

# Не туберкулезные микобактерии

# Существуют следующие пробы на основе туберкулина:

- накожные (перкутанные) — Пирке, Моро, градуированная проба Гринчара — Карпиловского,
- внутрикожные, подкожные, уколочная проба Гиффа.
- Наиболее широко применяются внутрикожная проба Манту и накожная градуированная проба Гринчара — Карпиловского или градуированная скарификационная проба в модификации Н. А. Шмелева (1952).

Проба Манту – 200-2000р.

# Иммунологические методы

## *T-spot test (с 2001г.)*

- диагностический тест, основанный на стимуляции Т-клеток белками **ESAT-6 и CFP-10** *M. tuberculosis* на продукцию **INF-γ**, Этих АГ нет во всех штаммах БЦЖ и большинства не туберкулезных бактерий, кроме *M. kansasii*, *M. szulgai* и *M. marinum*.

## *QuantiFERON-TB Gold (с 2005г.)* (Квантифероновый тест)

- основан на количественном определении интерферона **INF-γ**, высвобождаемого сенсibilизированными Т-клетками, стимулированными *in vitro* специфическими АГ (**ESAT-6, CFP-10, RD11**) *M. tuberculosis*
- Введен в обязательный комплекс фтизиатрического обследования в 78 странах мира

## *Аналог туберкулиновой пробы*

### *Diaskintest® (с 2009г.)*

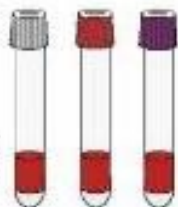
- аллерген туберкулезный рекомбинантный основан на реакции гиперчувствительности замедленного типа к аллергену (аналог р. Манту), представляющему собой два белка, соединенных вместе (**ESAT6/CFP10**), синтез которых кодируется в уникальной (отличной от других микобактерий) части генома *M. tuberculosis*.

## Квантифероновый тест (2000-3500р.)

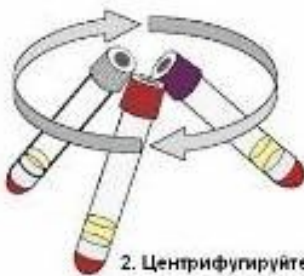
В настоящее время квантифероновый тест внесен в национальные рекомендации 17 крупнейших стран мира.

Метод основан на определении интерферона IFN- $\gamma$  (цитокин ФНО- $\gamma$ ), высвобождаемого сенсibilизированными Т-клетками, стимулированными *in vitro* специфическими антигенами *M.tuberculosis*.

# Квантифероновый тест (ИФА)



1. Соберите 1 мл крови в пробирки Nil, Antigen и Mitogen. Хорошо перемешайте. Инкубируйте пробирки при 37°C в течение 16-24 часов.



2. Центрифугируйте пробирки в течение 15 минут.



Собранная плазма стабильна при хранении в холодильнике по крайней мере в течение 4 недель.



3. Внесите конъюгат, образцы плазмы и стандарты в микропланшет по протоколу иммуноферментного анализа. Инкубируйте 120 минут при комнатной температуре.



4. Промойте и внесите субстрат. Считайте оптическую плотность через 30 минут.



5. Рассчитайте результаты с помощью программного обеспечения и распечатайте результат.

- У неинфицированных или прошедших БЦЖ-вакцинацию ответ будет отрицательным.
- Тест лишен недостатков кожных тестов (реакция Манту) и превосходит их по чувствительности (89% против 76%) и специфичности (99,2% против 65,9%).
- У пациентов с ВИЧ-инфекцией квантифероновый тест также отличается более высокой чувствительностью (77-85%) по сравнению с кожными пробами (15-46%).

# **Использование квантиферонового теста рекомендуется для:**

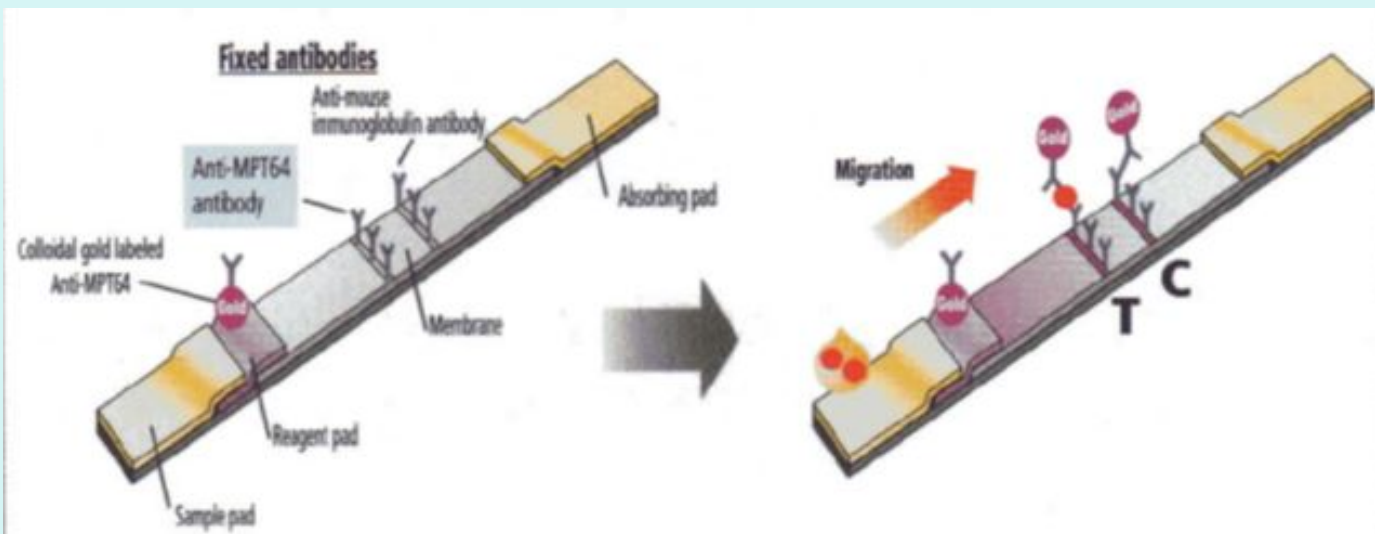
- диагностики латентной туберкулезной инфекции, особенно у детей и лиц со сниженным иммунитетом (при которых реакция Манту, как правило, отрицательная);
- подтверждения сомнительных результатов кожных тестов, т.к. он в 6 раз точнее реакции Манту;
- диагностики туберкулеза у ВИЧ-инфицированных больных;
- отбора пациентов на иммуносупрессивную терапию (обязателен перед назначением антицитокиновых препаратов (инфликсимаб и ремикеид, этанерцепт, адалимумаб));
- диагностики активного туберкулеза, в том числе внелегочного (но только в совокупности с рентгенологическим и другими клиническими и лабораторными исследованиями).

