II Конгресс
Национальной Ассоциации Фтизиатров

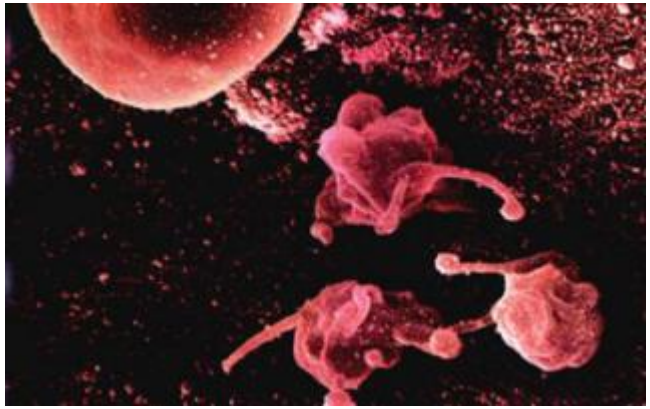
НАЦИОНАЛЬНАЯ АССОЦИАЦИЯ ФТИЗИАТРОВ

Значение иммунологических методов диагностики в выборе тактики ведения детей с различными проявлениями туберкулёзной инфекции

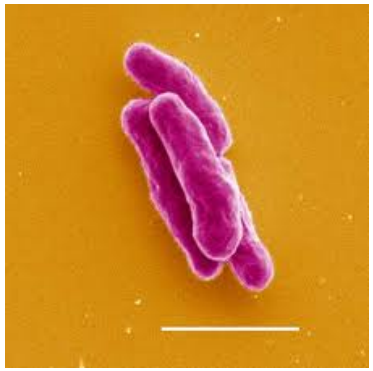
II Конгресс Национальной Ассоциации Фтизиатров

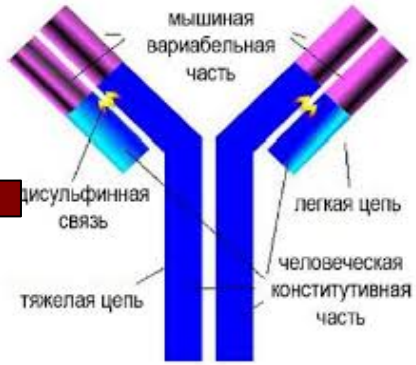
Довгалюк И.Ф., Старшинова А.А.

ФГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии» Минздрава России



- **Иммунологические методы** — диагностические методы исследования, основанные на специфическом взаимодействии антигенов и антител.





Антигены **- это чужеродные вещества, несущие признаки генетической чужеродности и при введении в организм вызывающие развитие специфических иммунологических реакций (синтез антител, реакции клеточного иммунитета, повышенную чувствительность, иммунологическую толерантность, а также иммунологическую память).**

Антитела **(иммуноглобулины — IgG, IgA, IgM, IgD, IgE) - это белки, которые образуются клетками организма в ответ на внедрение в него антигена.**

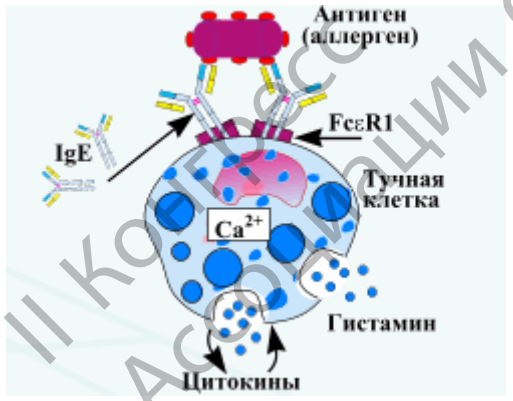
Национальной Ассоциации ФТИЗИАТРОВ
II Конгресс

Иммунологические методы во фтизиатрии

In Vivo

Введение антигена накожно, подкожно, внутрикожно

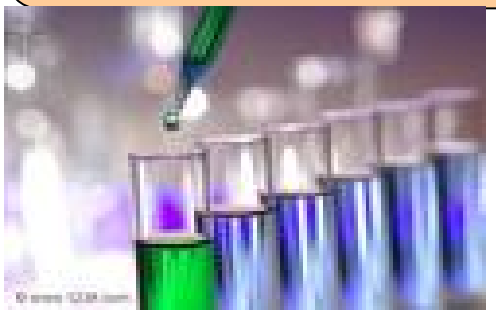
Реакция гиперчувствительности замедленного типа к аллергену



In vitro

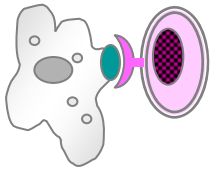
Получение реакции антиген + антитело

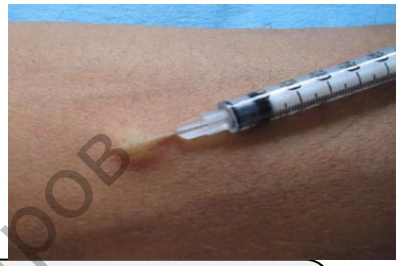
определение уровня специфических АТ



II Конгресс Национальной Ассоциации фтизиатров

Эволюция туберкинодиагностики





Получение туберкулина стало пусковым механизмов для развития целого направления в течении 100 лет

Культуральный фильтрат 1890г. - *«Старый Туберкулин Р.Коха» – 120 лет назад*

Внутрикожные (модификации п.Манту)

- Проба Манту-II Введение 0,1 мл туберкулина 1:100 ТЕ (1911г.)
- Проба Манту - IV 1ТЕ 1: 10000 ТЕ
- Проба Манту 2 ЕД PPD RT 23 (Дания)
- Проба Манту 2 ЕД PPD GT (Германия)
- Проба Манту 5 и 2 ЕД PPD-S (F.Seibert, 1952г. США)
- Проба Манту 2 ТЕ с PPD-L (Линникова, 1963г., СССР)

Кожные (проба Пирке, ГКП)

- Проба Пирке со 100% альттуберкулином
- Градуированная кожная проба (ГКП) Карпиловского-Воробьева (1, 5, 25,100% р-р туберкулина)

Подкожные (проба Коха)

- Проба Коха от 10 до 100 ТЕ – III разведение туберкулина

Накожные (пластерные)

Очищенный дериват протеина (Purifide Protein Derivativen (F. Seibert, A. Aronson, J. Clark, E.Long (1934) (PPD признан ВОЗ в 1953г.

- Градуированная проба Манту в V (0,1мл) и VI (0,01мл) (В.А.Астрова, Довгалюк И.Ф., 80-90гг.)
- Градуированная проба Манту в VII (0,001мл) и VIII (0,0001мл) (Довгалюк И.Ф., 1995-2005)

Национальный Ассоциации фтизиатров II конгресс

Влияние внешних и внутренних факторов на чувствительность к туберкулину

Вакцинация БЦЖ

Рост аллергизация

Рост сопутствующей патологии (Лор-патологии и т.д.)

Проба Манту 2ТЕ

Низкая диагностическая значимость

Необходимость поиска новых методов

Национальной Ассоциации Фтизиатров
II Конгресс

Лабораторные методы

Определение уровня специфических АТ

↓

Комплекс сероиммунологических реакции

↓

стимуляции туберкулином

↓

80г. СПбНИИФ

-реакция непрямой гемагглютинации (РНГА)

-Реакция пассивного гемолиза (РПГ) в модификации Б.Е.Кноринг [1975]

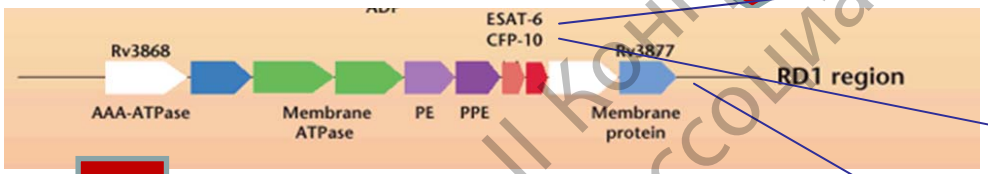
-Реакция потребления комплемента (РПК) в модификации Б.Е.Кноринг [1973]

- Иммуноферментный анализ в модификации Р.И. Шендоровой, В.Н. Вербова [1989]

II Конгресс Национальной Ассоциации Фтизиатров

Результат геномной революции

1998г.
Полная расшифровка генома M.Tuberculosis и M.bovis BCG
(Cole S.T. Deciphering the biology of Mycobacterium Tuberculosis from the complete genome sequence // Nature. 1998. Vol.393, N 6685. P. 537–544)



