


Лекция для студентов 6 курса лечебного факультета

# *«Иммунодиагностика туберкулеза»*



**доцент кафедры внутренних болезней,  
к.м.н. Поздеева Н.В.**

# *Иммунодиагностика*

---

**специфические диагностические тесты с применением антигенов микобактерий туберкулеза, которые проводится с целью выявления сенсibilизации организма (инфицирования) к микобактериям туберкулеза:**

- **Массовая**
- **Индивидуальная**

# *Применяются*

---

- **аллерген туберкулезный очищенный жидкий в стандартном разведении (туберкулин)**
- **аллерген туберкулезный рекомбинантный в стандартном разведении (диаскинтест)**

# *Туберкулинодиагностика*

---

**это биологический тест, основанный на способности туберкулина вызывать в сенсibilизированном организме специфическую, воспалительно-аллергическую реакцию гиперчувствительности замедленного типа**

# *Специфическая сенсibilизация к туберкулину возможна:*

---

- на фоне вакцинации, ревакцинации вакциной БЦЖ
- при инфицировании различными типами микобактерий туберкулеза
- при развитии заболевания

# *Роберт Кох*

---

**Немецкий ученый,  
который в  
1890-1891гг. впервые  
приготовил и  
применил  
туберкулин на  
практике**



# Старый туберкулин Коха

представляет собой водно-глицериновую вытяжку из 6-8-недельных культур МБТ, выращенных на мясопептонном 4% глицериновом бульоне, простерилизованную в течение 1 ч. текучим паром, освобожденную путем фильтрации от бактериальных тел и сгущенную при температуре 90°C до 1/10 первоначального объема



- 
- ▣ **F.Seibert и S.Glenn (1934г.) получили сухой очищенный туберкулин PPD (Purified protein derivate – очищенный белковый дериват)- PPD-S**
  - ▣ **В России сухой очищенный туберкулин - PPD-L изготовлен в 1939г. на безбелковой синтетической среде в Ленинградском НИИ вакцин сывороток, под руководством М.А.Линниковой**



# *Туберкулин*

---

**это водный экстракт убитой нагреванием культуры МБТ человеческого и бычьего типов, выращенных на синтетической среде. В туберкулин, в основном, входят продукты жизнедеятельности МБТ, живых МБТ в нем нет**

# *Биохимический состав туберкулина*

---

- 1) **белки (туберкулопротеины А, В, С) – 80%**
- 2) **углеводы (полисахарид I, II) – 10-15%**
- 3) **липидные фракции**
- 4) **нуклеиновая кислота**

# *1 Международная туберкулиновая единица (ТЕ)*

---

**это количество туберкулина, которое можно вводить без опасения вызвать слишком сильные реакции, 1 ТЕ позволяет выявить 80-90% положительных реакций у спонтанно инфицированных туберкулезом лиц**

- 1 ТЕ PPD-S содержит 0,00002 мг чистого препарата и 0,00008 мг буферных солей**
- 1ТЕ ППД-Л содержит 0,00006 мг чистого препарата.**

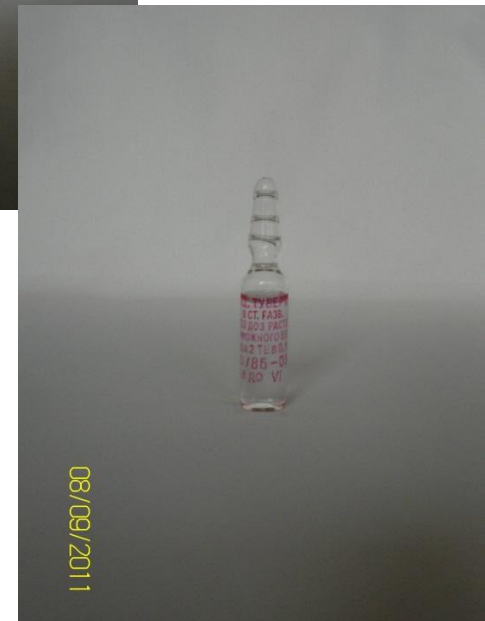
**Весовое соотношение международного стандарта PPD-S и PPD-L – 1:3**

# 2 вида очищенного туберкулина

1. Аллерген очищенный туберкулезный сухой (сухой очищенный туберкулин). Выпускается в ампулах, содержащих 50.000 ТЕ. Срок годности – 5 лет