# ДИАСКИНТЕСТ (2000-5000р.)

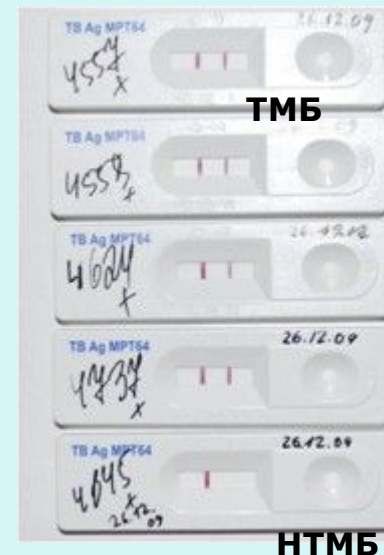
- У лиц **на ранних стадиях туберкулезного процесса**, у больных с тяжелым течением туберкулеза, а также с сопутствующими заболеваниями (СПИД, вирусные гепатиты и др.) реакция на пробу с препаратом ДИАСКИНТЕСТ® может быть отрицательной.
- В отличие от реакции замедленного типа, кожные проявления неспецифической аллергии (в основном гиперемия) на препарат, как правило, наблюдаются сразу после постановки пробы и через 48-72 ч обычно исчезают.



# Микро-иммунохроматографический тест



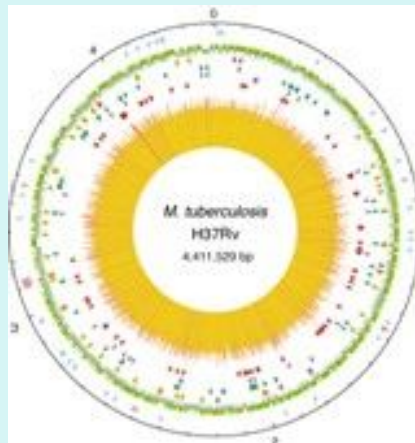
Результат:



- Конъюгат: конъюгат коллоидного золота и мышинных моноклональных антител к MPT64 ( $0,24 \pm 0,048$  мкг);
- Тестовая полоса (Т): мышинные моноклональные антитела к MPT64 ( $0,32 \pm 0,064$  мкг)
- Контрольная полоса (С): антитела козы к иммуноглобулинам G мыши ( $0,64 \pm 0,128$  мкг)

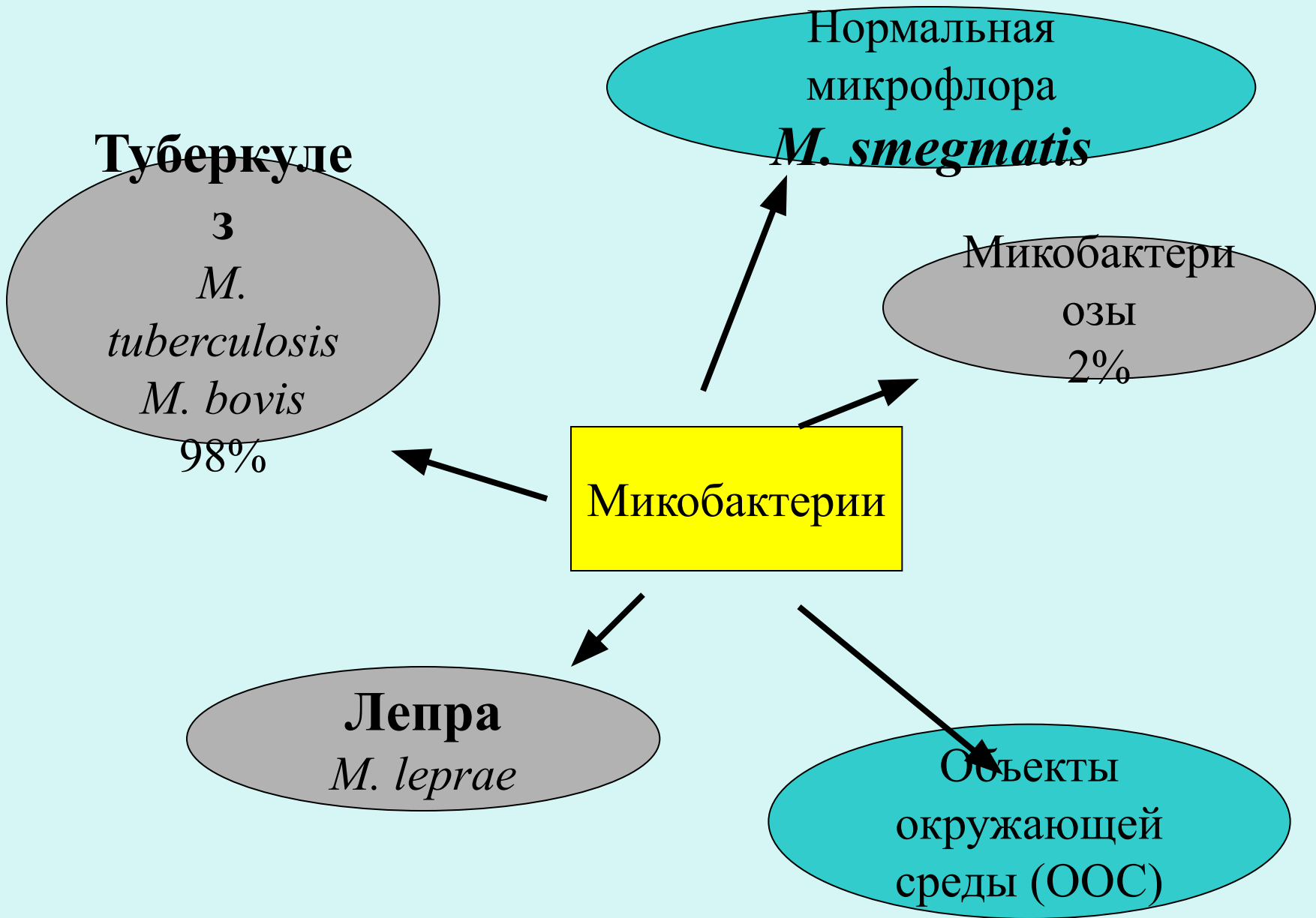
# Фундаментальные исследования МБТ позволили выявить: Белок МРТ64

