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 сенсибилизированными 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.)

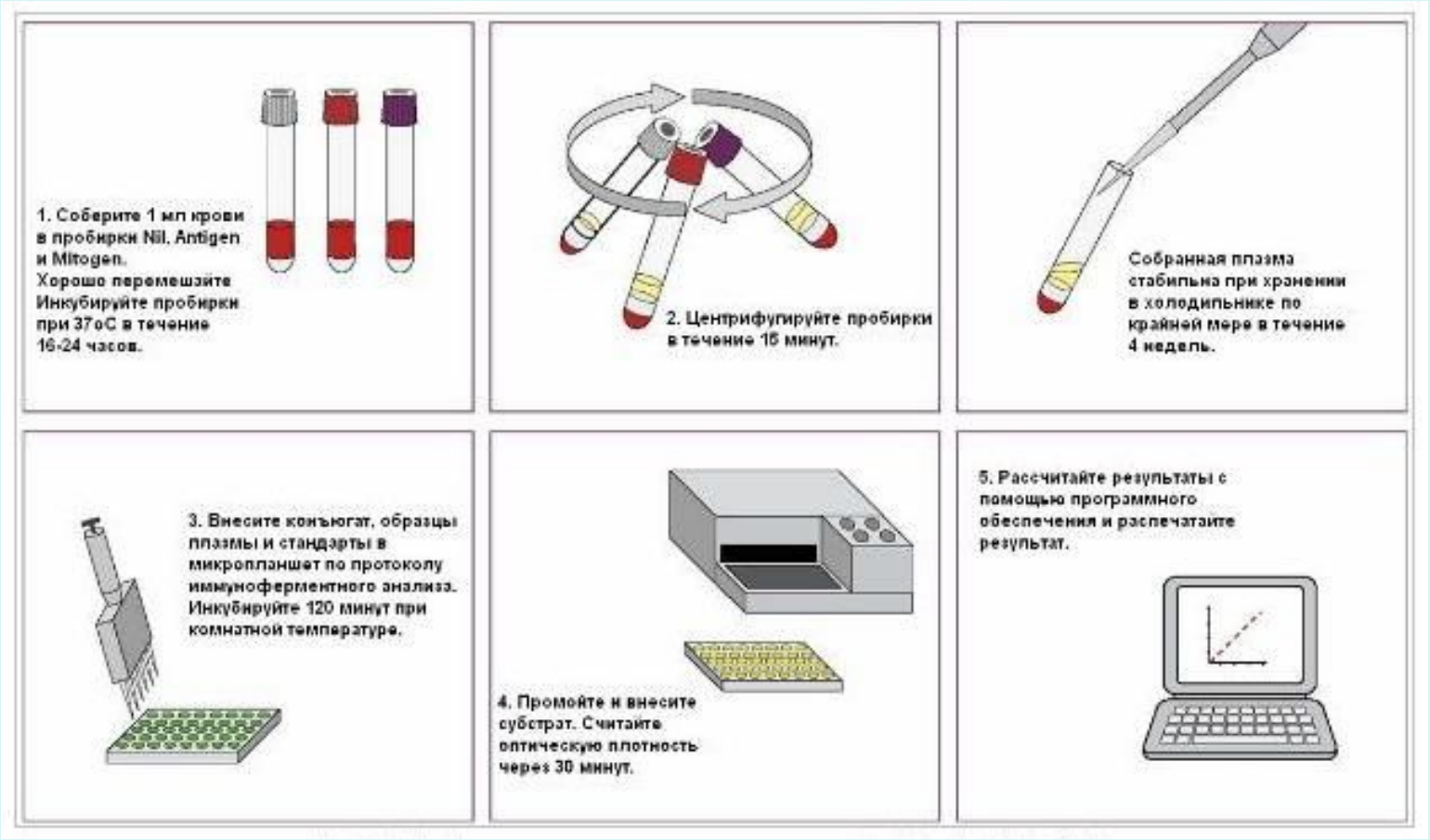
- аллерген туберкулезный рекомбинантный основан на реакции гиперчувствительности замедленного типа к аллергену (аналог р. Манту) , представляющему собой два белка, соединенных вместе **(ESAT6/CFP10),** синтез которых кодируется в уникальной (отличной от других микобактерий) части генома *M. tuberculosis*.

Квантифероновый тест (2000-3500р.)

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

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

Квантифероновый тест (ИФА)



- 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:

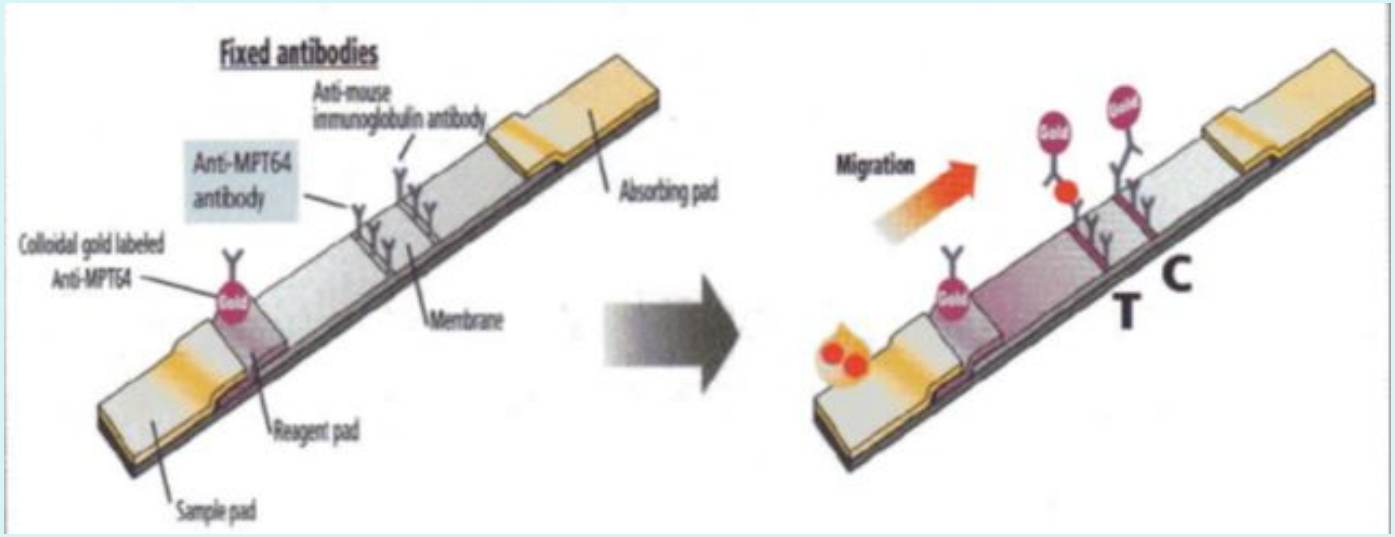
- диагностики латентной туберкулезной инфекции, особенно у детей и лиц со сниженным иммунитетом (при которых реакция Манту, как правило, отрицательная);
- подтверждения сомнительных результатов кожных тестов, т.к. он в 6 раз точнее реакции Манту;
- диагностики туберкулеза у ВИЧ-инфицированных больных;
- отбора пациентов на иммуносупрессивную терапию (обязателен перед назначением антицитокиновых препаратов (инфликсимаб и ремикейд, 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.

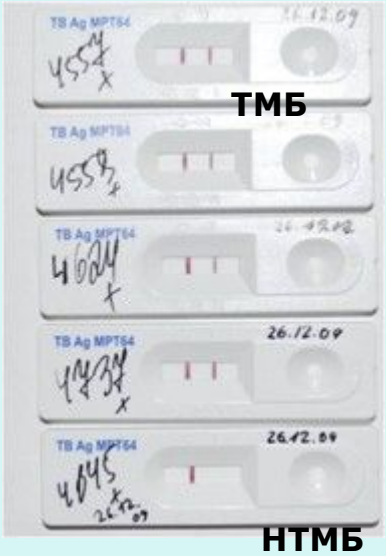
- В отличие от реакции замедленного типа, кожные проявления неспецифической аллергии (в основном гиперемия) на препарат, как правило, наблюдаются сразу после постановки пробы и через 48-72 ч обычно исчезают.

Микро-иммунохроматографический тест



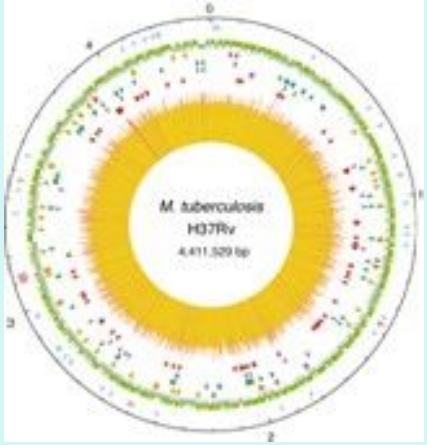
- Конъюгат: конъюгат коллоидного золота и мышиных моноклональных антител к MPT64 (0,24±0,048 мкг);
- Тестовая полоса (T): мышиные моноклональные антитела к MPT64(0,32±0,064 мкг)
- Контрольная полоса (C) :антитела козы к иммуноглобулинам G мыши(0,64±0,128 мкг)

Результат:



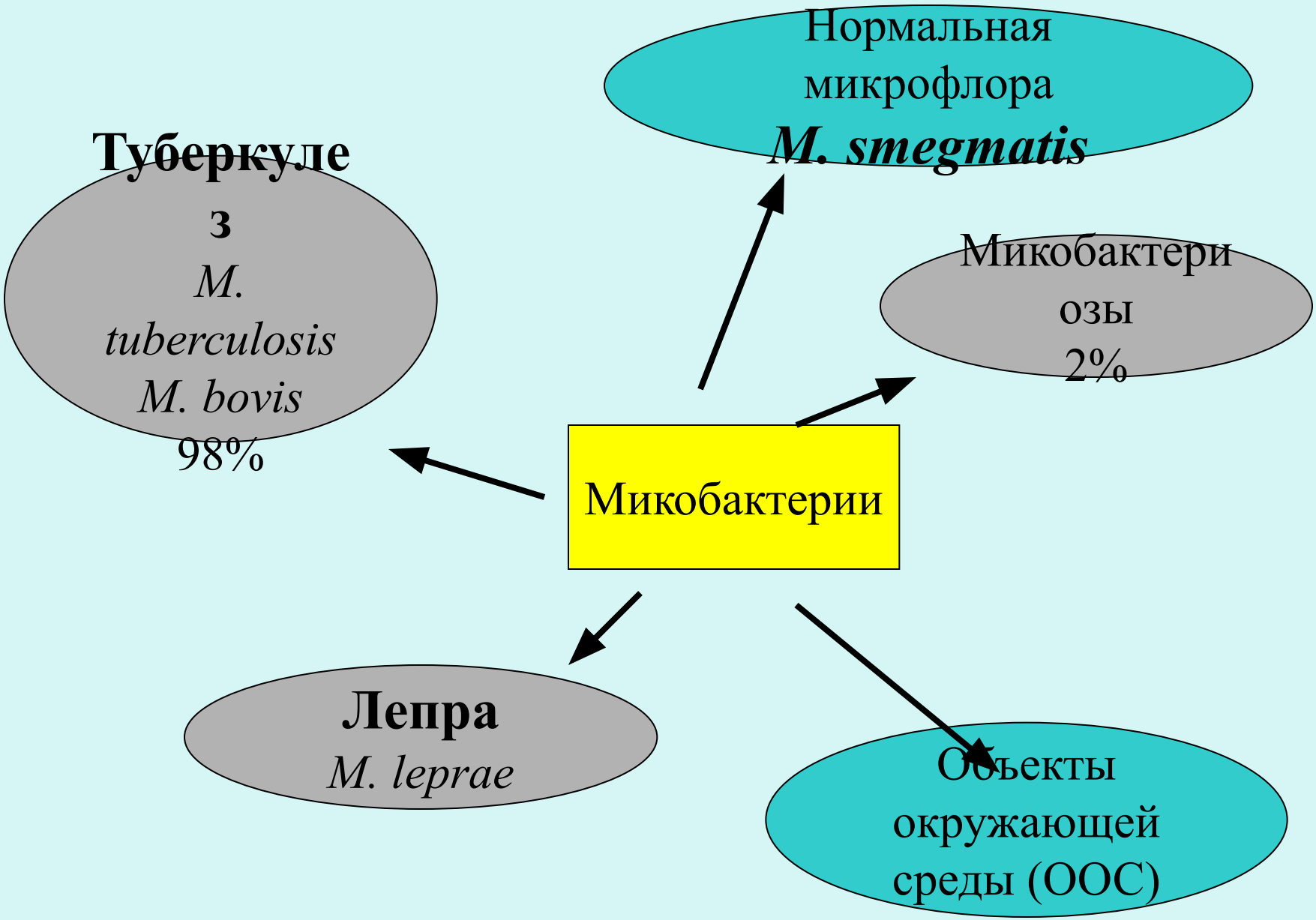
Фундаментальные исследования МБТ позволили выявить: Белок MPT64

- Из 33 специфических белков, отличается тем, что секретируется во внешнюю среду, являясь индикатором роста *M.tuberculosis.*
- Белок MPT64 - предоминантный 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


Нормальная микрофлора
M. smegmatis
Туберкулез
M. tuberculosis
M. bovis
98%
Микобактериозы
2%
Микобактерии
Лепра
M. leprae
Объекты окружающей среды (ООС)

Нетуберкулезные микобактерии:

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

Непатогенные микобактерии

Виды микобактерий	Патогенность
M. phlei **(трава тимофеевка)** ***M. terrae*** **(земля)** ***M. gordonae*** **(M. aqual) (водопроводная вода)** ***M. triviale, M. phlei,*** ***M. flavescens,*** ***M.*** **gastri**	**Не вызывают заболеваний у человека**

Условно-патогенные микобактерии:

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

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

Патогенные	*M. tuberculosis, M. bovis, M. leprae*
Условно патогенные	***M. avium, M.intracellulare, M. kansasii, M. marinum, M. xenopi, M. fortuitum, M. chelonae***
Сапрофиты	*M. gordonae, M. terrae, M. triviale, M. phlei, M. flavescens, M. gastri*