2. Аллерген туберкулезный очищенный жидкий (очищенный туберкулин в стандартном разведении 1:5000). Препарат выпускают в ампулах, в 0,1 мл раствора содержится 2ТЕ ППД-Л. Срок годности – 1 год



# *von Pirquet C.*

---

**Австрийский ученый.**

- ▣ **В 1907г. предложил впервые применять туберкулин для выявления латентной туберкулезной инфекции путем скарификации поверхностного слоя кожи.**
- ▣ **Впервые использовал термин «аллергия»**



# *Основные виды туберкулиновых проб*

---

- **Проба Манту с 2 ТЕ**
- **Градуированная кожная проба**
- **Проба Коха**

- 
- **Реакция по типу ГЗТ начинает развиваться через 6-8 часов после введения туберкулина. Пик реакции ГЗТ приходится на 48-72 часа.**
  - **Клеточную основу которого составляют лимфоциты, моноциты, макрофаги, при гиперергических реакциях обнаруживаются специфические элементы с эпителиоидными и гигантскими клетками.**

## **3 типа ответных реакций на введение туберкулина:**

---

- 1. Местная - формируется в месте введения туберкулина (*гиперемия, папула, везикулы, лимфангит, некроз*)**
- 2. Общая - характеризуется общими изменениями в организме человека (*ухудшения самочувствия, повышения температуры тела, головных болей, артралгий, изменений в анализах крови*)**
- 3. Очаговая - возникает в очаге специфического поражения. *Проявляется клинически появлением локальных симптомов со стороны патологического процесса; рентгенологически увеличение перифокального воспаления вокруг туберкулезных очагов.***



# ***По степени интенсивности туберкулиновых реакций различают***

---

- анергические (*отсутствие реакции*)**
- гипоергические (слабые)**
- нормергические (умеренные)**
- гиперергические (сильные)**

# ***Интенсивность ответной реакции на туберкулин зависит***

---

- 1) от массивности МБТ**
- 2) от вирулентности МБТ**
- 3) от общей реактивности организма**
- 4) дозы туберкулина**
- 5) частоты повторного введения**
- 6) состояния парааллергии - это состояние измененной чувствительности, вызванной одним антигеном по отношению к другим**

# Анергия

---

- 1. Первичная (абсолютная) – отрицательные туберкулиновые пробы у лиц, не инфицированных МБТ**
- 2. Вторичная – потеря чувствительности к туберкулину у больных туберкулезом или лиц, ранее перенесших туберкулезную инфекцию:**
  - a) Пассивная (отрицательную вторичную анергию)- при тяжелых формах туберкулеза**
  - b) Активная (положительная вторичная анергию)- как вариант биологического излечения от туберкулезной инфекции или состояние иммуноанергии при «латентном микробизме», при некоторых заболеваниях**

# *Снижение туберкулиновой чувствительности может быть при*

---

- **кори**
- **коклюше**
- **малярии**
- **вирусном гепатите**
- **раке**
- **лимфогранулематозе**
- **микседеме**
- **белковом голодании**
- **при применении антигистаминных препаратов, глюкокортикоидов, витаминов А, С, Д,**
- **после вакцинации против полиомиелита, кори**
- **на фоне приема ПТП (эффективность лечения)**

# *Повышение туберкулиновой чувствительности отмечается при*

---

- **бронхиальной астме**
- **гипертиреозе**
- **ревматизме**
- **бруцеллезе**
- **пневмонии**
- **глистных инвазиях**
- **скарлатине**
- **обострении хр. заболеваний (тонзиллит, аденоидит, гепатохолецистит)**

# *Туберкулинодиагностика*

---

```
graph TD; A[Туберкулинодиагностика] --> B[массовая]; A --> C[индивидуальная]
```

**массовая**

**индивидуальная**

# Цели массовой туберкулинодиагностики

---

1. Выявление лиц, входящих в группы риска заболевания туберкулезом (для ДН у фтизиатра):
  - a) впервые инфицированных МБТ ("вираж" туберкулиновых проб)
  - b) лиц инфицированных более года с гиперергическими и с усиливающимися (увеличение на 6 мм и более) реакциями на туберкулин
2. Отбор контингентов для противотуберкулезной прививки вакциной БЦЖ-М детей в возрасте 2 месяцев и старше, не получивших прививку в роддоме, и для ревакцинации вакциной БЦЖ
3. Ранняя диагностика туберкулеза у детей и подростков
4. Определение эпидемиологических показателей по туберкулезу (инфицированность населения МБТ, ежегодный риск инфицирования МБТ)