- Из 33 специфических белков, отличается тем, что секретируется во внешнюю среду, являясь индикатором роста *M.tuberculosis*.
- Белок МРТ64 - преобладающий белок, массой 24 kDa, обладает иммуногенным свойством.
- Предложен как потенциальный кандидат состава вакцины, (распознается Т-лимфоцитами CD4+).



# Иммунитет

- Противотуберкулезный иммунитет формируется в ответ на проникновение в организм микобактерий в процессе инфекции или после вакцинации и носит инфекционный характер, что обусловлено длительной персистенцией L-форм
- Решающая роль принадлежит клеточному иммунитету
- Исход заболевания определяется активностью Т-хелперов, которые активируют фагоцитарную активность макрофагов и активность Т-киллеров



# Нетуберкулезные микобактерии:

<i>M. abscessus</i>	<i>M. conceptionense</i>	<i>M. gilvum</i>	<i>M. moriokaense</i>	<i>M. senegalense</i>
<i>M. agri</i>	<i>M. concordense</i>	<i>M. goodii</i>	<i>M. mucogenicum</i>	<i>M. senuense</i>
<i>M. alvei</i>	<i>M. confluentis</i>	<i>M. hackensackense</i>	<i>M. murale</i>	<i>M. seoulense</i>
<i>M. aichiense</i>	<i>M. conspicuum</i>	<i>M. hassiacum</i>	<i>M. neoaurum</i>	<i>M. septicum</i>
<i>M. angelicum</i>	<i>M. cosmeticum</i>	<i>M. hiberniae</i>	<i>M. neworleansense</i>	<i>M. setense</i>
<i>M. arupense</i>	<i>M. diernhoferi</i>	<i>M. hodleri</i>	<i>M. nonchromogenicum</i>	<i>M. shimoidei</i>
<i>M. asiaticum</i>	<i>M. doricum</i>	<i>M. holsaticum</i>	<i>M. novocastrense</i>	<i>M. simiae</i>
<i>M. aurum</i>	<i>M. duvalii</i>	<i>M. houstonense</i>	<i>M. palustre</i>	<i>M. smegmatis</i>
<i>M. austroafricanum</i>	<i>M. elephantis</i>	<i>M. immunogenum</i>	<i>M. parafortuitum</i>	<i>M. szulgai</i>
<i>M. avium subsp silvaticum</i>	<i>M. fallax</i>	<i>M. interjectum</i>	<i>M. paraseoulense</i>	<i>M. terrae</i>
<i>M. bōnickei</i>	<i>M. florentinum</i>	<i>M. intermedium</i>	<i>M. peregrinum</i>	<i>M. thermoresistibile</i>
<i>M. branderi</i>	<i>M. flouranthenivorans</i>	<i>M. intracellulare</i>	<i>M. petroleophilum</i>	<i>M. tokaiense</i>
<i>M. brisbanense</i>	<i>M. fortuitum</i>	<i>M. kansasii</i>	<i>M. phlei</i>	<i>M. triplex</i>
<i>M. brumae</i>	<i>M. frederiksbergense</i>	<i>M. kubicae</i>	<i>M. phocaicum</i>	<i>M. triviale</i>
<i>M. canariasense</i>	<i>M. fürth</i>	<i>M. kumamotonense</i>	<i>M. porcinum</i>	<i>M. tuberculosis</i>
<i>M. chelonae</i>	<i>M. gadium</i>	<i>M. lacus</i>	<i>M. pulveris</i>	<i>M. tuberculosisH37RV</i>
<i>M. chimaera</i>	<i>M. gallinarum</i>	<i>M. manitobense</i>	<i>M. obuense</i>	<i>M. vaccae</i>
<i>M. chitae</i>	<i>M. gordonae</i>	<i>M. marinum</i>	<i>M. ratisbonense</i>	<i>M. wolinskyi</i>
<i>M. chubuense</i>	<i>M. gordonae</i>	<i>M. massiliense</i>	<i>M. rhodesiae</i>	<i>M. xenopi</i>
<i>M. celatum</i>	<i>M. gastri</i>	<i>M. monacense</i>	<i>M. scrofulaceum</i>	