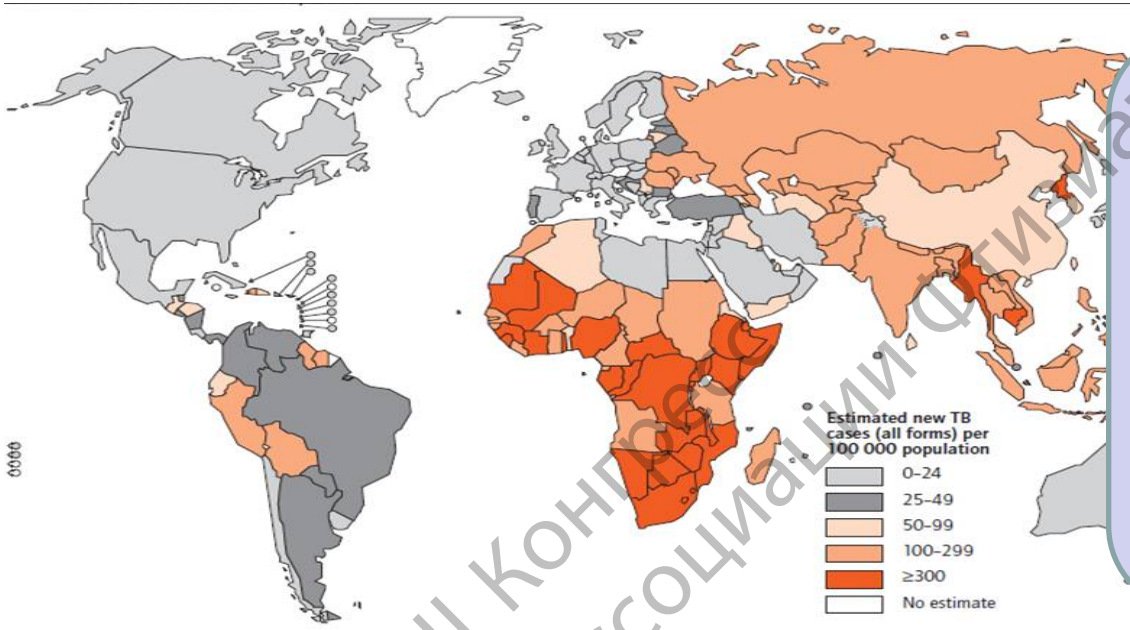
- ♦**ESAT-6 (7 пептидов)** early secreted antigenic target 6 kD protein
- ♦**CFP-10 (6 пептидов)** (culture filtrate protein 10)
- ♦**region of difference -1 (RD11)**

новых лабораторных методов типирования микобактерий

Появление новых иммунологических тестов

II Конгресс Национальной Ассоциации Фтизиатров

Бремя туберкулеза в мире (GLOBAL TUBERCULOSIS REPORT (WHO), 2012, 2013)



Молдавия -119
Казахстан -113
Грузия-105
Киргизия-103
Румыния-79
Украина-73
Россия-68
Беларусь-49
Турция-20
Канада-4

высокое бремя ТБ отмечается в странах Азии и Африки (самые высокие показатели заболеваемости и смертности)

60% туберкулеза в Юго-Восточной Азии и Западной части Тихого океана

40% Индия и Китай

в мире у 3,7% впервые заболевших и 20% пациентов, ранее получавших лечение, имеется МЛУ-ТБ.
Почти 60% случаев МЛУ-ТБ в мире приходится на долю Индии, Китая, Российской Федерации и Южной Африки.

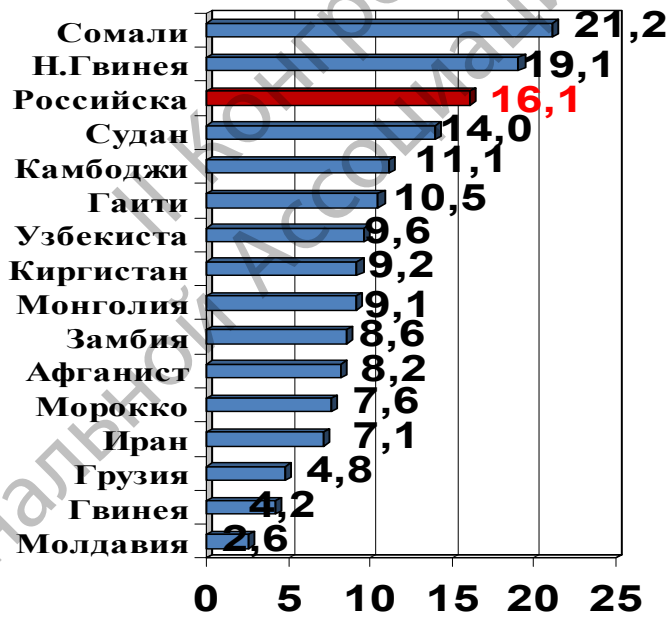
II Конгресс Национальной Ассоциации фтизиатров

Туберкулез у детей

Заболеваемость ТВ у детей → **500 000 детей (2011)**
530 000 детей (2012)

Смертность от ТВ детей → **64 000 случаев (2011)**
74 000 случаев (2012)

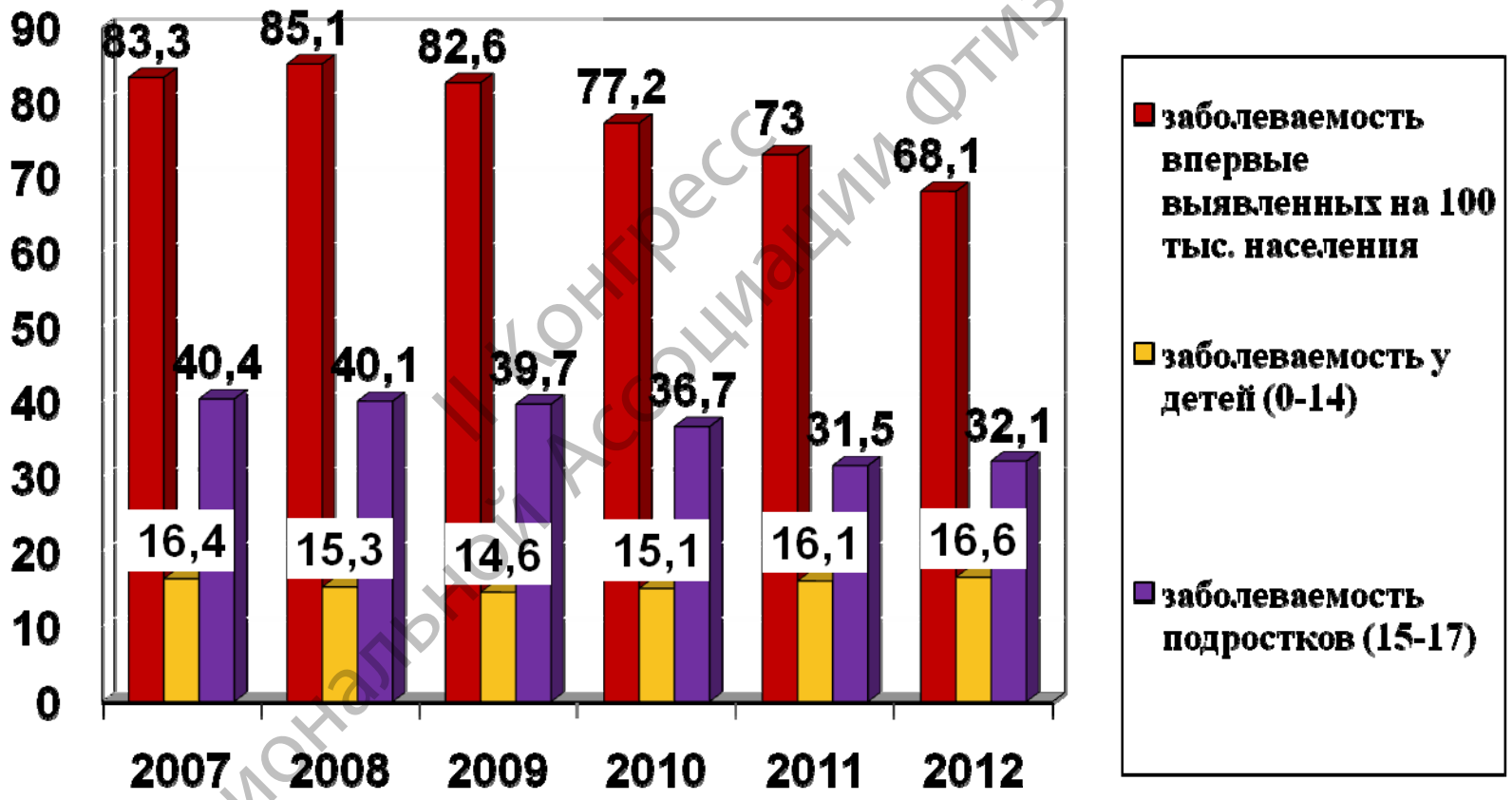
(впервые проведена оценка заболеваемости у детей ВОЗ в 2012)