***Для проведения массовой туберкулинодиагностики используют одну туберкулиновую пробу – Манту с 2 ТЕ***

# *Цели индивидуальной туберкулинодиагностики:*

---

- 1. дифференциальная диагностика поствакцинальной и инфекционной аллергии к туберкулину**
- 2. диагностика и дифференциальная диагностика туберкулеза и других заболеваний**
- 3. определение "порога" индивидуальной чувствительности к туберкулину**
- 4. определение активности туберкулезного процесса**
- 5. оценка эффективности противотуберкулезного лечения**



# *Противопоказания для проведения массовой туберкулинодиагностики:*

---

- **кожные заболевания, острые и хронические инфекционные и соматические заболевания (в том числе эпилепсия) в период обострения**
- **аллергические состояния, ревматизм в острой и подострой фазах, бронхиальная астма, идиосинкразии с выраженными кожными проявлениями в период обострения**
- **карантин**
- **профилактические прививки**

---

***Для индивидуальной  
туберкулинодиагностики  
противопоказаний нет***

---

# *Реакция Манту с 2 ТЕ*

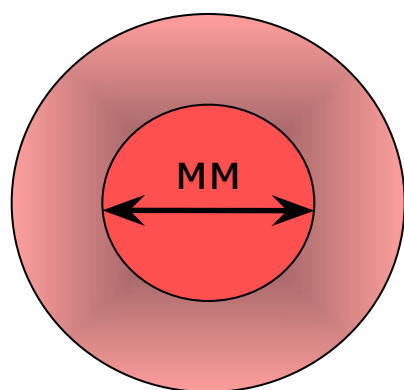
# Организация и техника проведения пробы Манту с 2 ТЕ



- производится только в процедурном кабинете (дома не проводится) специально обученной медицинской сестрой
- применяют однограммовые туберкулиновые шприцы разового использования
- строго внутривенно на внутреннюю поверхность предплечья вводят 0,1 мл раствора туберкулина, т.е. одну дозу

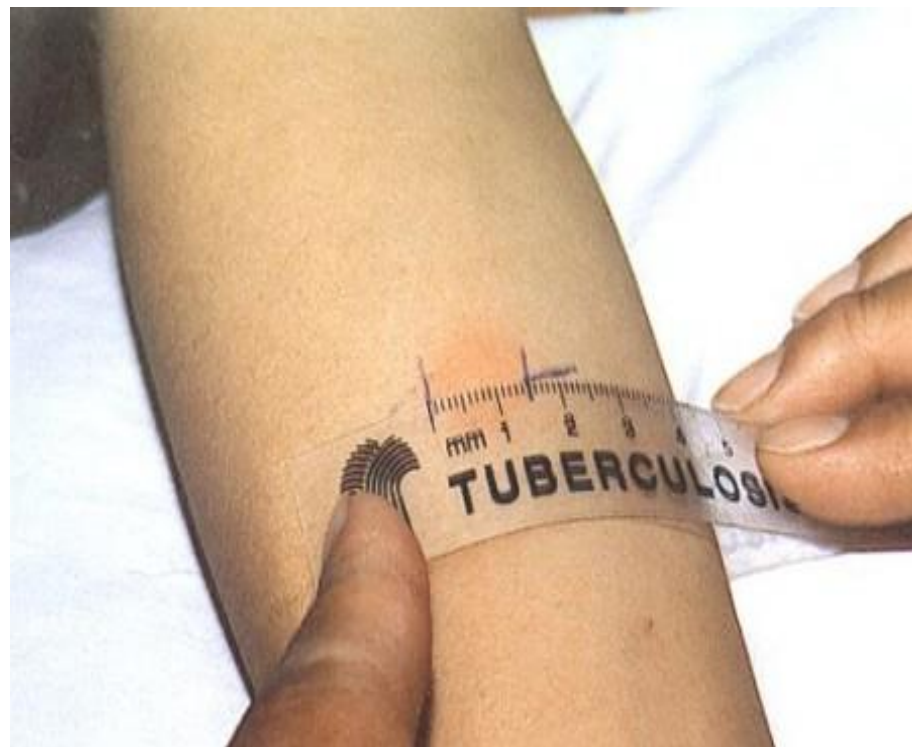
# Оценка результатов пробы Манту (через 72 часа)

---



инфильтрат  
(папула)