# Непатогенные микобактерии

Виды микобактерий	Патогенность
<p><b><i>M. phlei</i></b> (трава тимофеевка)</p> <p><b><i>M. terrae</i></b> (земля)</p> <p><b><i>M. goodii</i></b> (<i>M. aqual</i>) (водопроводная вода)</p> <p><b><i>M. triviale</i>, <i>M. phlei</i>, <i>M. flavescens</i>,</b></p> <p><b><i>M. gastri</i></b></p>	<p><b>Не вызывают заболеваний у человека</b></p>

## Условно-патогенные микобактерии:

Виды микобактерий (резервуар)	Заболевания
<i>M. avium-intracellulare</i> (ООС, птицы) (57%)	Микобактериозы легких Лимфадениты (дети от 1,5 до 10 лет)-поражение подчелюстных и околоушных лимфатических узлов. Раневая инфекция, послеоперационные осложнения при трансплантации органов. Диссеминированная инфекции.
<i>M. malmoense</i> (ООС)(24,5%)	
<i>M. xenopi</i> , <i>M. kansasii</i> (ООС)	
<i>M. fortuitum</i> (ООС)	Кожа, почки
<i>M. marinum</i> (вода, рыбы)	Кожные гранулемы

# Группировка микобактерий по степени патогенности для человека (наиболее часто встречающиеся НТМБ в нашем регионе)

Патогенные	<i>M. tuberculosis, M. bovis, M. leprae</i>
Условно патогенные	<b><i>M. avium, M. intracellulare, M. kansasii, M. marinum, M. xenopi, M. fortuitum, M. chelonae</i></b>
Сапрофиты	<i>M. gordonae, M. terrae, M. triviale, M. phlei, M. flavescens, M. gastri</i>



## Условно -патогенные НТМБ

***M. avium, M.intracellulare*** – МАИ, легкие ,  
лимфатические узлы, мускулатура,  
мочеполовая система, кожа, ЖКТ,  
печень, селезенка