Условно -патогенные НТМБ

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

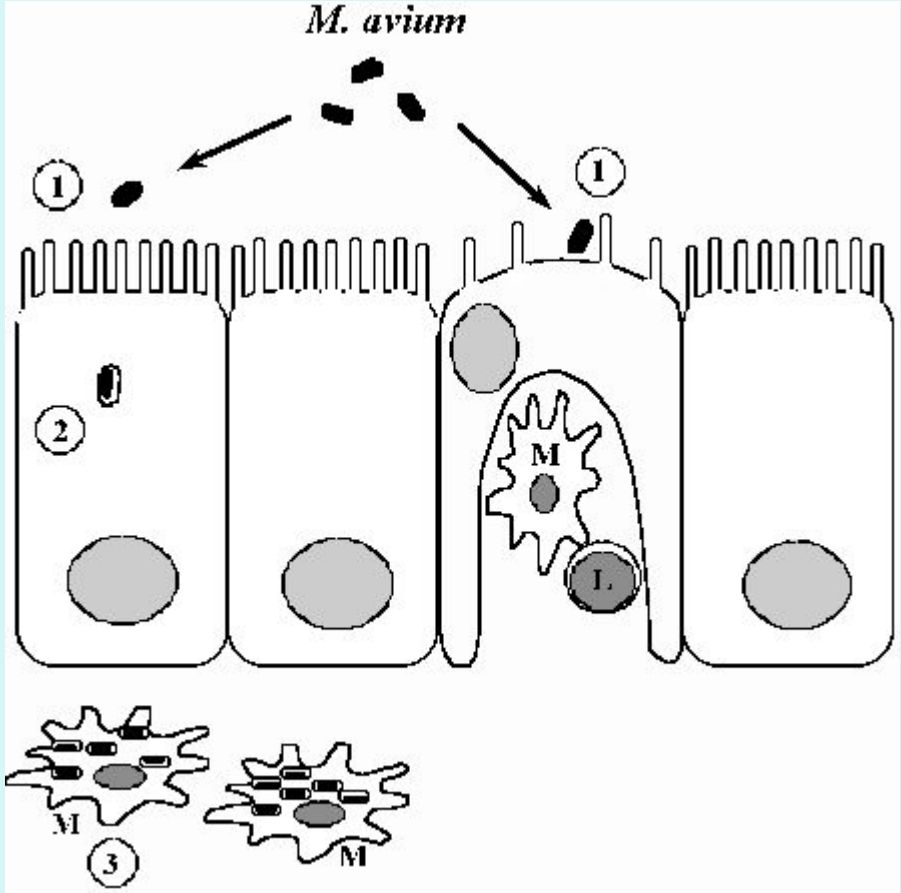
***M. kansasii* –** легкие, кожа

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

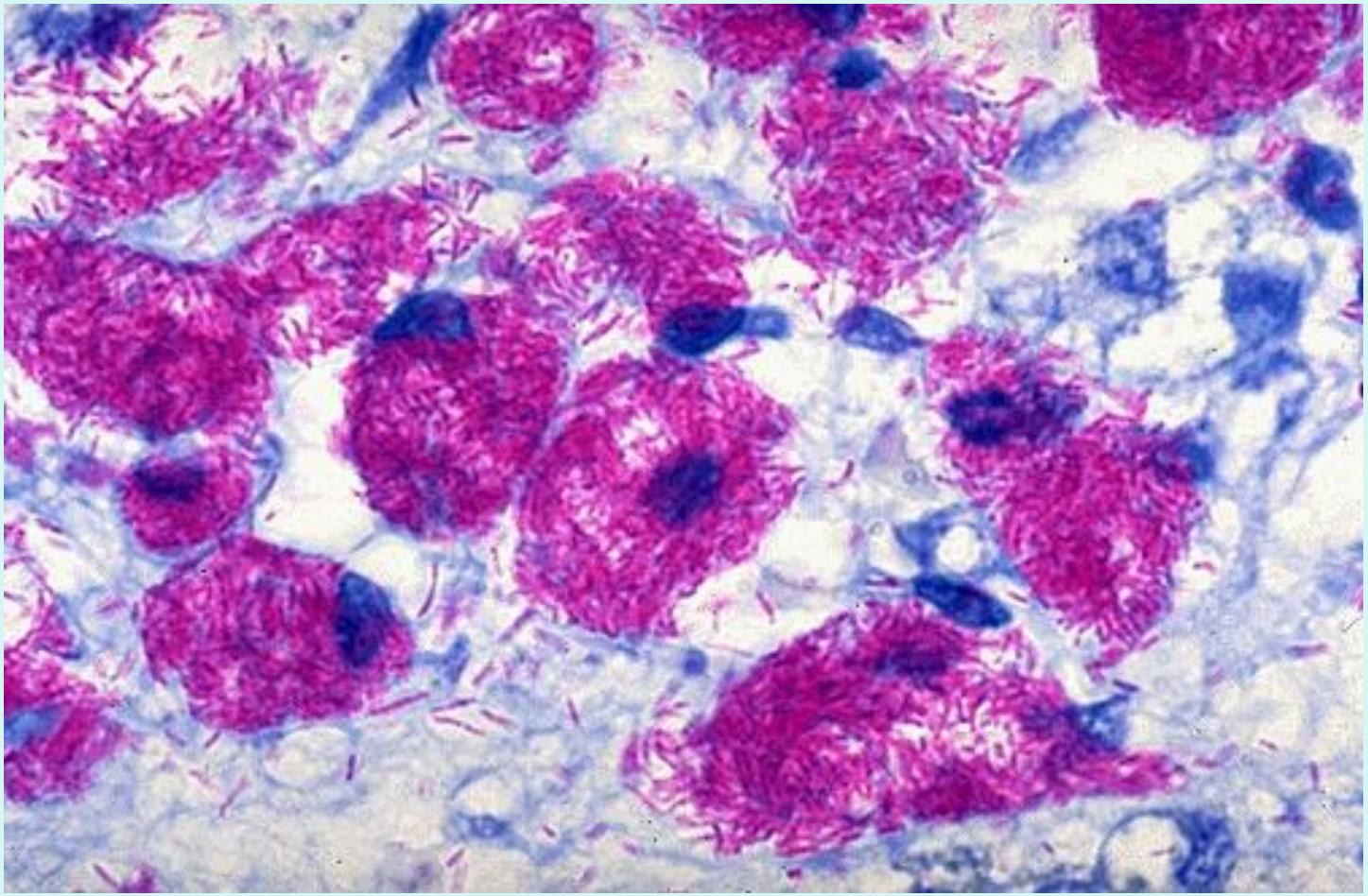
***M. xenopi* -** легкие

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

M. avium, M.intracellulare (MAI)



M. avium, M.intracellulare

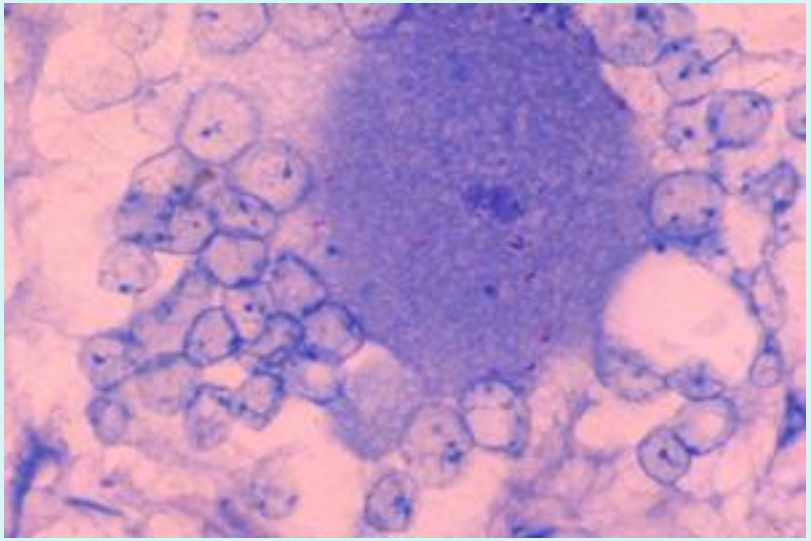


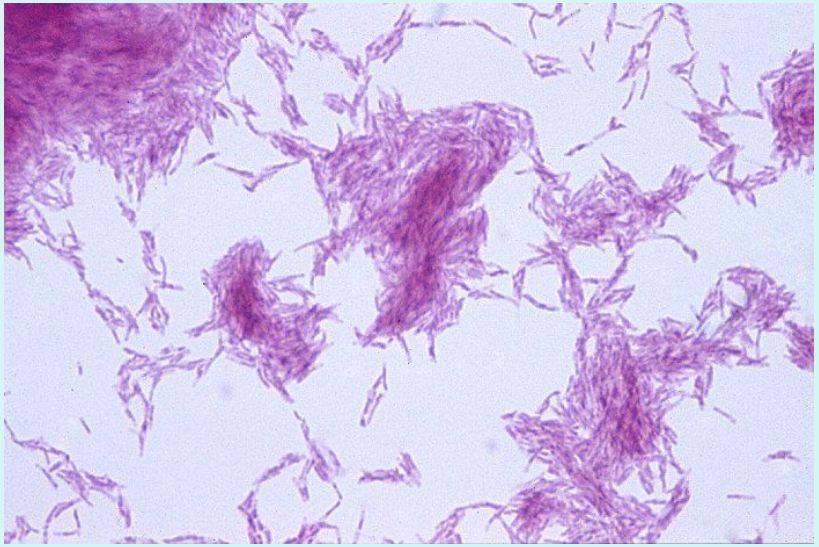
M. avium, M.intracellulare

M. avium, M.intracellulare