гиперемия



# Оценка результатов пробы Манту (через 72 часа)

---

1. **отрицательная** - отсутствии инфильтрата (папулы) или гиперемии или наличие уколочной реакции (0-1 мм)
2. **сомнительная** - инфильтрат 2-4 мм или гиперемия любого размера без инфильтрата
3. **положительная** - инфильтрат диаметром 5 мм и более:
  - ***слабоположительные*** - инфильтрат 5-9 мм
  - ***средней интенсивности*** – инфильтрат 10-14 мм
  - ***выраженными*** – инфильтрат 15-16 мм
  - ***гиперергическими*** у детей и подростков - инфильтрат 17 и более, у взрослых 21 мм и более, а также везикуло-некротические реакции независимо от размера инфильтрата с лимфангоитом или без него.



## Результаты пробы Манту у детей и подростков фиксируют:

- в учетной форме N 063/у,
- в медицинской карте ребенка (форма N 026/у) и
- в истории развития ребенка (форма N 112/у).

### При этом отмечают:

- а) предприятие-изготовитель туберкулина, номер серии, срок годности
- б) дату проведения пробы
- в) введение препарата в правое или левое предплечье;
- г) результат в мм с указанием характера пробы (*гип.* или *ar* – гиперемия, ареола; *p* - папула; *ves* – везикула; *lf* – лимфаденит и др.)

Пример: РМ с 2 ТЕ ППД-Л (С 10/86 0511, годен до 01.06.12г., изготовлен в г. Санкт-Петербурга) от 25.07.11г., в/к 0,1мл, рука левая, – р 9 мм



*По результатам массовой  
туберкулинодиагностики к фтизиатру  
необходимо направить следующих детей:*

---

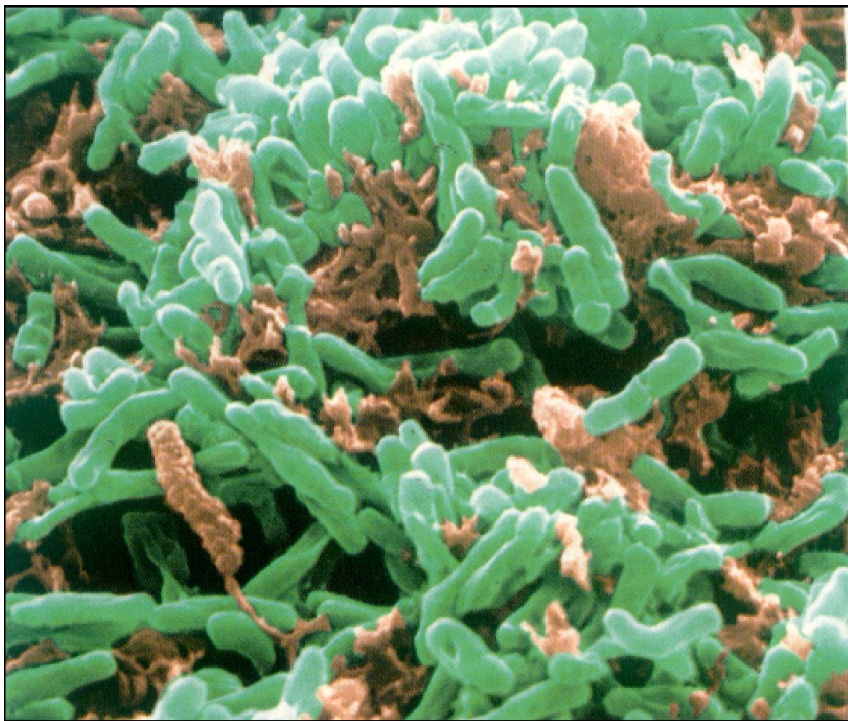
- с подозрением на «вираж» туберкулиновых проб
- с усилением чувствительности к туберкулину на 6 мм и более в течение года или увеличение менее чем на 6 мм, но с образованием инфильтрата 12 мм и более
- с гиперергической чувствительностью к туберкулину
- из социальных групп риска, с выраженной реакцией на туберкулин
- со стойко (4-5 лет) сохраняющейся реакцией с инфильтратом 12 мм и более
- с постепенным нарастанием чувствительности к туберкулину в течение нескольких лет, с образованием инфильтрата 12 мм и более
- с монотонной туберкулиновой чувствительностью