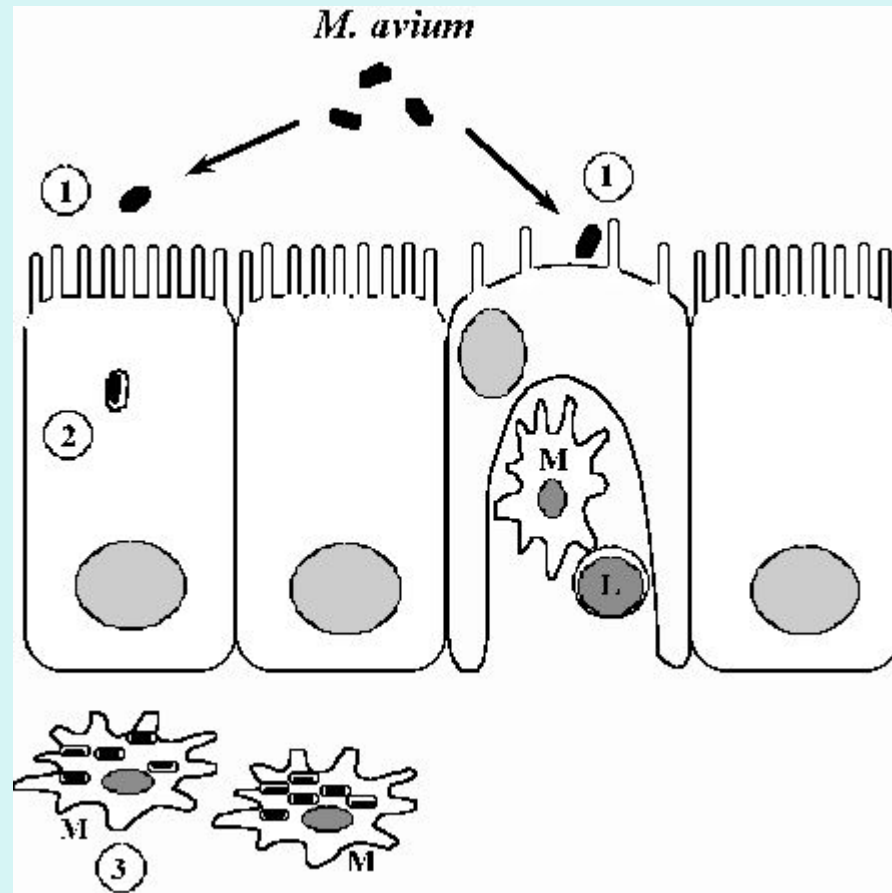
***M. kansasii*** – легкие, кожа

***M. marinum*** – «бассейновая» гранулема

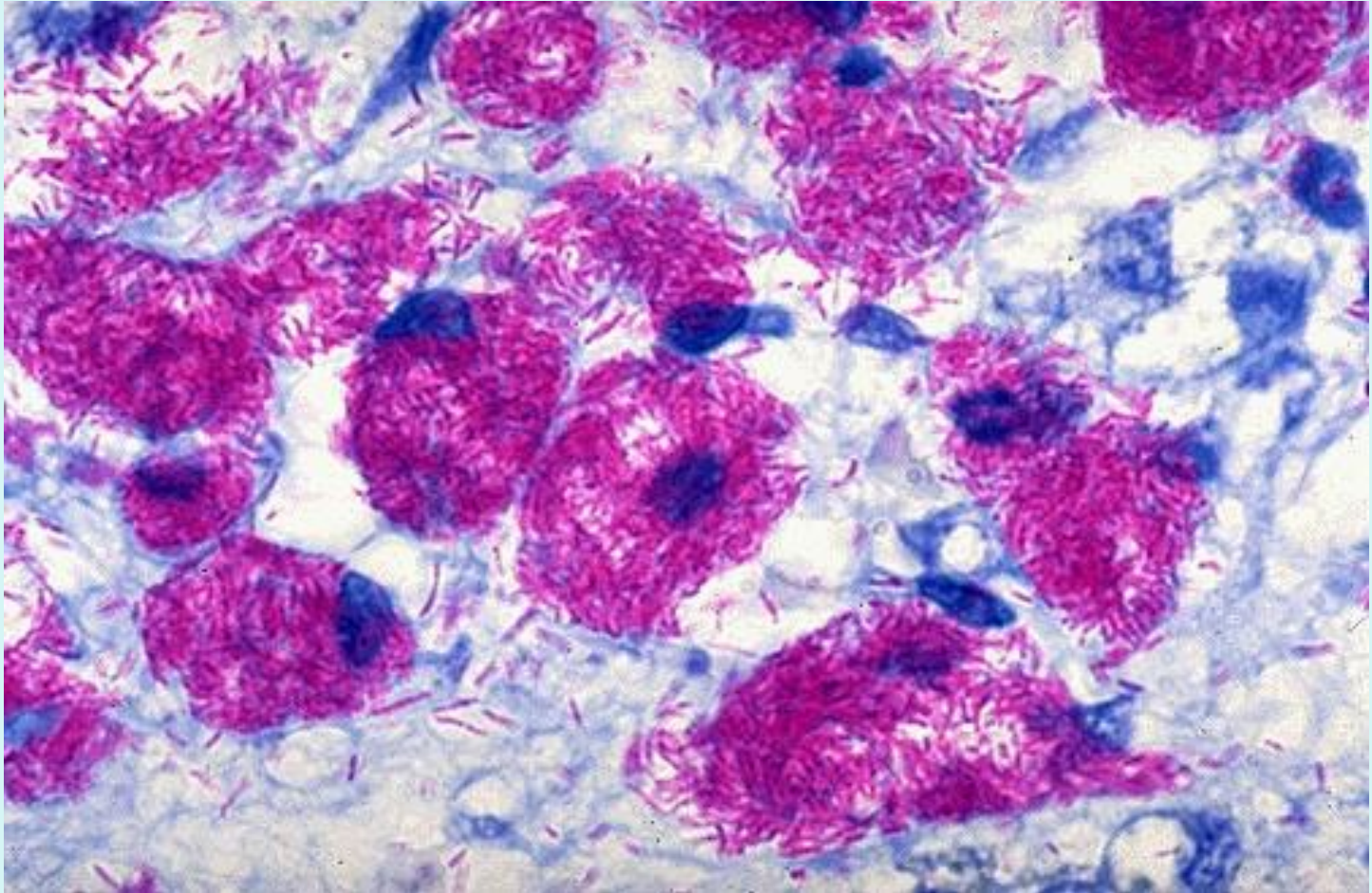
***M. xenopi*** - легкие

***M. fortuitum, M. chelonae*** –  
послеоперационные,  
посттравматические инфекции

# *M. avium*, *M.intracellulare* (MAI)



# *M. avium*, *M. intracellulare*



# *M. avium*, *M. intracellulare*





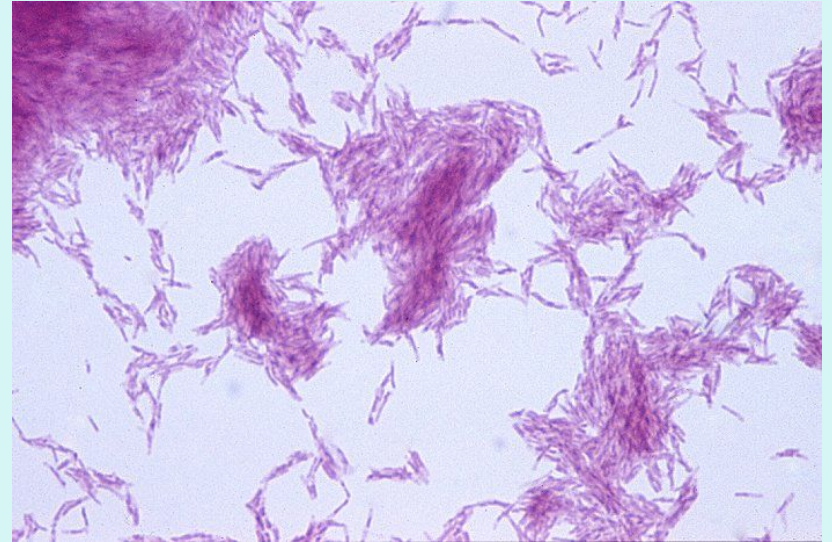
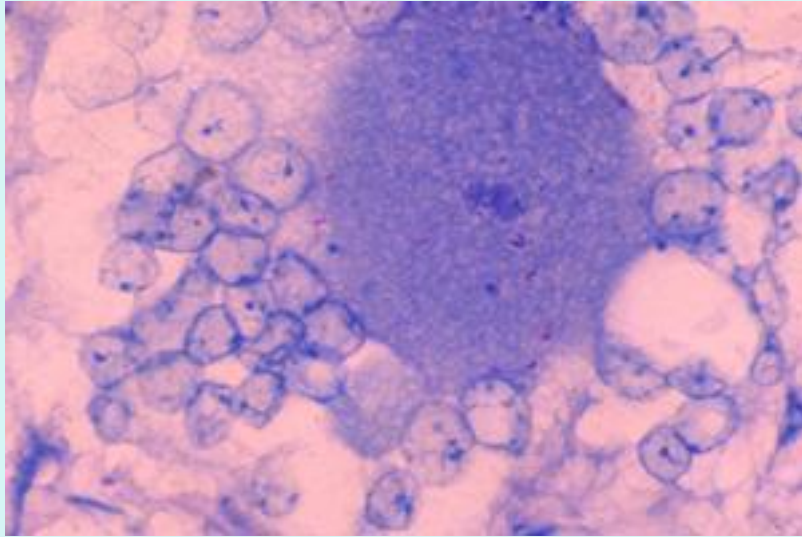
# *M. avium, M.intracellulare*