M. kansasii

M. kansasii



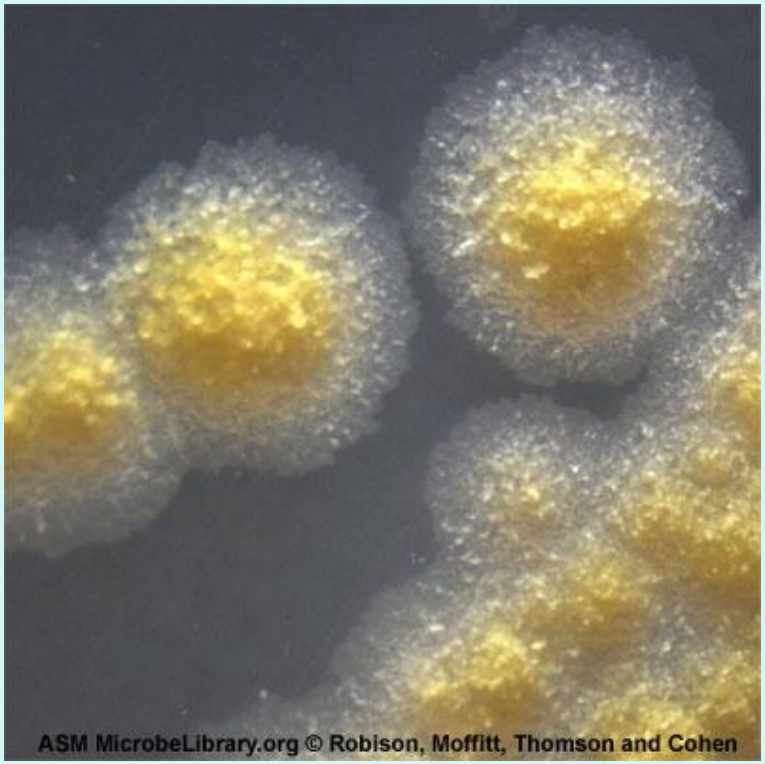


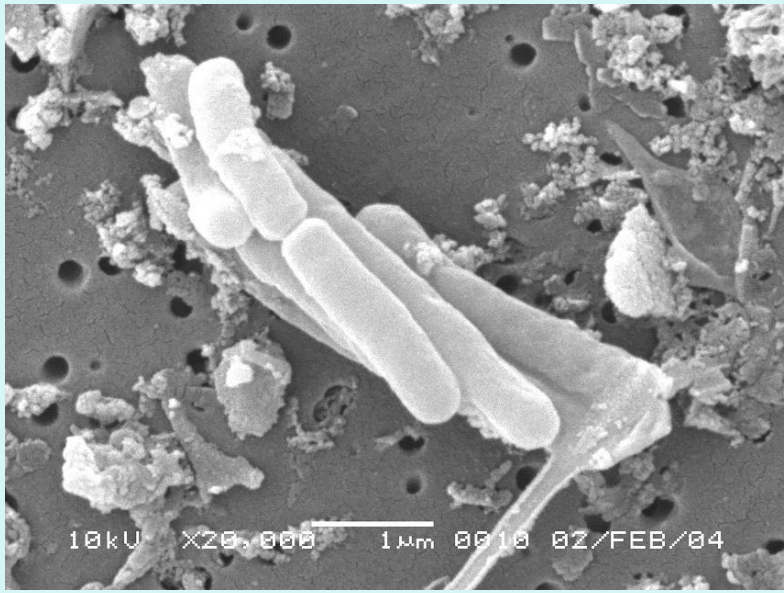
Язва на руке. *M. kansasii*

M. xenopi

Выделена от шпорцевой лягушки
(*Xenopus leavis*)

M. marinum


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


10kV X20,000 1μm 0010 02/FEB/04

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

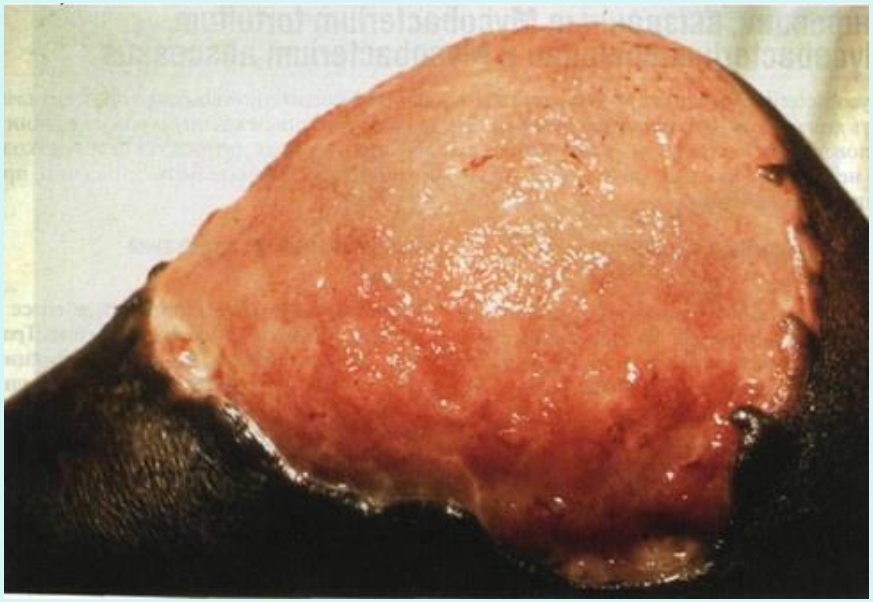
Medscape ®
http://www.medscape.com

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

Диагностика

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