# **Основные принципы ДД поствакцинной и инфекционной аллергии:**

---

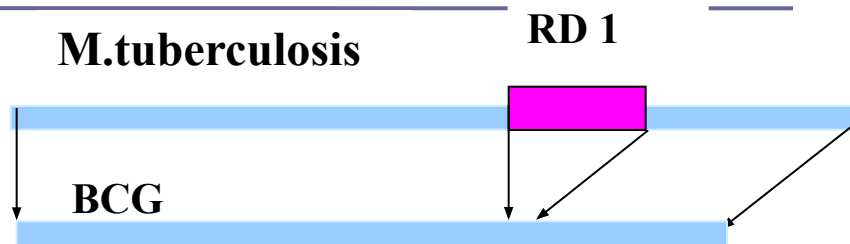
- Связь с V или RV вакциной БЦЖ (количество полученных прививок БЦЖ; наличие и размер послевакцинных рубчиков; срок прошедший после прививки)**
- Динамика и характер туберкулиновых проб (размер, зависимость от величины поствакцинального рубчика, внешний вид инфильтрата, пигментация после пробы)**
- Контакт с больным туберкулезом**
- Клинические симптомы туберкулеза**

# ЭЛЕКТРОННАЯ МИКРОГРАФИЯ M.TUBERCULOSIS



Отсутствуют морфологические и серологические различия между *M.tuberculosis* и BCG (*M.Bovis*)

