Манту) положителен у людей, зараженных (**не только больных, но и практически здоровых!**) микобактерией туберкулёза **ЛЮБЫМ ИЗ ВОСЬМИ** патогенных её видов, то есть способных вызвать заболевание туберкулёзом.
- Считается, что встречу с туберкулёзной палочкой дети переносят хуже и заболевают чаще, чем взрослые, именно поэтому их вакцинируют.



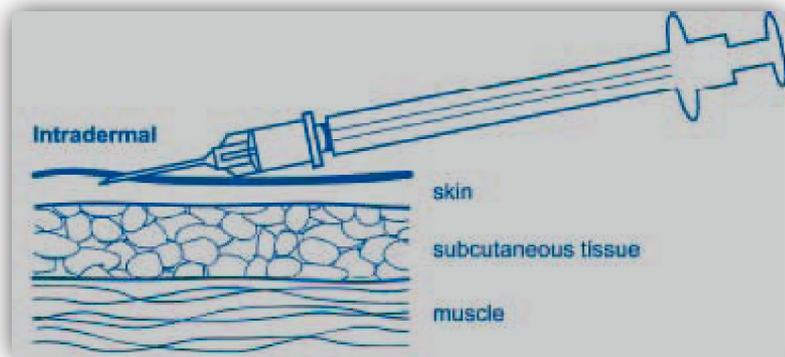
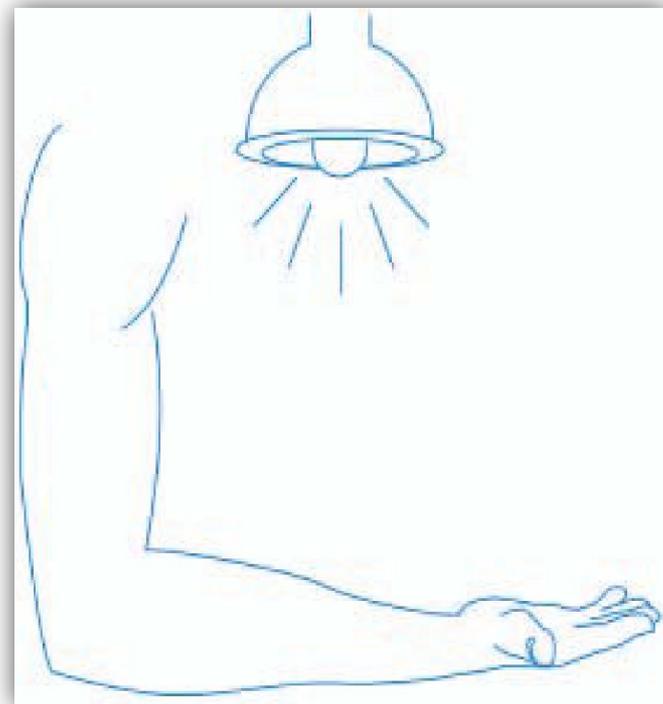
Иммунологические методы диагностики ТУБЕРКУЛЕЗНОЙ ИНФЕКЦИИ



The left side of the slide features a series of vertical stripes in various shades of blue and white. Overlaid on these stripes are several circles of different sizes, also in shades of blue, arranged in a descending pattern from top to bottom.

*ВНУТРИКОЖНАЯ ПРОБА МАНТУ С 2
ТЕ ППД-Л*

Внутрикожная проба Манту с 2 ТЕ ППД-Л.



Оценка результатов пробы Манту с 2 ТЕ

Результат пробы Манту оценивают через 72 часа путем измерения размера инфильтрата (папулы) в миллиметрах (мм). Линейкой с миллиметровыми делениями измеряют и регистрируют поперечный (по отношению к оси предплечья) размер инфильтрата. При отсутствии инфильтрата при учете реакции на пробу Манту измеряют и регистрируют гиперемию.