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

Лечение

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

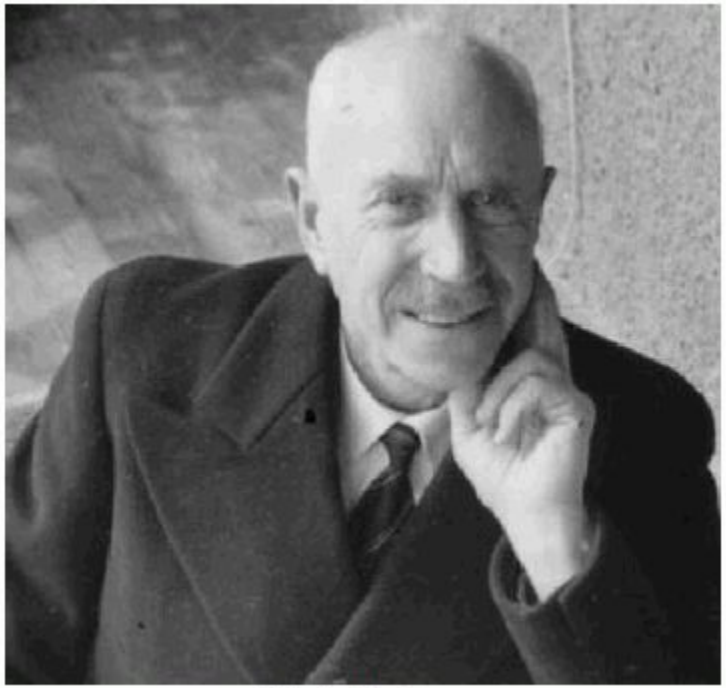
Лечение

- **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.*

Медленно-растущие 7-40 дней	Быстро-растущие (до 7 дней)	Не растут внеклеточно
M. tuberculosis *M. africanum* *M. bovis* *M. avium-itracellulare* *M. ulcerans* *M. marinum* *M. kansasii* *M. xenopi*	*M. fortuitum* *M. paratuberculosis* *M. chelonei*	*M. leprae* *M. lepraemurium*