## Генетические карты

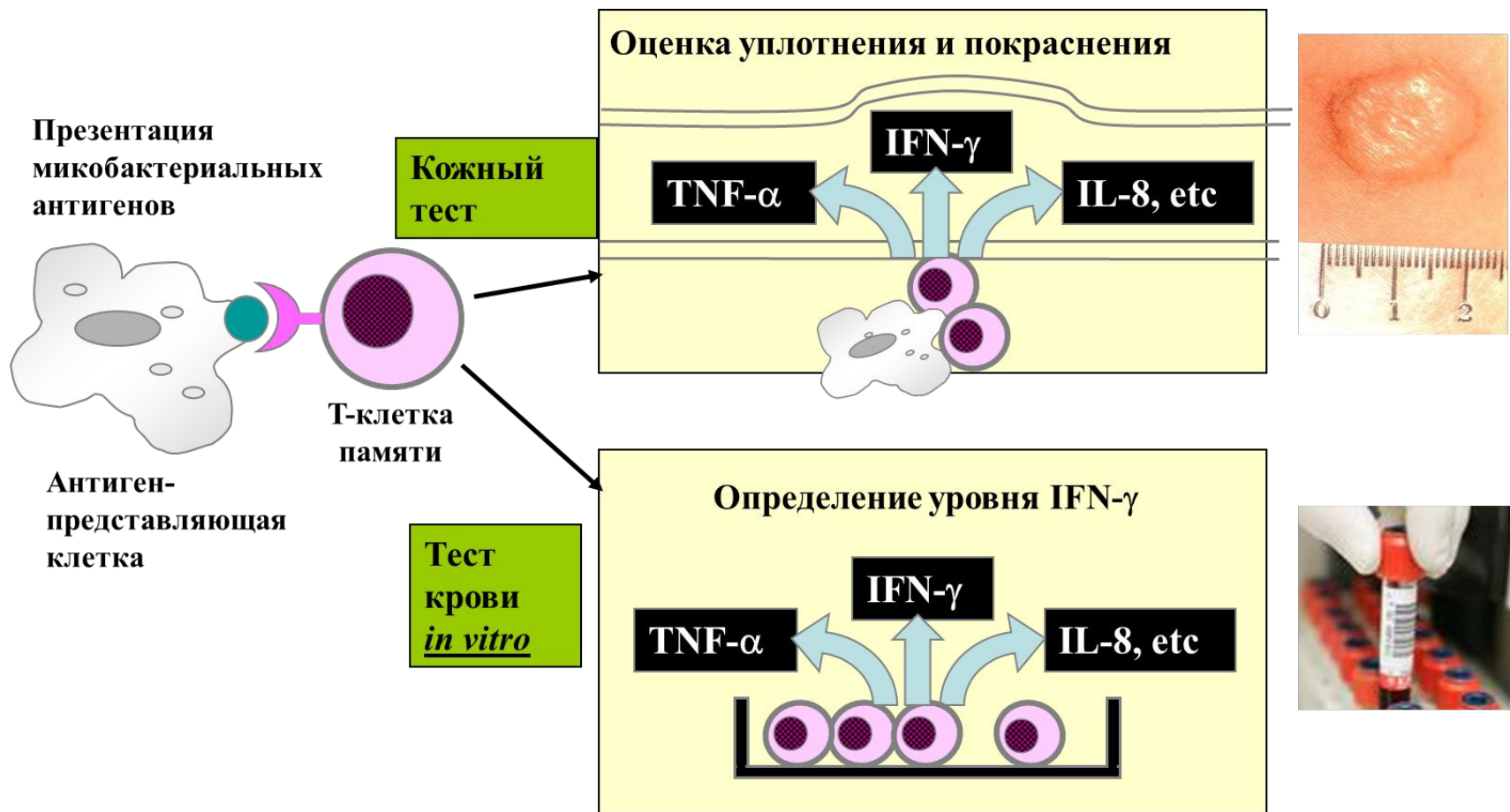


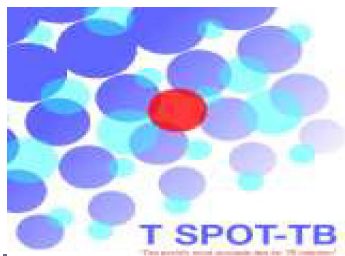
- RD1 – 10КВ кодирует:
- early secretory antigenic target (ESAT) – 6 kD
  - culture filtrate protein 10 (CFP) – 10 kD

Антигены микобактерий **ESAT-6** и **CFP 10** выделены из региона RD1 *M. tuberculosis*.

Регион RD1 отсутствует у всех штаммов БЦЖ (потерян во время первоначального выделения *M. bovis* BCG в период с 1908 по 1931 в Институте Пастера) – не дает ложно положительных ответов у БЦЖ вакцинированных лиц

# Современные диагностические тесты: *in vivo*: Диаскинтест и *in vitro*: QuantiFERON и T-SPOT





# Interferon- $\gamma$ Release Assays



## T SPOT™.TB

## QuantiFERON®- Tb Gold In-Tube

*В настоящее время тесты применяются более чем  
в 20 странах мира.*

**Включен в клинический  
минимум обследования  
групп риска по  
заболеванию туберкулезом  
с 2007г:**

- Великобритания
- Швейцария
- Канада

**Включен в клинический  
минимум обследования  
групп риска по  
заболеванию туберкулезом  
с 2005г:**

- США
- Австралия
- Франция

**В России тесты прошли клинические испытания в НИИФП и  
находятся на регистрации в ГИСК им. Тарасевича**

# Диагностические тесты на основе рекомбинантных белков используемые *in vitro*: QuantiFERON и T-SPOT

---

- ❑ **Высоко информативны**
- ❑ **Нетоксичны**
- ❑ **Безвредны**
- ❑ **Не обладают сенсibiliзирующими свойствами**

## **Однако:**

- ❑ **высокая стоимость**
- ❑ **потребность в дополнительном оснащении**
- ❑ **клинической лаборатории**
- ❑ **внутривенные манипуляции у детей**

***Не позволяют их использовать для массового обследования на туберкулез***

# *Кожная проба с «диаскинтестом»*



# Диаскинтест (ДСТ)

---

- **внутрикожный диагностический тест, в основе которого лежит аллерген туберкулезный рекомбинантный (АТР) в стандартном разведении, представляющий собой рекомбинантный белок, продуцируемый генетически модифицированной культурой *Escherichia coli* BL21(DE3)/pCFP-ESAT6. Препарат содержит два связанных между собой антигена - CFP-10 (culture filtrate protein) и ESAT6 (Early secreted antigenic target), присутствующие в вирулентных штаммах МБТ. Эти антигены отсутствуют у *M. Bovis* вакцинного штамма.**



# Различия

---

## Туберкулин

- Аллерген туберкулезный  
Препарат из антигенов  
МБТ или их  
культуральных  
фильтратов
- Изготавливают из смеси  
убитых нагреванием  
фильтратов МБТ  
человеческого и бычьего  
ВИДОВ

## ДИАСКИНТЕСТ®

- Аллерген туберкулезный  
**рекомбинантный** (АТР)
- Антигены микобактерий  
**ESAT-6 и CFP 10** выделены  
из региона RD1 *M.*  
*tuberculosis.*
- Регион RD1 отсутствует у всех  
штаммов БЦЖ и НТМБ (не  
дает положительной реакции)

# Тест обладает:

---

- высокой чувствительностью (*частота положительных ответных реакций у лиц с активной туберкулезной инфекцией*)
- высокой специфичностью (*частота отсутствия реакции на препарат у здоровых лиц*) выше, чем у туберкулина

***НО!*** не может быть использован вместо туберкулинового теста для отбора лиц на первичную вакцинацию и ревакцинацию БЦЖ.