ОЦЕНКА РЕЗУЛЬТАТОВ ПРОБЫ МАНТУ С 2 ТЕ

ОТРИЦАТЕЛЬНАЯ	Полное отсутствие инфильтрата (папулы) или гиперемии при наличии уколочной реакции (0-1 мм)
СОМНИТЕЛЬНАЯ	Инфильтрат размером 2-4 мм или только гиперемия любого размера без инфильтрата
ПОЛОЖИТЕЛЬНАЯ	Инфильтрат диаметром 5 мм и более



ТРАКТОВКА ПОЛОЖИТЕЛЬНЫХ РЕАКЦИЙ ПРОБЫ МАНТУ С 2 ТЕ

Нормэргическая реакция	Дети – 5 -16 мм Взрослые – 5 – 20 мм
Гиперэргическая реакция	Дети - инфильтрат 17 мм и более (<u>взрослые – 21мм</u>), а также везикуло-некротические реакции независимо от размера инфильтрата с лимфангоитом





ВНУТРИКОЖНАЯ ПРОБА С АТР

АТР - АЛЛЕРГЕН ТУБЕРКУЛЕЗНЫЙ РЕКОМБИНАНТНЫЙ В СТАНДАРТНОМ РАЗВЕДЕНИИ 0,2 МКГ В 0,1 МЛ, РАСТВОР ДЛЯ ВНУТРИКОЖНОГО ВВЕДЕНИЯ; РЕКОМБИНАНТНЫЙ БЕЛОК, ПРОДУЦИРУЕМЫЙ E.COLI BL21(DE3)/pCFP-ESAT.

Показания:

ДИАГНОСТИКА ТУБЕРКУЛЕЗА

ОЦЕНКА АКТИВНОСТИ ТУБЕРКУЛЕЗНОЙ ИНФЕКЦИИ

ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНАЯ ДИАГНОСТИКА ТУБЕРКУЛЕЗА

ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНАЯ ДИАГНОСТИКА ПОСТВАКЦИНАЛЬНОЙ И
ИНФЕКЦИОННОЙ АЛЛЕРГИИ

КОНТРОЛЬ ЗА ЭФФЕКТИВНОСТЬЮ ЛЕЧЕНИЯ



Техника проведения идентична постановке пробы Манту с 2 ТЕ ППД-Л. Если на одно предплечье ставилась проба с туберкулином, препарат вводят в другое предплечье



ОЦЕНКА РЕЗУЛЬТАТОВ ПРОБЫ С АТР:

Ответ на введение пробы с АТР считается	Показатели
<u>отрицательной</u>	полное отсутствие инфильтрата и покраснения или при наличии «уколочной реакции»
<u>сомнительной</u>	наличие покраснения (любого размера без инфильтрата)
<u>положительной</u>	наличие инфильтрата любого размера 2 мм и более
<u>гиперергической</u> (резко положительной)	инфильтрат 15 мм и более или наличие везикуло-некротических (язвоподобных) изменениях и (или) лимфангоит, лимфаденит независимо от размера инфильтрата

Лица с сомнительной и положительной реакцией на пр. с АТР (ДИАСКИНТЕСТ®) обследуются на туберкулез

Пр.Манту 2 ТЕ
положительная

АТР
отрицательная

Не подлежит
наблюдению

Пр.Манту 2 ТЕ
положительная

АТР
сомнительная

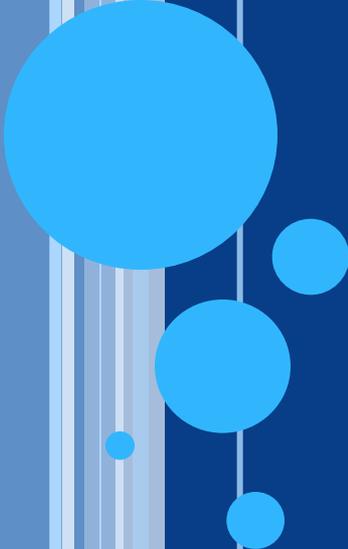
Наблюдение
фтизиатра,
повторить АТР
через 3 мес.