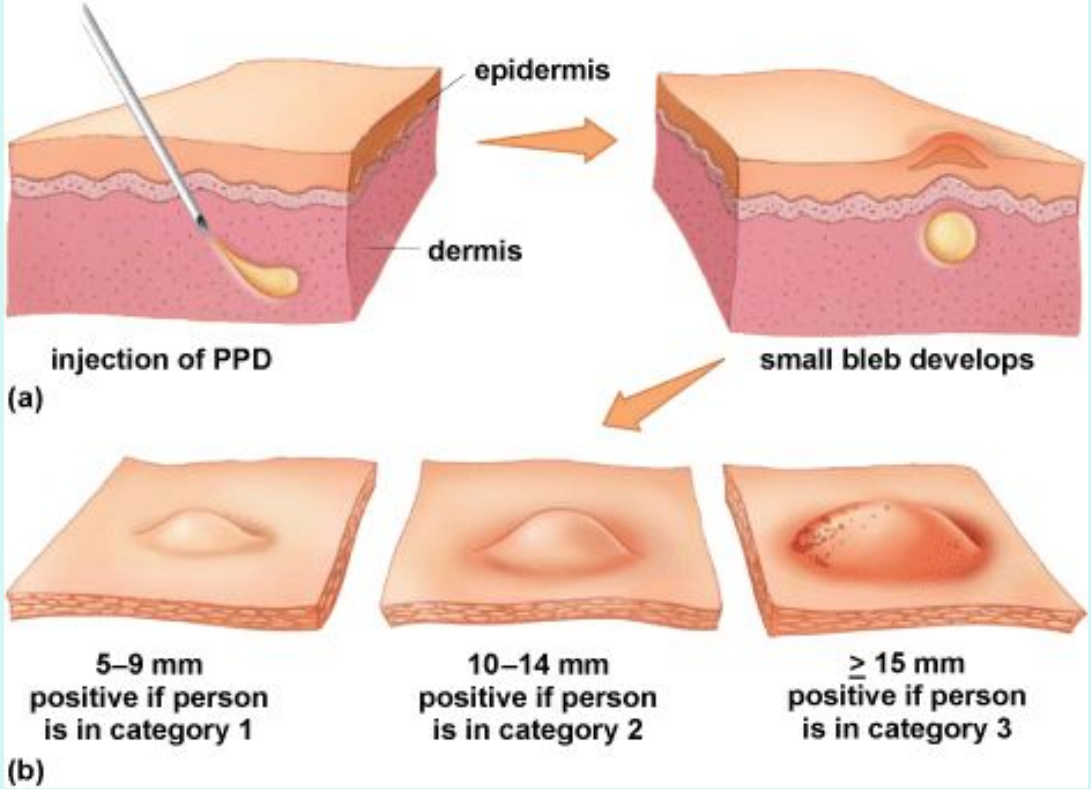
Charles Mantoux (1877 - 1947)

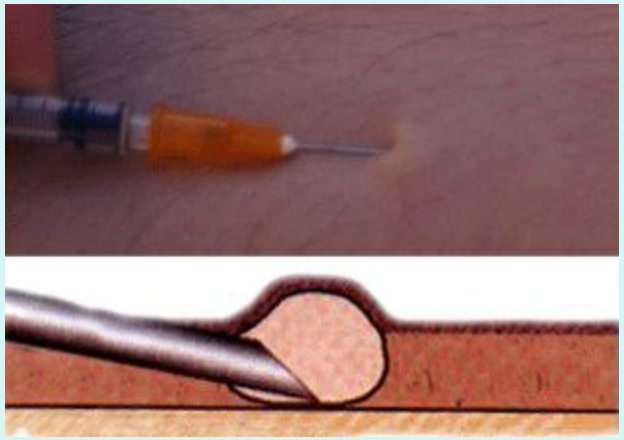


Charles Mantoux.