- (GLOBAL TUBERCULOSIS REPORT (WHO) 2012, 2013)
- 43rd Union World Conference on Lung Health (Malaysia, 2012);
- 44-th Union World Conference on Lung Health (Paris, France, 2013)

II Конгресс Национальной Ассоциации фтизиатров

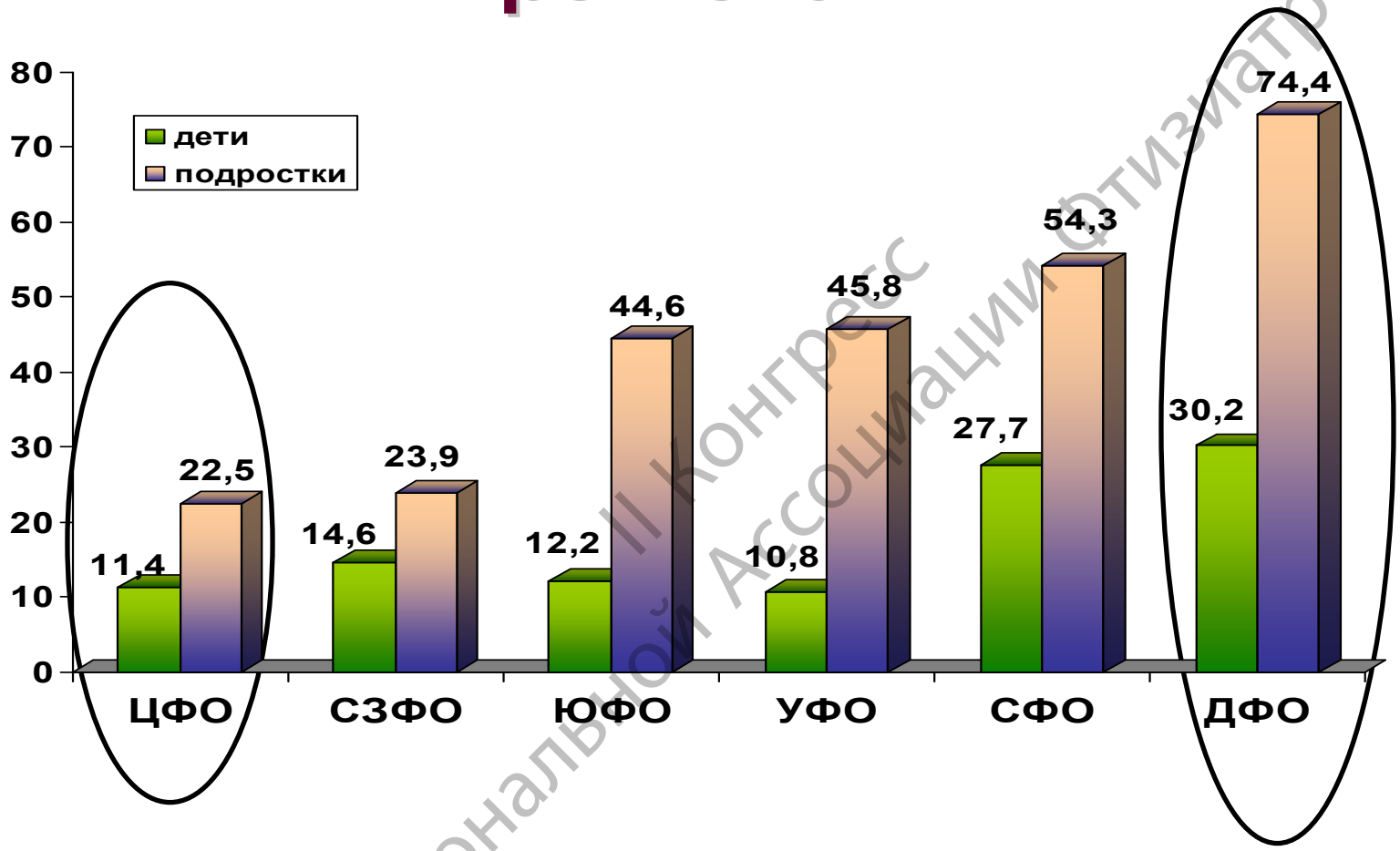
Показатель заболеваемости среди взрослого, подросткового и детского населения (на 100 тыс. населения)



II Конгресс Национальной Ассоциации Фтизиатров

проф. Нечаева О.Б., 2013 (ФГБУ «ЦНИИОИЗ» МЗ РФ)

Заболеваемость регионах



II Конгресс Национальной Ассоциации фтизиатров

- Первичное инфицирование по РФ в 2010г. составляет ***1,2%***

- Гиперергические реакции на туберкулин в РФ ***0,2%*** от числа охваченных туберкулинодиагностикой.

По данным Аксеновой В.А.

Задачи иммунологических методов обусловлены влиянием экономической и эпидемической ситуацией в регионе

Страны с высоким уровнем жизни

Высокий технологический уровень

Низкий уровень заболеваемости туберкулезом

нет вакцинации БЦЖ, возможно определить инфицирование МБТ по пробе Манту 2ТЕ, необходимость выявить латентную туберкулезную инфекцию

Страны с низким уровнем жизни

Низкий технический уровень

Высокий уровень заболеваемости и тяжелые формы туберкулеза с бактериовыделением

Необходимость своевременной изоляции бактериовыделителя

Вакцинация БЦЖ, проба Манту 2 ТЕ у всех положительная, Необходимо выявить контактных и угрожаемых по заболеванию

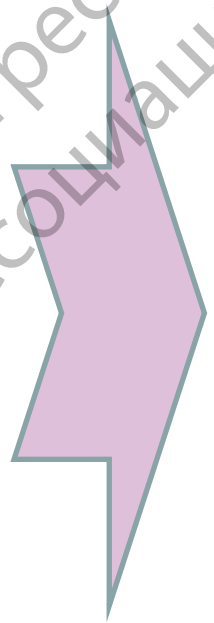
II Конгресс Национальной Ассоциации фтизиатров

Цель и возможности диагностических методов

Выявление раннего инфицирования МБТ

Определение активности специфического процесса

Контроль эффективности противотуберкулезной терапии



M. tuberculosis M. canetti
M. bovis M. caprae
M. bovis-BCG M. pinnepedii
M. microti M. fortuitum
M. Africanum и т.д.

туберкулин

ESAT-6 и CFP-10 антигенов

M. tuberculosis
M. kansasii
M. szulgai
M. marinum

II Конгресс Национальной Ассоциации фтизиатров

Различные подходы к диагностике туберкулеза у детей в мире

Европейский регион и Америка (заболеваемость 4-10 на 100 тыс.)	Российская Федерация (заболеваемость 100 – 60 на 100 тыс.	Азиатский регион (заболеваемость 100 -180 на100 тыс.)
Латентная туберкулезная инфекция - при положительном КФ –тесте	Туберкулезная интоксикация – наличие интоксикации при положительной пробе Манту 2 ТЕ и отсутствии «косвенных признаков» по ТМ	Туберкулез легких и внелегочных локализаций при возможной бактериологической или гистологической верификации верификации диагноза
ТВГЛУ -увеличение ВГЛУ при размерах более 1,0 см по МСКТ при бактериологической или гистологической верификации	ТВГЛУ – наличие интоксикации при положительной пробе Манту 2 ТЕ и наличии «косвенных признаков» по ТМ	
Туберкулез легких и внелегочных локализаций при бактериологической или гистологической верификации диагноза	Туберкулез легких и внелегочных локализаций при возможной бактериологической или гистологической верификации диагноза	

II Конгресс Национальной Ассоциации Фтизиатров

Структура клинических форм туберкулеза у детей

75,6%
Туберкулез внутригрудных лимфатических узлов

→ **Характеризуется отсутствием бактериовыделения**

18,2%
Туберкулез органов дыхания

→ **Возможно бактериовыделение в 36% случаев**

6,2%
Внелегочный туберкулез

→ **Характеризуется отсутствием бактериовыделения**

18
случаев менингитов

II Конгресс Национальной Ассоциации Фтизиатров

Проф. М.В. Шилова, 2012

Эпидемические

неблагоприятная ситуация по туберкулезу (-рост распространенных форм; -рост МЛУ(ШЛУ) -низкий охват ФЛГ;

Социальные

-низкие социально-бытовые условия проживания; -мигранты (в 10 раз выше заболеваемость)!