# *Препарат ДИАСКИНТЕСТ®*

---

реагирует на **наличие** в организме

**растущей популяции МБТ,**

**то есть является отражением достаточной бактериальной  
нагрузки на организм**

# *Препарат используется во всех возрастных группах с целью*

---

- 1. Диагностики туберкулеза и оценки активности процесса**
- 2. Дифференциальной диагностики туберкулеза**
- 3. Дифференциальной диагностики ПВА и ИА**
- 4. Наблюдения за эффективностью лечения в комплексе с другими методами**

## *Для раннего и своевременного выявления туберкулеза ДСТ проводят*

---

- **Лицам, направленным в ПТУ для дообследования на наличие туберкулезного процесса**
- **Лицам, относящимся к группе высокого риска по заболеванию туберкулезом с учетом эпидемиологических, медицинских и социальных факторов риска**
- **Лицам, направленным к фтизиатру по результатам массовой туберкулинодиагностики**

## **Одна доза препарата (0,1 мл) содержит:**

---

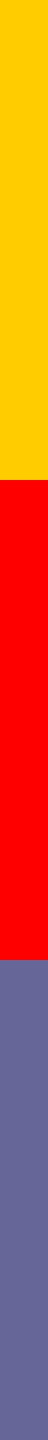
- рекомбинантный белок CFP-ESAT6 (0,2 мкг)**
- фенол (0,25 мкг) в качестве консерванта**
- полисорбат 80 (твин 80) в качестве стабилизатора**
- натрий фосфорно-кислый двузамещенный 2-водный**
- натрия хлорид**
- калий фосфорно-кислый однозамещенный**
- воду для инъекций - до 0,1 мл**

*Техника постановки и методика оценки пробы с ДСТ аналогична внутрикожной пробе Манту с 2 ТЕ.*

# **Оценка результатов ДСТ (через 72 часа)**

---

- 1. Отрицательная реакция – отсутствие инфильтрата и гиперемии или наличия «уколочной реакции»**
- 2. Сомнительная – наличие гиперемии без инфильтрата**
- 3. Положительная – инфильтрат (папула) любого размера:**
  - слабо выраженная – инфильтрата до 5 мм или гиперемия 5 мм и более**
  - умеренно выраженная – инфильтрат 5-9 мм**
  - выраженная – инфильтрат 10 мм и более**
  - гиперергическая – инфильтрат 15 мм и более, везикуло-некротические изменения и (или) лимфангоит, лимфаденит независимо от размера инфильтрата**





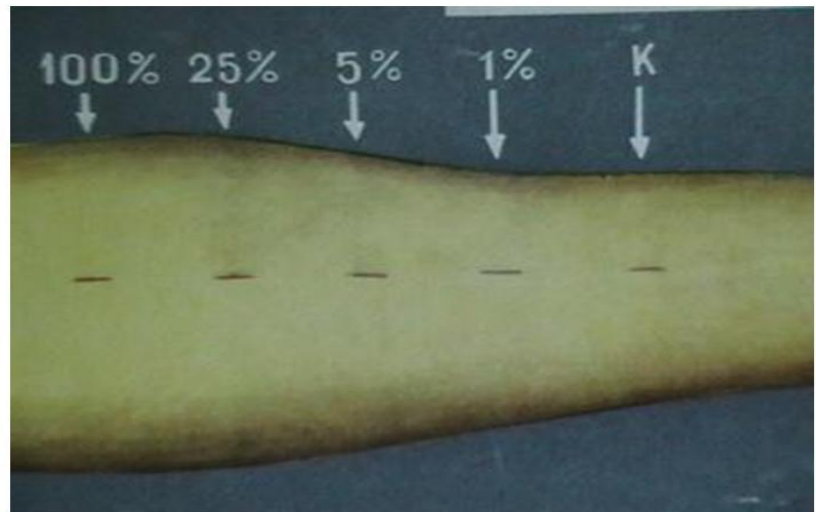
# Отрицательная реакция на пробу может быть:

---

- У неинфицированных *M.tuberculosis* лиц
- У лиц ранее инфицированных *M.tuberculosis* с неактивной туберкулезной инфекцией
- У больных туберкулезом в период завершения инволюции туберкулезных изменений при отсутствии клинических, рентгено-томографических, инструментальных и лабораторных признаков активности процесса
- У лиц, излечившихся от туберкулеза
- У лиц на ранних стадиях инфицирования
- У больных туберкулезом с выраженными иммунодефицитом