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

Градуированная Пирке





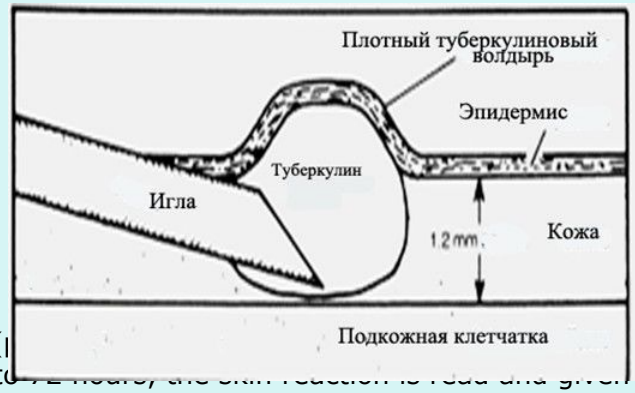
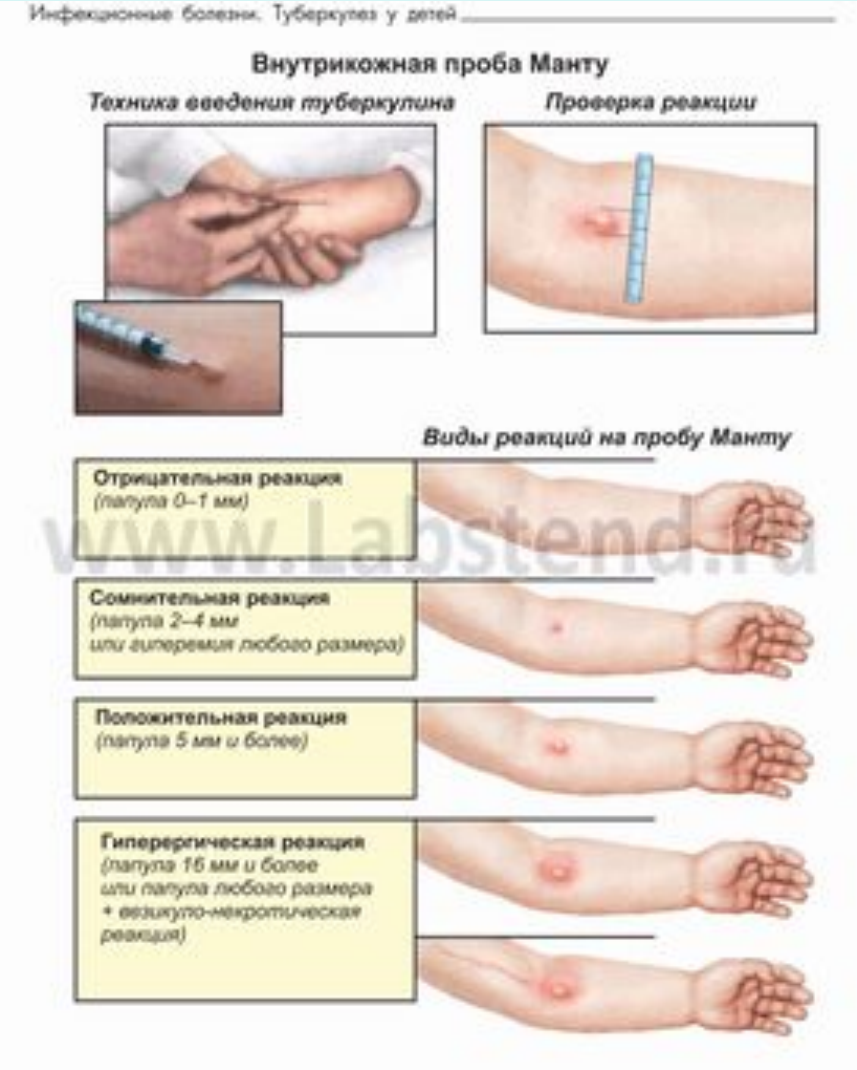
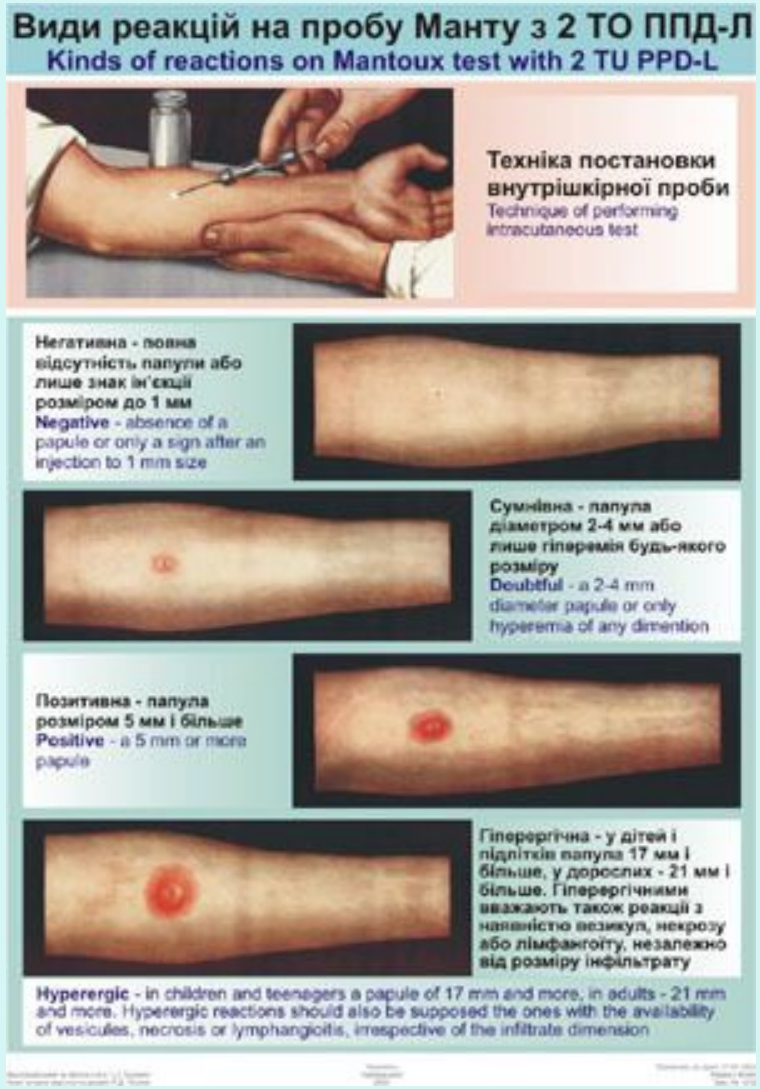


Fig. 2 Skin testing for tuberculosis, using the Mantoux test. (a) Tuberculin PPD (dermis. A small bleb develops, but is absorbed within a short time. (b) After 48 to a rating based on the size of the raised area. A reaction of less than 5 mm is negative in all patients. Category 1 includes, for example, 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)


Инфекционные болезни. Туберкулез у детей
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)
www.Labstend.ru


Види реакцій на пробу Манту з 2 ТО ППД-Л
Kinds of reactions on Mantoux test with 2 TU PPD-L
Техніка постановки внутрішкірної 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 dimention
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 наявністю везикул, некрозу або лімфангоїту, незалежно від розміру інфільтрату
Hyperergic - in children and teenegers 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 vesicules, necrosis or lymphangioitis, irrespective of the infiltrate dimension