Организационные

-Нет согласованности взрослых и детских специалистов (не известен контакт!); -нет изоляции контактных; -плохая работа в очаге; -несовершенство правовой базы (ФЗ№77, СК РФ№56, №77, №125 -низкий уровень санаторной службы

Диагностические

низкая информативность туберкулино-диагностики (не направляется на обследование в ПТД!)

-рост распространенных, осложненных и хронических форм; -выявление в 58% на фазах обратного развития

Национальной Ассоциации ФТИЗИАТРОВ

Трудности диагностики и трактовки изменений

Диагностика по пробе Манту 2ТЕ и «косвенным признакам» стандартного комплекса рентгенологического обследования

- Гипер и гиподиагностика специфических изменений по результатам стандартного комплекса рентгенологического обследования

Направление на МСКТ после проведения неоднократных курсов химиопрофилактики

Выявление на фазе уплотнения и кальцинации, хроническое течение, распространенные о осложненные формы

Создание депо инфекции в будущем

II Конгресс Национальной Ассоциации Фтизиатров

Квантифероновый тест

США
Исследование в 50 странах мира с 2001 по 2005гг более 3000 человек

Информативность теста:
Чувствительность –70-80%
Специфичность- 80-90%
(T Meier, 2005; N. Harada et al, 2008; LV Adams et al, 2008; R. Palazzo et al, 2008; B. Kampmann et al. (2009)

С 2005 года QuantiFERON-TB Gold test (QFT-G) (КФ-тест) рекомендован к использованию в США (Updated Guidelines for Using Interferon Gamma Release Assays to Detect *Mycobacterium tuberculosis* Infection — United States, 2010).

Россия
Васильева Е.В., 2013г. (СПб)

N=321 пациенты с туберкулезом легких в 86% случаев с бактериовыделением

n=366 здоровые доноры (группа контроля)

Информативность теста:

Чувствительность - 60-70%
Специфичность - 81-86%

II Конгресс Национальной Ассоциации ФТИЗИАТРОВ

DIASKINTEST® (С 2009Г.)

Проведено исследование в 6 регионах РФ

- аллерген туберкулезный рекомбинантный основан на реакции гиперчувствительности замедленного типа к аллергену, представляющему собой два белка, соединенных вместе (ESAT6/CFP10),синтез которых кодируется в уникальной (отличной от других микобактерий) части генома m. Tuberculosis.

M. tuberculosis
M. kansasii
M. szulgai
M. marinum

Национальной Ассоциации Фтизиатров
Конгресс

Разработка новых методов

Иммунологические методы

Российский опыт in vivo

Введение внутрикожно двух белков, соединенных вместе ESAT6/CFP10

Новый кожный тест Диаскинтест **(2009, РФ)**

Международный опыт in vitro

Стимуляция Антигенным комплексом микобактерий А60

определение специфических АТ (IgA, IgG, IgM)

иммуноферментный метод anda-tb ELISA (Франция, 2009)

ESAT-6 и CFP-10 антигенов

Стимуляция Т-клеток

T- Spot Тест (2001) Австралия

ESAT-6, CFP-10, RD11 антигенов

Стимуляция INF-γ

Quanti FERON-TB Gold (2005) (США)

ESAT-6, CFP-10 антигенов

Стимуляция Комплекса IL (IL-6,10)

Иммуно-Ферментый метод IP-10 (IBL, 2010) (Германия)

II Конгресс Национальной Ассоциации Фтизиатров

ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНАЯ ДИАГНОСТИКА ПОСТВАКЦИННОЙ И ИНФЕКЦИОННОЙ АЛЛЕРГИИ

Диаскинтест (Корнева Н.В., 2011) → **Чувствительность – 89% Специфичность -100%**

Обследование детей из детских садов г.Калининграда n=664 (1 до 7 лет) (Довгалюк И.Ф., Зубарева С.В., 2011)

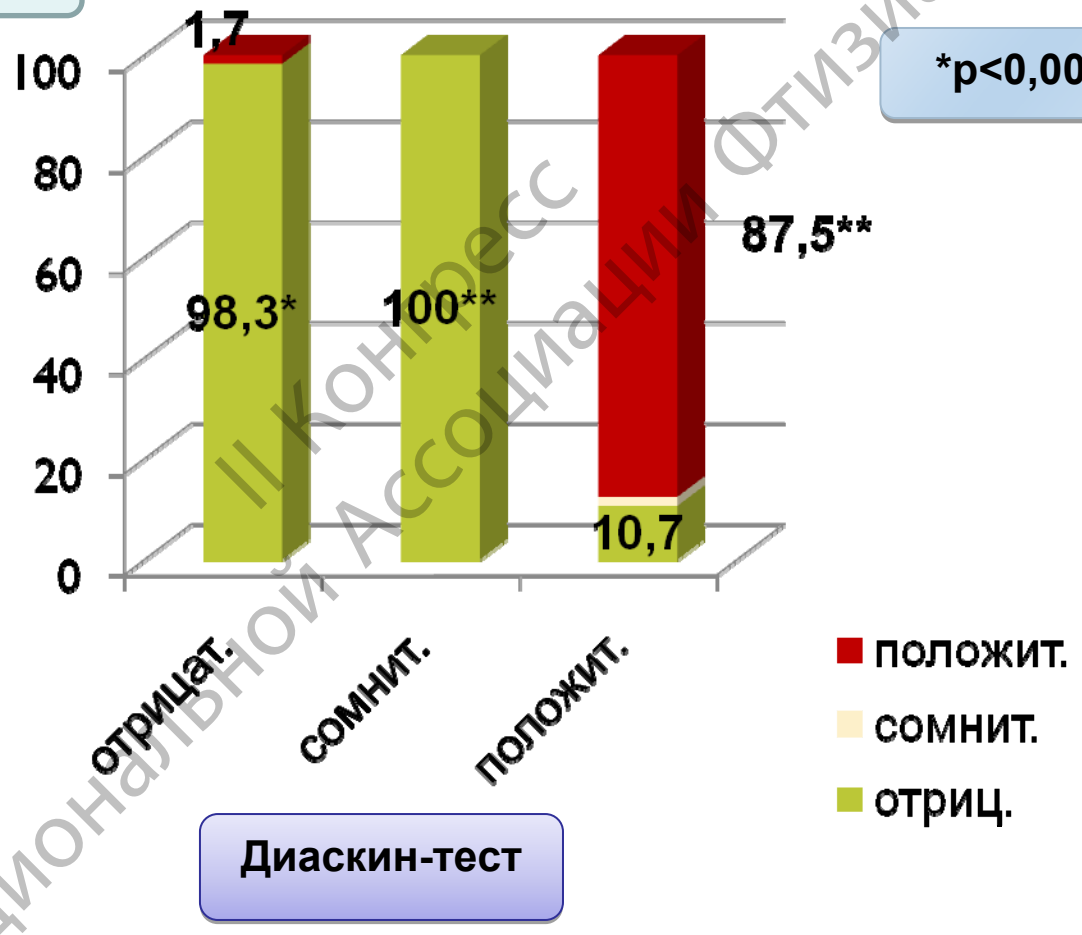
→ **Низкая чувствительность по п. Манту 2ТЕ 67,6% (449)** → **Положительный ДСТ 9,2% (11)**

→ **Средняя чувствительность по п. Манту 2ТЕ 30,8% (204)** → **Положительный ДСТ 19,1% (39)**

II Конгресс Национальной Ассоциации фтизиатров

Результаты Квантиферонового теста (КФ) у детей с различными показателями Диаскинтеста

КФ-тест



*p<0,001

Диаскин-тест

КФ в 95% случаев подтверждает результаты ДСТ

Национальной Ассоциации Фтизиатров III Конгресс

Методы диагностики туберкулеза детей

Эпидемические
(профилактические осмотры и работа в очаге)

Клинические
(*оценка интоксикационного синдрома)*

Бактериологические (Bactec),
молекулярно-генетические (Real Time PCR, Gene Xpert)
иммунологические (Диаскинтест®, Квантифероновый тест, Anda-tb, IP-10)

Рентгенологические
(обзорная рентгенограмма, МСКТ и КТ-ангиография)

II Конгресс Национальной Ассоциации Фтизиатров

Трудности диагностики туберкулеза детей (СПбНИИФ, 2009-2012)

Интоксикационный синдром	→	39,2% выраженные проявления
Проба Манту 2ТЕ	→	45% средняя чувствительность к туберкулину
Бактериологические и молекулярно-генетические	→	12% положительной ПЦР 2,5% положительный посев на МБТ
Новые иммунологические (Диаскинтест®, Квантифероновый тест	→	80% больных детей имеют положительный результат тестов
Рентгенологические методы (МСКТ и КТ-ангиография)	→	?