Пр.Манту 2 ТЕ
положительная

АТР
положительная

Комплексное
обследование
фтизиатра с
использованием
лучевых методов

IGRA-ТЕСТЫ (INTERFERON-GAMMA RELEASE ASSAYS)



Открытие антигенов, специфичных для *Mycobacterium tuberculosis* и отсутствующих в *Mycobacterium bovis* BCG и микобактерий окружающей среды, привело к разработке диагностических тестов *in vitro*

IGRA-ТЕСТЫ (INTERFERON–GAMMA RELEASE ASSAYS)

- В основе этих методов лежит выявление секреции интерферона-гамма мононуклеарными клетками периферической крови в результате их взаимодействия со специфическими белками микобактерий туберкулеза (ESAT-6 и CFP-10)
- Гены, кодирующие эти белки, находятся в регионе генома, отсутствующем в геноме *Mycobacterium bovis* BCG и большинства нетуберкулезных микобактерий
- В РФ в клинической практике используются тест-системы T-SPOT.TB и QuantiFERON-TB Gold





КВАНТИФЕРОНОВЫЙ ТЕСТ

- Метод исследования: твердофазный иммуноферментный анализ *in vitro*
- основан на определении INF- γ (гамма-интерферона), высвобождаемого сенсibilизированными Т-клетками, стимулированными *in vitro* специфическими протеинами (ESAT-6, CFP-10, TB7.7 (p4)) микобактерий туберкулеза, входящих в комплекс *Mycobacterium tuberculosis complex* (*M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. canettii*, *M. caprae*, *M. pinnipedii*, *M. mungi*, *M. microti*, *M. africanum* и др.). Эти протеины отсутствуют в вакцинных штаммах *M. bovis* BCG и в большинстве нетуберкулезных микобактерий, за исключением *M. kansasii*, *M. szulgai*, *M. marinum*.



Плюсы (преимущества) квантиферонового теста:

- высокая специфичность (99%) и высокая чувствительность (89%);
- отсутствие противопоказаний для исследования;
- безопасность и отсутствие побочных реакций;
- отсутствие ложноположительных результатов в случае вакцинации БЦЖ;
- интерпретация результатов теста менее субъективна, чем интерпретация результатов кожных туберкулиновых тестов

Минусы (недостатки) квантиферонового теста

- не является законодательно закреплённым методом выявления туберкулеза, поэтому делается не бесплатно, а за «свой счёт»
- высокая стоимость квантиферонового теста
- в 11% случаев тест дает ложноотрицательную реакцию (100% диагностики туберкулеза не существует)
- тест не позволяет различить латентную туберкулёзную инфекцию и активный туберкулёз.



КОМУ ПОКАЗАН КВАНТИФЕРОНОВЫЙ ТЕСТ?

- ✓ Квантифероновый тест может быть использован вместо пробы Манту или пробы с АТР во всех случаях, когда показано проведение кожных проб в качестве теста для диагностики туберкулеза.
- ✓ В качестве дополнительного метода исследования для подтверждения или опровержения сомнительных результатов кожных тестов.
- ✓ Особенно тест показан тем лицам, у которых имеются противопоказания к проведению пробы Манту и пробы с АТР
 - индивидуальная непереносимость туберкулина;
 - кожные заболевания и аллергические состояния в период обострения;
 - дети, подростки и взрослые с высоким риском развития аллергической реакции;
 - инфекционные заболевания в период обострения;
 - васкулиты;
 - эпилепсия.

Положительный результат квантиферонового теста свидетельствует в пользу диагноза туберкулеза; однако, инфекции другими микобактериями (например, *M. kansasii*) могут быть причиной положительных результатов



СРАВНЕНИЕ ТЕСТОВ

Параметр	Проба Манту	АТР (Диаскинтест®)	Квантифероновый тест
Метод исследования	Кожный тест	Кожный тест	Анализ крови
Побочные реакции	Возможны	Возможны	Нет
Противопоказания	Есть	Есть	Нет
Специфичность	Низкая	Высокая	Высокая
Положительные результаты после вакцинации БЦЖ	Да	Нет	Нет
Зависимость от сроков проведения профилактических прививок	Да (не ранее чем через месяц)	Да (не ранее чем через месяц)	Нет
Интерпретация результатов	Субъективна	Субъективна	Объективна

СТОИМОСТЬ КВАНТИФЕРОНОВОГО ТЕСТА (В

НАСТ. ВРЕМЯ В Г.МОСКВЕ НЕ ПРОВОДИТСЯ)

Показатель	Материал	Вид анализа	Цена, руб
Квантифероновый тест (анализ на туберкулез)	кровь QFT NIL кровь QFT TBAg кровь QFT MIT	качественный, ИФА метод	порядка 6 900