# *M. kansasii*



# *M. kansasii*



# Язва на руке. *M. kansasii*





# *M. хепорі*



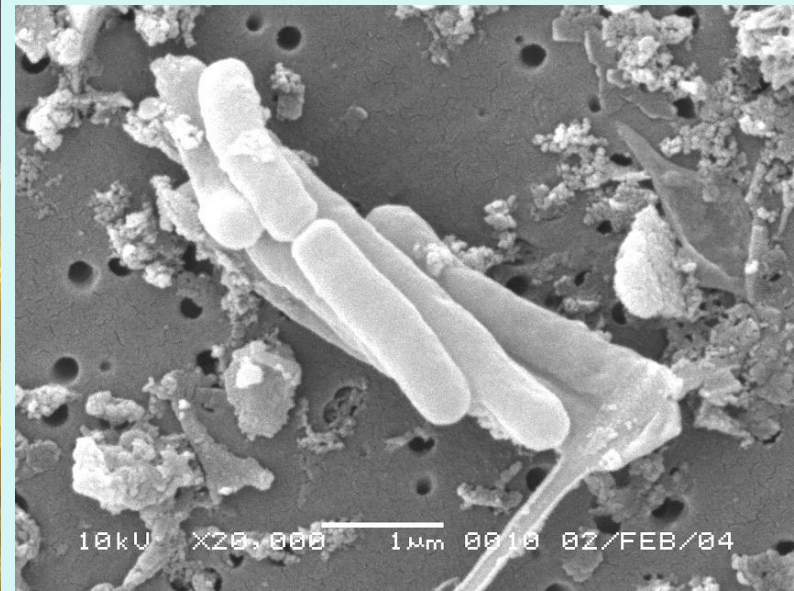
Выделена от шпорцевой лягушки  
(*Xenopus leavis*)



# *M. marinum*



ASM MicrobeLibrary.org © Robison, Moffitt, Thomson and Cohen



# *M. marinum* – «бассейновая» гранулема

Гранулема купальщиков. Красно-фиолетовая бородавчатая бляшка на большом пальце. Больной увлекается разведением экзотических рыб; заболевание возникло после небольшой ссадины





## *M. chelonae*

Флегмона, вызванная *Mycobacterium chelonae*. У этого 40-летнего мужчины, страдающего сахарным диабетом, для коронарного шунтирования был использован фрагмент подкожной вены ноги. Флегмона голени с обширными очагами некроза — результат раневой инфекции, вызванной атипичными микобактериями. Для спасения жизни потребовалась ампутация ноги выше коленного сустава вания казеозных масс. При окрашивании по Цилю—Нильсену внутри микроабсцессов видны кислотоустойчивые палочки.



# *M. chelonae*



Medscape ©

<http://www.medscape.com>



Medscape ©

<http://www.medscape.com>

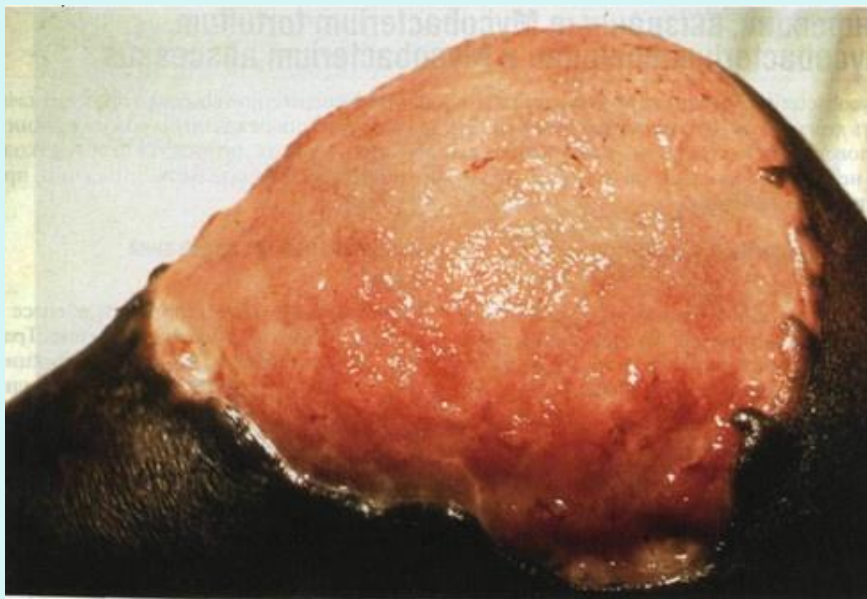
# *M. fortuitum*



A 35-year-old veterinary technician who lived in south central Texas presented with a raised, warm, tender 2- to 3-cm papule on her lower leg of more than 2 weeks' duration.