II Конгресс Национальной Ассоциации ФТИЗИАТРОВ

Структура диагностического комплекса

- ***Определение активности туберкулезной инфекции***

- ***Рентгенологический комплекс***

-Клинические
-Иммунологические
(биопробы (п.Манту 2ТЕ, Диаскинтест), квантифероновый тест (КФ), комплекс серологических реакции)

-обзорная ренгенограмма;
-линейные томограммы;
-многосрезовая компьютерная томография и компьютерная ангиография (МСКТ и КТ-ангиография)

II Конгресс Национальной Ассоциации Фтизиатров

Параметры диагностической значимости иммунологических тестов

Параметры (%)	ТТ	Diaskin-test	QTF-test	Ig G	Ig M
Чувствительность (ДЧ)	91,5	84,3	78,4	14,2	40,3
Специфичность (ДС)	15,7	59,1	68,2	96,7	52,5
Диагностическая значимость(ДЗ)	53,6	71,7	73,3	55,5	46,4
Протективная значимость отрицательного результата (ПЗОТ)	45,8	82,7	85,1	90,5	65,9
Протективная значимость положительного результата (ПЗПР)	74,4	61,9	57,7	33,9	28,6

II Конгресс Национальной Ассоциации фтизиатров

Определение активности туберкулезной инфекции (СПбНИИФ, 2010-2012)

Положительная п.Манту 2ТЕ

Отрицательный ДИАСКИНТЕСТ®

Положительный ДИАСКИНТЕСТ®

При наличии противопоказаний - Квантифероновый тест

1-4 лет

5 -14 лет

Комплексное обследование с включением лучевых методов

Наблюдению в ПТД не подлежит

Обзорная рентгенограмма

Изменения ЕСТЬ!

Изменений НЕТ!

Изменений НЕТ!

Изменения ЕСТЬ!

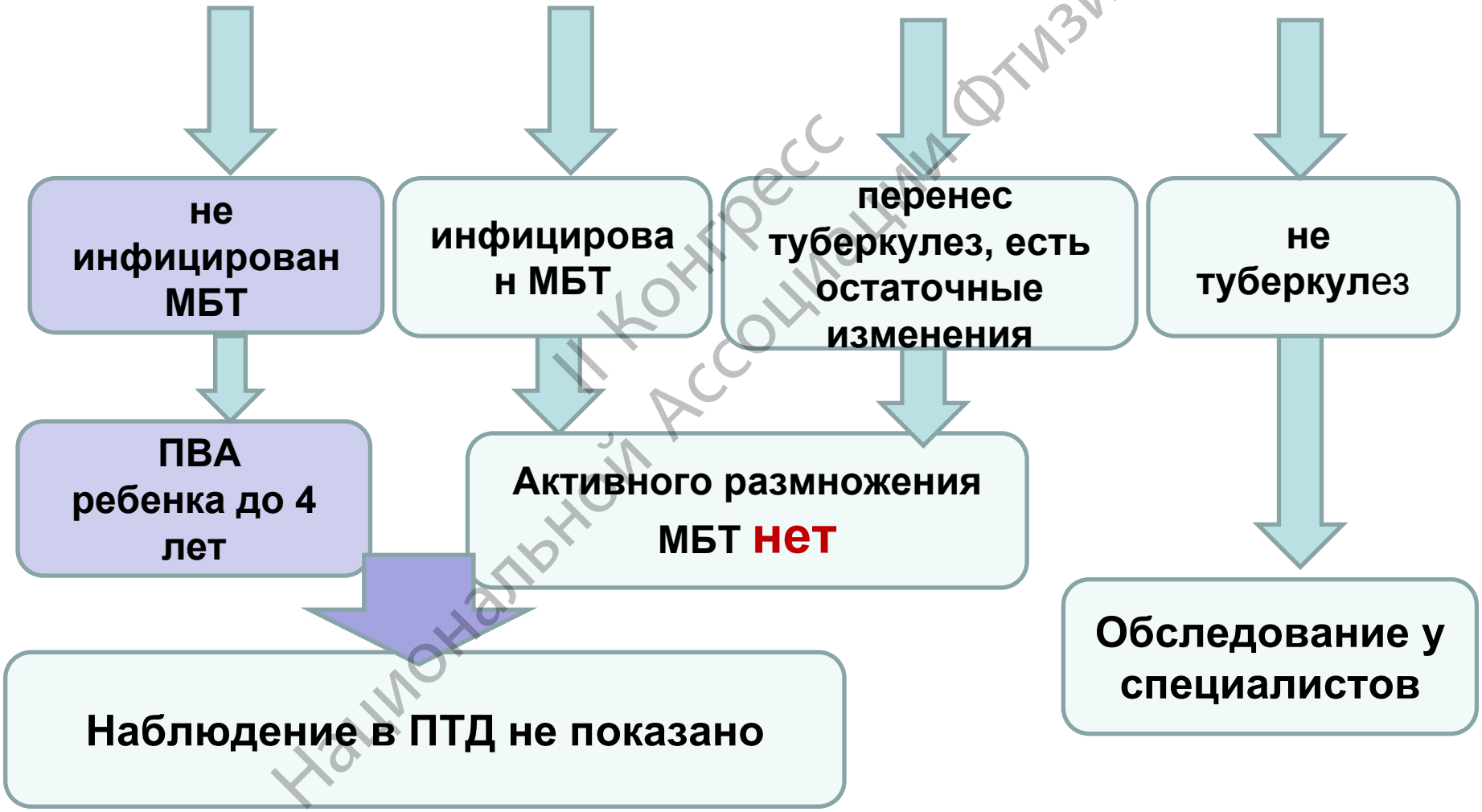
Наблюдение по «0» группе диспансерного учета

Превентивный курс терапии

Адекватный курс терапии

II Конгресс Национальной Ассоциации фтизиатров

ТРАКТОВКА СОСТОЯНИЯ И ВЕДЕНИЕ РЕБЕНКА С УЧЕТОМ ОТРИЦАТЕЛЬНОГО РЕЗУЛЬТАТА ДИАСКИНТЕСТА (КВАНТИФЕРОНОВОГО ТЕСТА)



II Конгресс Национальной Ассоциации Фтизиатров

ТРАКТОВКА СОСТОЯНИЯ И ВЕДЕНИЕ РЕБЕНКА С УЧЕТОМ ПОЛОЖИТЕЛЬНОГО РЕЗУЛЬТАТА ДИАСКИНТЕСТА (КВАНТИФЕРОНОВОГО ТЕСТА)

I Конгресс Национальной Ассоциации фтизиатров

Клинический пример №1.

Ребенок П.С., 5 лет, вакцинирована БЦЖ эффективно

- Выявлена в 2009 г. по нарастанию чувствительности к туберкулину до гиперпробы (2006 г – р 13 мм, 2007 г – р 15 мм, 2008 г – р 16 мм, 2009 – р 15 мм, булла). Контакт не установлен. В анамнезе – атопический дерматит (пищевая сенсибилизация) ГКП р 6v, р 5v р3v, р 2v RM V - p 14, RM VI- p13 , **ДСТ-отрицательный, КФ- отрицательный**
- МСКТ – в легких без очаговых и инфильтративных изменений, **данных за увеличение внутригрудных лимфатических узлов не получено**

п. Манту 2 ТЕ-гиперпроба

ДИАСКИНТЕСТ отрицательный

II Конгресс Национальной Ассоциации фтизиатров

Клинический пример №2

Ребенок П.М., 3 года 6 мес.