- **Срок готовности: 3-10 рабочих дней.**
- **Забор крови производят строго натощак** (или не ранее, чем через 8 часов после последнего приема пищи)
- Данный анализ не различает "скрытый" и активный туберкулез
- В случае положительного результата Квантиферонового теста необходима консультация врача-фтизиатра для выработки дальнейшей тактики
- Обращаем Ваше внимание на то, что интерпретация результатов исследований, установление диагноза, а также назначение лечения, в соответствии с Федеральным законом ФЗ № 323 «Об основах защиты здоровья граждан в Российской Федерации», должны производиться врачом соответствующей специализации



T-SPOT.TB

ИММУНОЛОГИЧЕСКИЙ МЕТОД, ОСНОВАН НА КОЛИЧЕСТВЕННОЙ ОЦЕНКЕ СЕНСИБИЛИЗИРОВАННЫХ Т-ЛИМФОЦИТОВ В ОТВЕТ НА СТИМУЛЯЦИЮ ПЕПТИДНЫМИ АНТИГЕНАМИ (ESAT-6 (EARLY-SECRETED ANTIGENIC TARGET), CFP-10 (CULTURE FILTRATE PROTEIN), КОТОРЫЕ ПРИСУТСТВУЮТ В НУКЛЕОТИДНОЙ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ M.TUBERCULOSIS, НО ПРИ ЭТОМ ОТСУТСТВУЮТ У ВСЕХ ШТАММОВ BCG И БОЛЬШИНСТВА НЕТУБЕРКУЛЕЗНЫХ МИКОБАКТЕРИЙ (КРОМЕ M.KANSASII, M.MARINUM, M.SZULGAI).



Название T-SPOT.TB расшифровывается так:

литера T обозначает T-лимфоциты, клетки крови, на основе ответа которых производится исследование

Слово SPOT это перевод с английского языка, означающий "пятно". В результате лабораторного опыта в лунке образуются пятна, каждое из которых маркирует T-лимфоцит.

.TB это сокращенное международное обозначение туберкулеза.

- T-SPOT разрабатывался в Оксфордском Университете и первой на вооружение его приняла Европа, он официально включен в стандарты диагностики туберкулеза в Евросоюзе в 2004 году.
- США и Канада включили T-СПОТ в официальную диагностику в 2005-м, Южная Корея в 2006, Тайвань в 2009, Китайская Народная Республика в 2010, Япония в 2012 году.
- В России использование методики T-СПОТ утверждено в 2012 году ФЗ - 2012/648.



Плюсы T-SPOT.TB

- очень низкий уровень ложно-негативных результатов (чувствительность ~95%);
- высокая надёжность обнаружения инфицированных пациентов;
- нет противопоказаний к применению.
- не чувствителен к БЖЦ-вакцине и нетуберкулёзным микобактериям,

Минусы T-SPOT.TB

- тест не позволяет различить ЛТБИ (латентную туберкулёзную инфекцию) и активный туберкулёз.
- Иммунологические тесты *in vitro* (T-Spot, Quantiferon) проводятся как альтернативные методы, они **не входят в программу государственных гарантий по организации бесплатной медицинской помощи гражданам и проводятся на платной основе.**



T-СПОТ ПРИМЕНЯЮТ:

- у детей, привитых БЦЖ, у которых выявлено ложноположительная реакция Манту. В этом случае ценно сделать это малоинвазивное исследование до рентгенографии легких.
- у лиц с аллергическими и аутоимунными заболеваниями;
- у медицинских работников, людей, которые много путешествуют, военных, беременных;
- у заключенных или прибывших из мест заключения;
- у больных наркоманиями;
- у лиц, контактирующих с туберкулезными больными;
- у пациентов, проходящих терапию подавляющую иммунитет, как например, глюкокортикоидная или лучевая терапия, лечение с замещением функции почек;
- при наличии хронических заболеваний, сопровождающихся снижением или истощением иммунитета, как например, сахарный диабет, уже упоминавшийся ВИЧ, или пневмокониозы;
- при подозрении на внелегочные формы туберкулеза.



ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

отрицательный	менее или равно 4 активированных Т-лимфоцитов	отсутствие инфицирования
сомнительный	образец крови содержит эффекторные Т-клетки, специфически сенсibilизированные к возбудителю туберкулеза <i>Mycobacterium tuberculosis</i> в количестве от 5 до 7	Исследование необходимо повторить через 1-2 месяца
положительный	обнаружено 8 и более активированных Т-лимфоцитов	наличие туберкулеза
неопределенный	недостовоерен в связи с недостаточной функциональной активностью Т-лимфоцитов	повторить исследование через 2-4 недели



- Специальной подготовки к исследованию не требуется. Взятие крови проводится натощак или не ранее, чем через 4 часа после необильного приема пищи. Допустимо пить чистую не минеральную и не газированную воду. Чай, кофе, сок запрещаются

ВАЖНО:

- Пр. Манту не влияет на результат теста T-SPOT, поэтому его можно проводить независимо от постановки пробы
- После пр. с АТР, T-SPOT можно проводить не ранее, чем через 2 месяца
- Во время ОРЗ может отмечаться неспецифическая реакция, которая мешает оценке результата. Поэтому *предпочтительно* делать тест T-SPOT не ранее, чем через 1 месяц после выздоровления



T-SPOT ПРИ ВИЧ-ИНФЕКЦИИ

- Этот тест у носителей ВИЧ-инфекции имеет особое значение в диагностике туберкулеза
- Вирус иммунодефицита поражает как раз те клетки, которые используются для диагностики в любом из IGRA-тестов, к которым относится и T-SPOT, т.е. клетки CD4
- В ходе исследований обнаружилось, что даже на поздних стадиях развития ВИЧ-инфекции, когда количество лимфоцитов CD4 уже не превышает 100 на мм³, выявляемость туберкулеза при помощи T-СПОТ остается очень высокой



СРАВНЕНИЕ ТЕСТОВ

Параметр	Проба Манту	АТР (Диаскинтест®)	T-SPOT.TB
Метод исследования	Кожный тест	Кожный тест	Анализ крови
Побочные реакции	Возможны	Возможны	Нет
Противопоказания	Есть	Есть	Нет
Специфичность	Низкая	Высокая	Высокая
Положительные результаты после вакцинации БЦЖ	Да	Нет	Отсутствует
Зависимость от сроков проведения профилактических прививок	Да (не ранее чем через месяц)	Да (не ранее чем через месяц)	Нет
Интерпретация результатов	Субъективна	Субъективна	Объективна
Достоверность при иммунодефиците	Низкая	Низкая	Высокая
Достоверность при латентной форме	Низкая	Низкая	Высокая

- **Срок исполнения до 4 рабочих дней**
- **Цена порядка 7 950 руб.**
- Для использования в целях установления диагноза или исключения туберкулеза, а также для оценки вероятности наличия латентной туберкулезной инфекции, при интерпретации результатов T-SPOT.TB необходимо принимать во внимание весь комплекс эпидемиологических, анамнестических и клинических данных и результаты других проведенных диагностических исследований





НАКОЖНАЯ ПРОБА «ПРИК- ТЕСТ»

- Установлено, что у больных инфильтративным туберкулезом легких в сочетании с ВИЧ-инфекцией при уровне CD4+ лимфоцитов 300 кл/мкл и более число положительных реакций «Прик-теста» достоверно не отличается от числа положительных реакций в группе ТБ.
- Это позволяет рекомендовать «Прик-тест» со 100% раствором ППД-Л как скрининговый метод выявления туберкулеза при ВИЧ-инфекции при CD4 300кл/мкл и более



Преимущества Прик-теста:

- дешевле и быстрее, чем проба Манту с 2ТЕ;
- меньше повреждает кожу
- папула имеет четкие границы, округлую форму и удобнее для измерения; 23
- отсутствует везикуло-некротический компонент;
- реже встречаются дефекты постановки;
- оценивается лучше как пациентами, так и медицинским персоналом.



□ **NB!** ни один из описанных выше тестов не может быть использован как монодиагностика туберкулеза!



Только совокупность данных анамнеза, осмотра, клинико-лабораторных, рентгенологических данных может позволить нам поставить диагноз туберкулез





Спасибо за внимание!