# Градуированная кожная проба

- представляет собой накожную туберкулиновую пробу со 100%, 25%, 5% и 1% туберкулином. Проводится в условиях противотуберкулезного стационара. ГКП имеет дифференциально-диагностическое значение при выяснении характера туберкулиновой аллергии



# Оценка ГКП пробы по Шмелеву

---

- ▣ **Адекватная** реакция – нормергическая, анергическая, гиперергическая
- ▣ **Неадекватная** реакция – уравнительная, парадоксальная

# Оценка ГКП пробы по Шмелеву

---

- 1) **нормэргическая** - умеренная чувствительность на большие концентрации туберкулина, отсутствие реакции на 1%, 5% туберкулин, на 25% туберкулин также может отсутствовать
- 2) **гиперэргическая** – ответные реакции на все разведения туберкулина, размеры инфильтратов увеличиваются по мере увеличения концентрации туберкулина, начиная с 1 до 100%, наличие везикуло-некротических реакций, лимфангита, лимфаденита, отсевов
- 3) **анергическая** - отсутствие ответа на все разведения туберкулина
- 4) **уравнительная** - примерно одинаковая интенсивность на разные концентрации туберкулина.
- 5) **парадоксальная** - меньшая интенсивность реакции на большие концентрации туберкулина, более интенсивные реакции на малые концентрации туберкулина

# Проба Коха

---

- **представляет собой подкожное введение туберкулина. Используется для диагностики, определения активности туберкулезного процесса**
- **туберкулин вводят подкожно под лопатку или в плечо на стороне поражения в дозе 10- 20 ТЕ - детям, 20-50-100 ТЕ – взрослым (в зависимости от результата пробы Манту с 2 ТЕ)**
- **до постановки пробы проводят полное клинико-лабораторное обследование больного**

## Оценивают реакцию (через 72 часа)

- **Общую**
- **Местную**
- **Очаговую**

## **Общая реакция:**

---

- **проявляется повышением температуры на 0,5 и более °С, по сравнению с температурой до пробы ( измерение проводят в течение 3 дней до пробы и на фоне нее – через 3 часа 6 раз в сутки) – у большинства отмечается повышение температуры на 2-е сутки, появлением и нарастанием симптомов интоксикации;**
- **проба Михайлова: осуществляется подсчет эозинофилов спустя через 30 мин. и 1 час после пробы. При положительной пробе отмечается снижение абсолютного числа эозинофилов**
- **проба Боброва (гемотуберкулиновая): при положительной пробе через 24, 48 часов отмечаем повышение СОЭ на 5 мм\ч, увеличение палочкоядерных нейтрофилов на 6 % и более, уменьшение содержания лимфоцитов на 10% и тромбоцитов на 20 %**

- 
- **белково-туберкулиновая проба Рабухина Иоффе**: через 24, 48 часов снижается количество альбуминов, увеличивается количество глобулинов, за счет альфа-1, альфа-2 и гамма фракций, снижается альбумин-глобулиновый индекс. Отклонение показателей на 10% и более свидетельствуют в пользу положительной пробы Коха
  - **иммунотуберкулиновая проба**: при положительной пробе через 72 часа снижается реакция бласттрансформации лимфоцитов с фитогемаглютинином, увеличивается реакция бласттрансформации с ППД-Л, увеличиваются иммуноглобулины всех классов



# *Местная реакция*

---

- **оценивается размер инфильтрата в месте введения туберкулина.**

**Положительная реакция - инфильтрат 15-20–30 мм**

**Гиперергическая - более 30 мм.**

# Очаговая реакция

---

- оцениваются жалобы больного: появление локальных (грудных) симптомов или их нарастание свидетельствует в пользу положительной пробы
- объективно: выявление катаральных явлений в легких при перкуссии и аускультации также указывают на положительную пробу;
- выявление МБТ при 3-хкратном исследовании мокроты методом люминесцентной микроскопии и посевом после пробы – достоверный признак туберкулезной этиологии процесса;
- рентгенологическое исследование легких через 7-10 дней после пробы: при положительной пробе контуры очагов, фокусов становятся нечеткими, появляется инфильтрация по периферии их, отмечается появление новых очагов в легких
- на термографии в динамике можно выявить участки термоассиметрии.

*Спасибо за внима*

---