## Язва Бурули в области колена, вызванная *M. ulcerans*



У этого ребенка из Уганды огромная язва с подрытыми краями распространяется на подкожную клетчатку. Гноя нет.  
(Публикуется с разрешения доктора M. Dittrich)

# Язва Бурули





# Классификация нетуберкулезных микобактерий по Раньону

(скорость роста, способность вырабатывать пигмент и характеристика колоний)

- **Фотохромогенные** — группа 1 по Раньону (способность образовывать желто-оранжевый пигмент на свету)

*M. kansasii* *M. marinum*



- **Скотохромогенные** — группа II по Раньону (способность образовывать оранжево-красный пигмент в темноте)  
*M. gordonae, M. scrofulaceum M. szulgai*
- **Нефотохромогенные** — группа III по Раньону (неспособность образовывать пигмент) *M. avium-intracellulare, M. xenopi, M. ulcerans*



- **Быстро растущие** — группа IV по Раньону (рост в течение 7 дней)  
разные пигменты:  
*M. fortuitum*, *M. chelonae ssp. abscessus*,  
*M. chelonae ssp. chelonae*



## Классификация атипичных микобактерии

Группа I	Фотохромогенные
	<i>Mycobacterium marinum</i> .
	<i>Mycobacterium kansasii</i> .
	<i>Mycobacterium simiae</i>
Группа II	Скотохромогенные
	<i>Mycobacterium scrofulaceum</i> .
	<i>Mycobacterium flavescens</i> .
	<i>Mycobacterium szulgai</i>
Группа III	Нехромогенные
	<i>Mycobacterium ulcerans</i> .
	Комплекс <i>Mycobacterium avium-intracellulare</i> .
	<i>Mycobacterium gastri</i> .
	<i>Mycobacterium terrae</i> .
	<i>Mycobacterium triviale</i> .
	<i>Mycobacterium xenopi</i> .
	<i>Mycobacterium haemophilum</i> .
	<i>Mycobacterium novum</i> .
	<i>Mycobacterium nonchromogenicum</i>
Группа IV	Быстрорастущие
	Комплекс <i>Mycobacterium fortuitum</i> :
	<i>Mycobacterium fortuitum</i> ;
	<i>Mycobacterium chelonae</i> ;
	<i>Mycobacterium abscessus</i> .
	<i>Mycobacterium phlei</i> .
	<i>Mycobacterium vaccae</i> .
	<i>Mycobacterium smegmatis</i>

# Диагностика

- Бактериоскопия
- Культивирование на ППС (скорость роста и пигментация) Среды Левенштейна-Йенсена + салициловая кислота + паранитробензойная кислота – нет роста туберкулезных бактерий!

	<b>Характеристика</b>	<b>Туберкулезные микобактерии</b>	<b>НТМБ</b>
<b>1</b>	<b>Скорость роста (через 7 дней)</b>	<b>-</b>	<b>±</b>
<b>2</b>	<b>Пигментация</b>	<b>-</b>	<b>±</b>
<b>3</b>	<b>Строгие мезофилы</b>	<b>+</b>	<b>-</b>
<b>4</b>	<b>Рост на среде Левенштейна-Йенсена + салициловая кислота</b>	<b>-</b>	<b>+</b>
<b>5</b>	<b>Рост на среде Левенштейна-Йенсена + паранитробензойная кислота</b>	<b>-</b>	<b>+</b>
<b>6</b>	<b>Образование ниоцина (никотиновая к-та)</b>	<b>+</b>	<b>-</b>
<b>7</b>	<b>Восстановление нитратов</b>	<b>+</b>	<b>-</b>

# Лечение

- эритромицин, доксициклин, миноциклин, ципрофлоксацин, офлоксацин, имипенем, сульфаниламиды и рифабутин

# Лечение

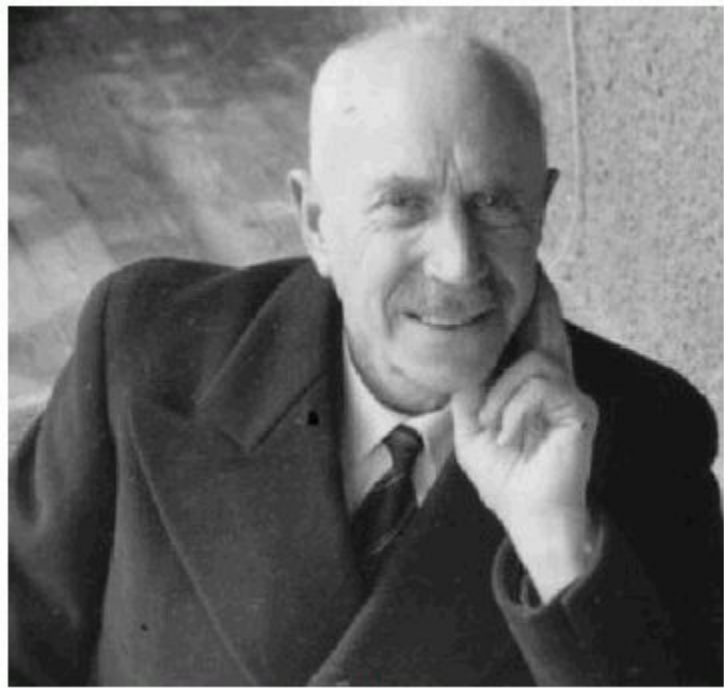
- **У больных с ВИЧ- и МАИ-инфекцией** по схеме:этамбутол, рифампицин, рифабутин, ципрофлоксацин, клофазимин, стрептомицин, амикацин. Эффективны новые макролиды: кларитромицин и азитромицин.



# Особенности роста различных *Micobacterium spp.*

<b>Медленно- растущие 7-40 дней</b>	<b>Быстро- растущие (до 7 дней)</b>	<b>Не растут в культуре</b>
<i>M. tuberculosis</i> <i>M. africanum</i> <i>M. bovis</i> <i>M. avium- intracellulare</i> <i>M. ulcerans</i> <i>M. marinum</i> <i>M. kansasii</i> <i>M. xenopi</i>	<i>M. fortuitum</i> <i>M. paratuberculosis</i> <i>M. chelonae</i>	<i>M. leprae</i> <i>M. lepraemurium</i>

Charles Mantoux (1877 - 1947)



*Charles Mantoux.*



Клеменс Пирке (1874-1929 гг.) - австрийский педиатр. В 1907 году разработал кожную пробу для диагностики туберкулеза (реакция Пирке).