- В ПТД наблюдается с 2007 г., семейный контакт с больным туберкулезом отцом (Ds: Диссеминированный туберкулез в фазе распада и обсеменения. МБТ(+) МЛУ); Вакцинирована БЦЖ-1 при рождении, эффективно; курс ХП получила дважды (фтивазид) в 2007,2008 гг. Динамика RM 2 ТЕ : 2008 – р 6 мм, 2009 – р 18 мм,v;
- Симптомы интоксикации – умеренно выражены
- ГКП р 7 L, р 2, р2, р1; **ДСТ- р20мм, КФ - положительный**
- МСКТ и МСКТ-ангиография – увеличение размеров ВГЛУ более 1,0см паратрахеальной, бифуркационной, бронхопульмональной групп.

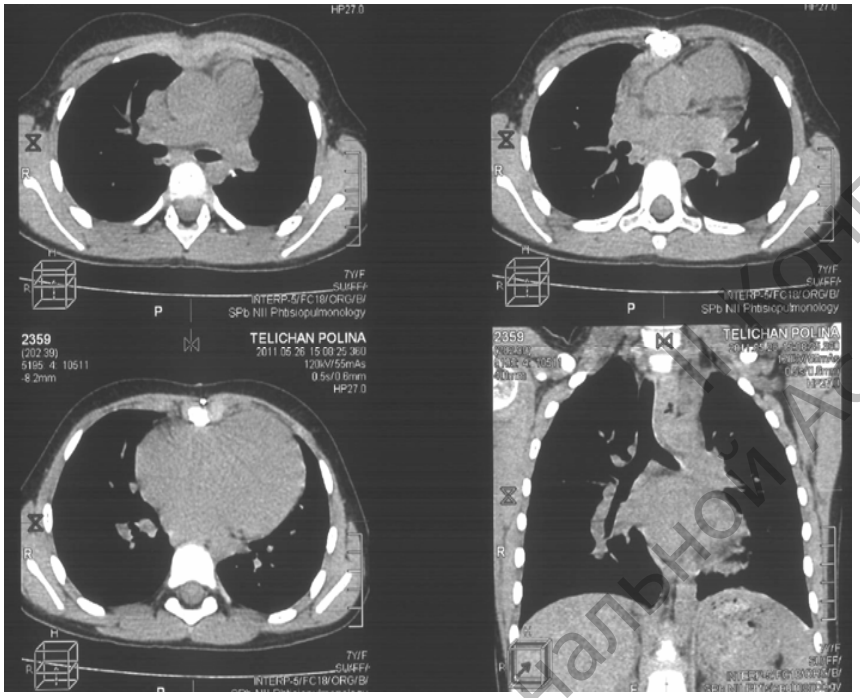
п. Манту 2 ТЕ- р18

ДИАСКИН-тест -р20

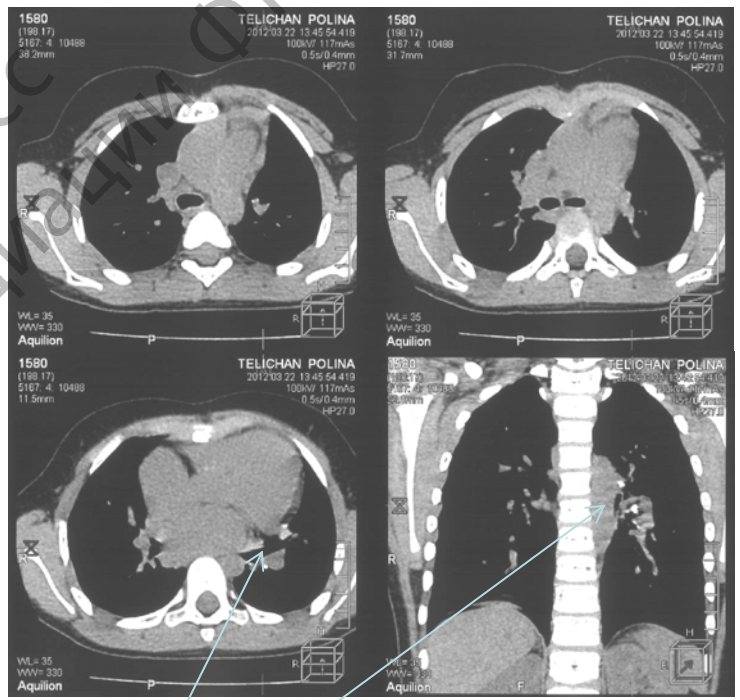
III Конгресс Национальной Ассоциации Фтизиатров

КЛИНИЧЕСКИЙ ПРИМЕР №3

РЕБЕНОК Т.(9Л.) ВЫЯВЛЕНА ПО НАРАСТАНИЮ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ К ТУБЕРКУЛИНУ. МАТЬ ПЕРЕНЕСЛА ТУБЕРКУЛЕЗ 5 ЛЕТ НАЗАД. НАПРАВЛЕНА НА МСКТ ПО РЕЗУЛЬТАТАМ ДИАСКИН-ТЕСТА (Р.- 22ММ), ХП –ПРОВОДИЛАСЬ 2 ГОДА (2009, 2010), ПОСЛЕ ПРОВЕДЕНИЯ МСКТ ХП НАЗНАЧЕНА, НО МАТЬ ОТКАЗАЛАСЬ.



МСКТ№1. (АПРЕЛЬ 2012)

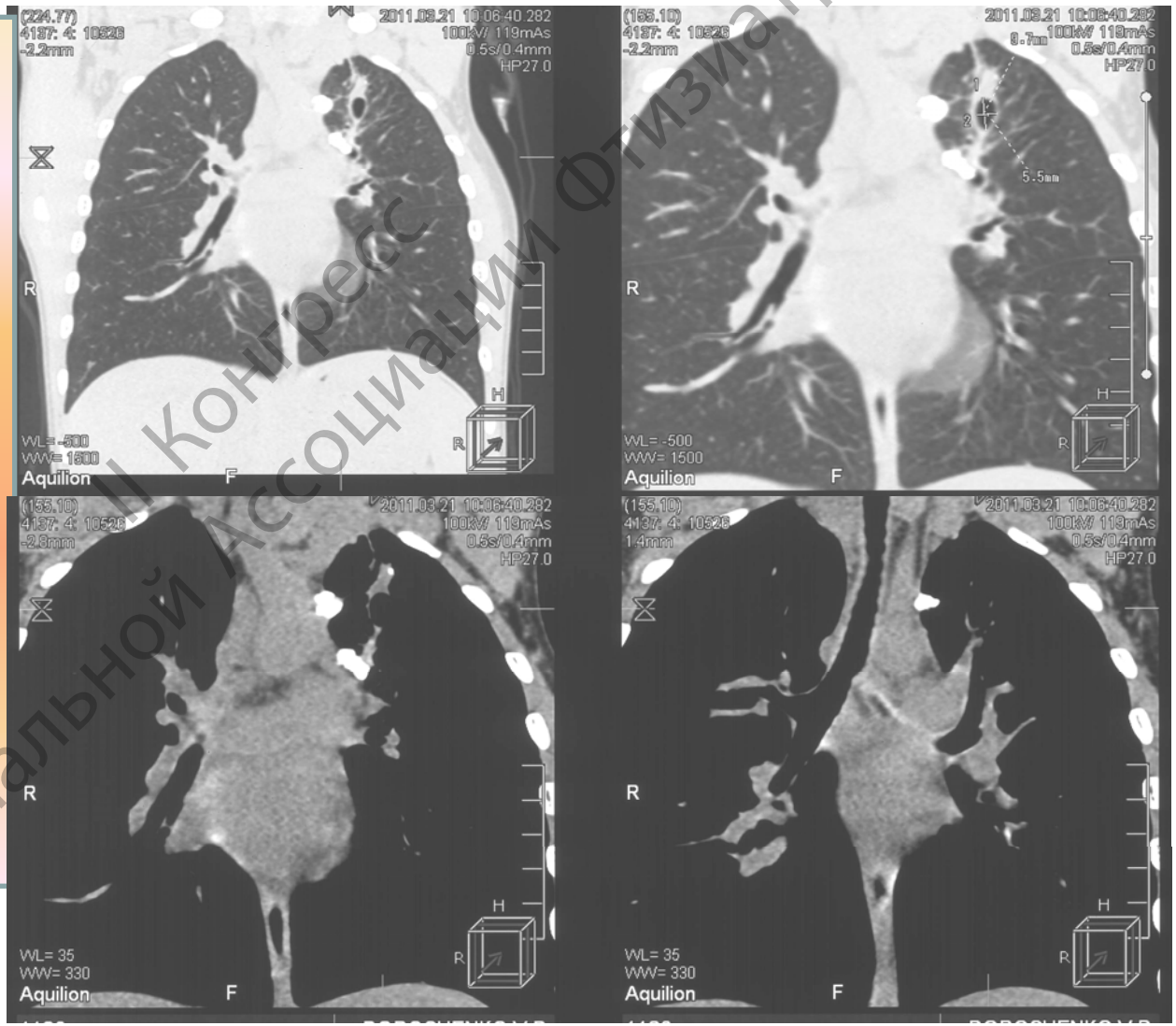


МСКТ№2. (АВГУСТ 2012)

Национальной Ассоциации фтизиатров 17 Конгресс

КЛИНИЧЕСКИЙ ПРИМЕР №4

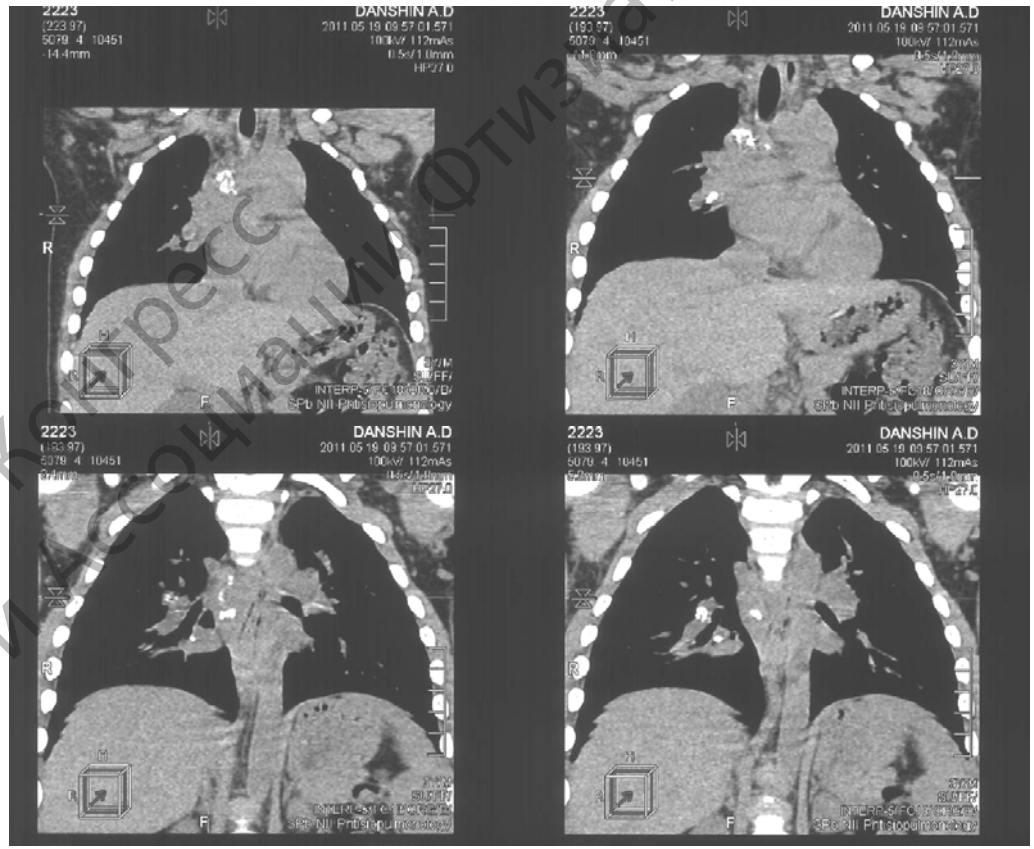
**Ребенок,5лет
из длительного
семейного контакта с
матерью и отцом
(МБТ(+), МЛУ), двойной
очаг смерти.
п.Манту 2ТЕ- отр.(2008),
2 курса ХП (Н)
ДСТ(2011)-р18;
КФ- положит.;
Серология -3
полож.реак.;
ПЦР (+), Bactec MGIT
960 (+) смыв при ФБС
на МБТ**



II Конгресс Национальной Ассоциации Фтизиатров

КЛИНИЧЕСКИЙ ПРИМЕР №5

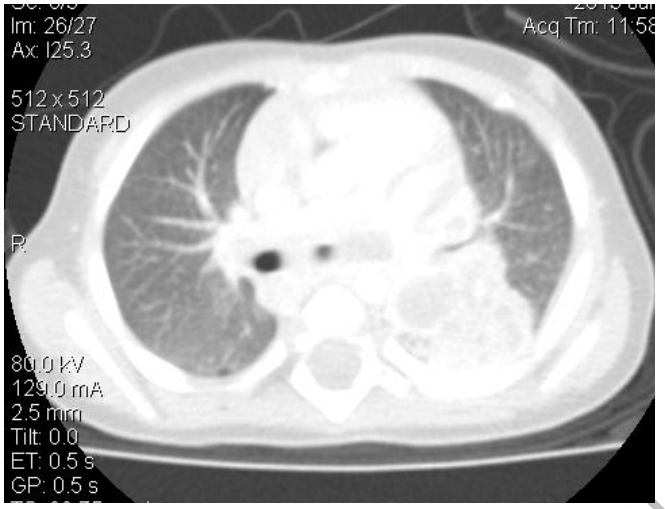
Ребенок,4 года из семейного контакта с матерью, которая переносит внелегочный туберкулез
п. Манту 2ТЕ 08-отр, 09-отр., 10- пропуск, **2011-р18мм, ДСТ-р17мм, КФ- положит.; Серология -3 полож. реак.;**
МСКТ- множественные кальцинаты в паратрахеальной, бифуркационная, бронхопульмональной групп.

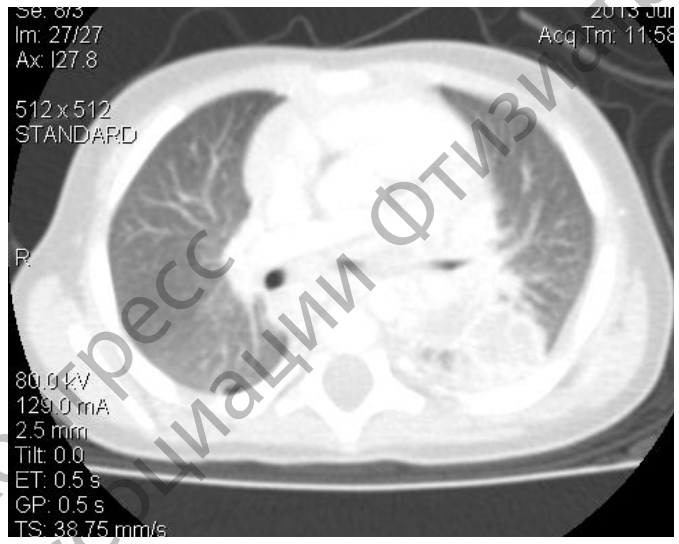


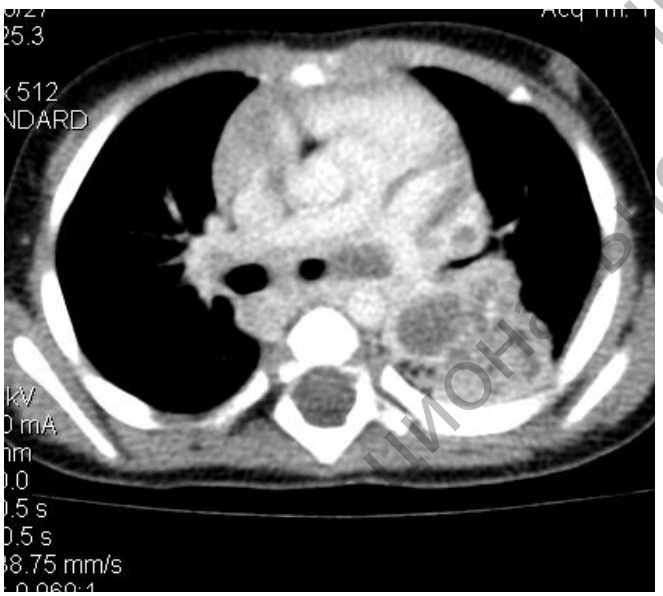
II Конгресс Национальной Ассоциации ФТИЗИАТРОВ

КЛИНИЧЕСКИЙ ПРИМЕР №6

РЕБЕНОК Т.(11 МЕС.) ВЫЯВЛЕНА СЛУЧАЙНО ПРИ ПРОФИЛАКТИЧЕСКОМ ОБСЛЕДОВАНИИ.