Градуированная Пирке

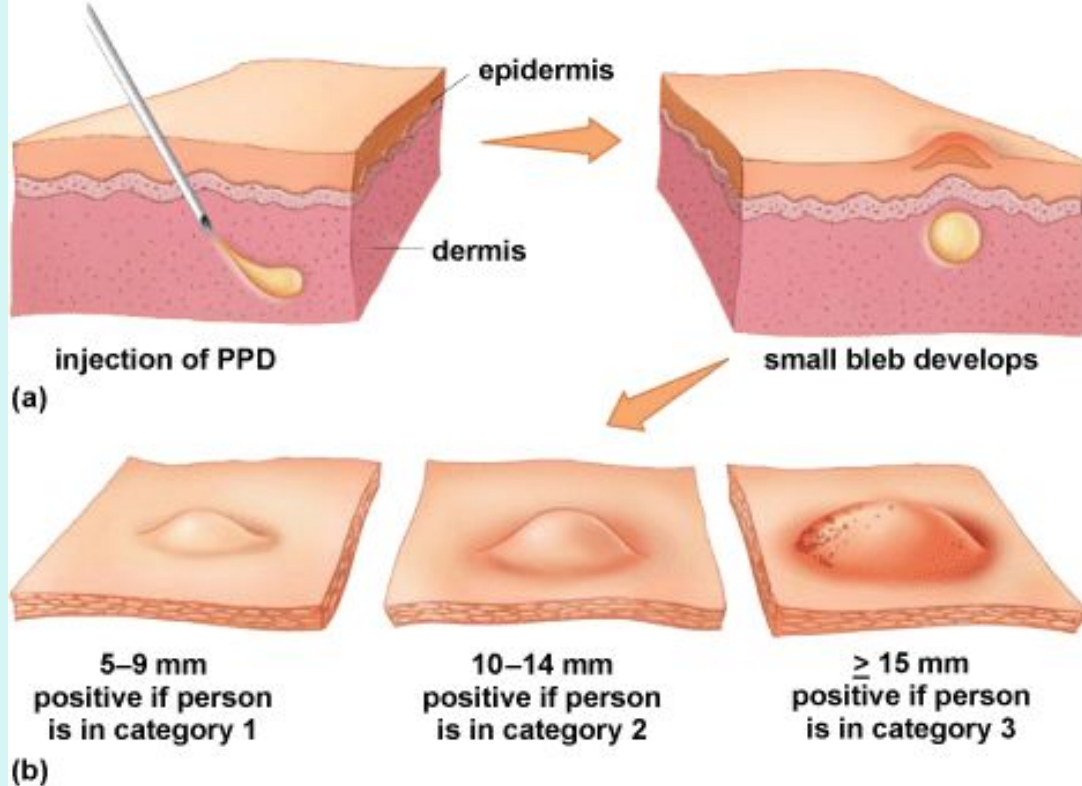


Fig. 2 Skin testing for tuberculosis, using the Mantoux test. (a) Tuberculin PPD is injected into the dermis. A small bleb develops, but is absorbed within a short time. (b) After 48 to 72 hours, the skin reaction is read and given a rating based on the size of the raised area. A reaction of less than 5 mm is negative in all patients. Category 1 includes, for example, individuals who have had contact with actively infected TB patients and HIV-positive patients; category 2 includes HIV-negative intravenous drug users, persons with medical conditions that put them at risk for progressing from latent TB to active TB, and children who have contact with members of high-risk adult populations; category 3 includes individuals who do not meet criteria in the other categories. (Courtesy of M. K. Cowan and K. P. Talaro, *Microbiology: A Systems Approach*, 2d ed., McGraw-Hill, New York, 2008; and John D. Cunningham/Visuals Unlimited)

### Внутрикожная проба Манту

Техника введения туберкулина



Проверка реакции



### Виды реакций на пробу Манту

Отрицательная реакция  
(папула 0–1 мм)



Сомнительная реакция  
(папула 2–4 мм  
или гиперемия любого размера)



Положительная реакция  
(папула 5 мм и более)



Гиперергическая реакция  
(папула 16 мм и более  
или папула любого размера  
+ везикуло-некротическая  
реакция)



### Види реакцій на пробу Манту з 2 ТО ППД-Л Kinds of reactions on Mantoux test with 2 TU PPD-L



Техніка постановки  
внутрішньої проби  
Technique of performing  
intracutaneous test

Негативна - повна  
відсутність папули або  
лише знак ін'єкції  
розміром до 1 мм  
Negative - absence of a  
papule or only a sign after an  
injection to 1 mm size



Сумнівна - папула  
діаметром 2-4 мм або  
лише гіперемія будь-якого  
розміру  
Doubtful - a 2-4 mm  
diameter papule or only  
hyperemia of any dimension

Позитивна - папула  
розміром 5 мм і більше  
Positive - a 5 mm or more  
papule



Гіперергічна - у дітей і  
підлітків папула 17 мм і  
більше, у дорослих - 21 мм і  
більше. Гіперергічними  
вважають також реакції з  
нааяністю везикул, некрозу  
або лимфангіїту, незалежно  
від розміру інфільтрату

Hyperergic - in children and teenagers a papule of 17 mm and more, in adults - 21 mm and more. Hyperergic reactions should also be supposed the ones with the availability of vesicles, necrosis or lymphangitis, irrespective of the infiltrate dimension