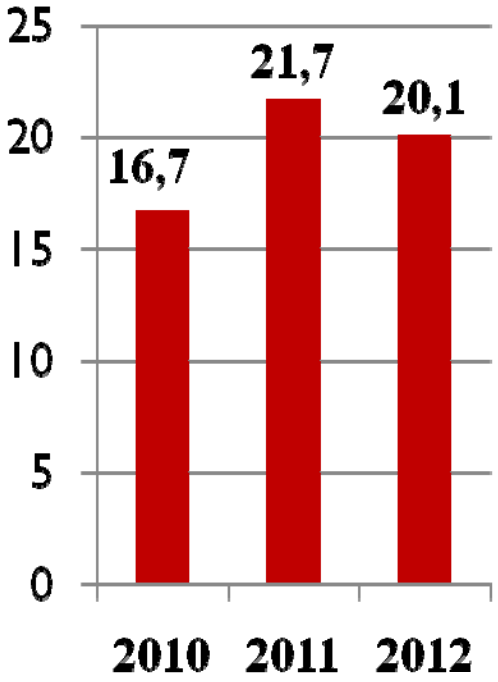




Национальный Конгресс с международным участием Ассоциации ФТИЗИАТРОВ

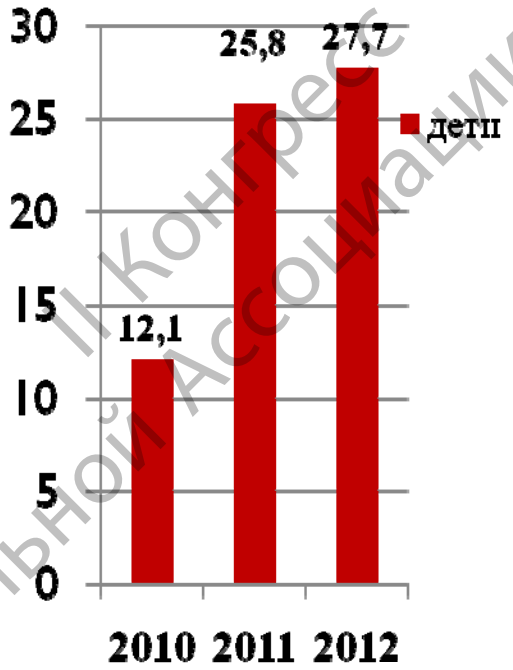
Заболеваемость туберкулезом детей на 100 тыс. детского населения после начала применения Диаскинтеста и МСКТ

Санкт-Петербург



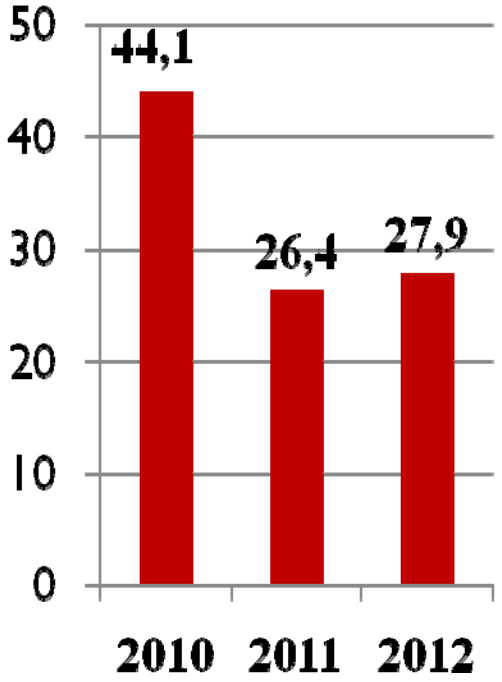
Захарова О.П., 2013

Москва



Овсянкина Е.С., 2012, Богородская Е.М., 2013

Калининград

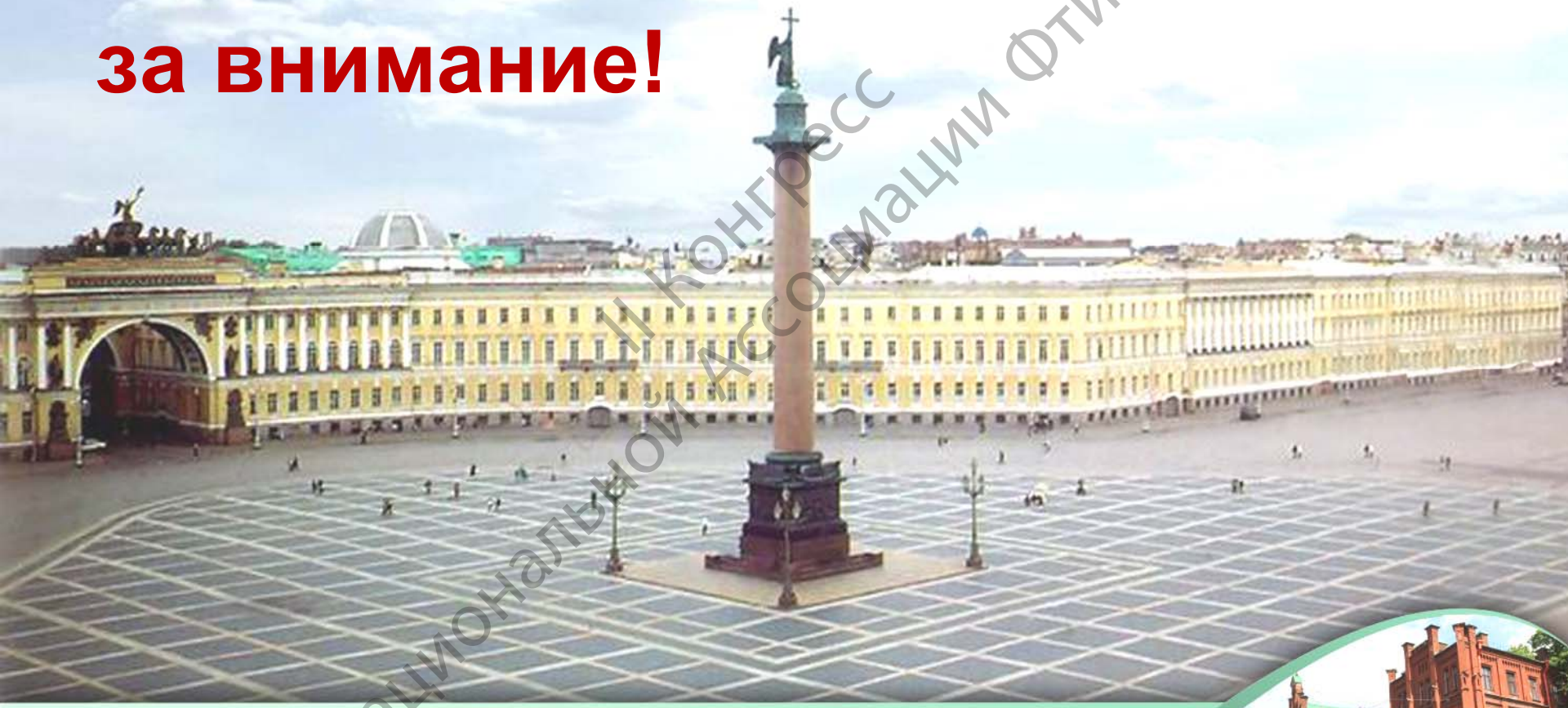


Зубарева С.В., 2013

II Конгресс Национальной Ассоциации Фтизиатров

НАЦИОНАЛЬНАЯ
АССОЦИАЦИЯ
ФТИЗИАТРОВ

Благодарю за внимание!



II Конгресс Национальной Ассоциации Фтизиатров

Довгалюк И.Ф., Старшинова А.А.