

А. С. Позднякова, Е. С. Хитёва, Е. И. Катибникова

НОВЫЙ МЕТОД ДИАГНОСТИКИ ТУБЕРКУЛЕЗНОЙ ИНФЕКЦИИ У ДЕТЕЙ И ПОДРОСТКОВ

ГУО «Белорусская медицинская академия последипломного образования»

Представлены результаты оценки эффективности использования нового диагностического препарата «Диаскинтест®» для диагностики и дифференциальной диагностики туберкулезной инфекции. Проведено клиническое исследование по изучению чувствительности и специфичности препарата «Диаскинтест®», а также сравнительный анализ ответа на туберкулин и Диаскинтест® у 70 детей и подростков: тубинфицированных, больных туберкулезом и здоровых, вакцинированных БЦЖ.

Ключевые слова: *Диаскинтест, туберкулиновая чувствительность, дети, подростки, больной туберкулезом.*

□ Оригинальные научные публикации

A.S. Khitsiova, A.S. Pozdnyakova, E.I. Katibnikova

NEW METHOD FOR THE DIAGNOSIS OF TUBERCULOSIS INFECTION IN CHILDREN AND ADOLESCENTS

The findings of the assessment of the effectiveness of Diaskintest® have been presented. Diaskintest® is a new medical product for the diagnosis and differential diagnosis of tuberculosis infection. The clinical trial was carried out with a view to studying the sensitivity to Diaskintest® and its specificity. Besides, 70 children and adolescents, both tuberculosis sufferers and healthy, vaccinated with BCG, underwent a comparative test aimed at studying the response to tuberculin and Diaskintest®.

Key words: *Diaskintest, tuberculin sensitivity, children, adolescents, tuberculosis patients.*

Период эпидемиологического неблагополучия по туберкулезу в Республике Беларусь, как и во всем мире, в настоящее время характеризуется ростом лекарственно-резистентных форм заболевания и ухудшением его клинической структуры [2,6,7]. В этих условиях особенно важным является правильное формирование групп риска по заболеванию и выявление детей с латентной туберкулезной инфекцией.

Верификация диагноза при туберкулезе относится к числу наиболее сложных задач. «Золотым стандартом» диагностики туберкулеза является выделение возбудителя из патологического материала и его видовая идентификация. Результативность бактериологических исследований у детей при большинстве локализаций невысока. Дифференциальная диагностика БЦЖ-осложнений и туберкулеза по морфологической картине резекционного материала не всегда доказательна [1,4,8]. Остается актуальной проблема дифференциальной диагностики нетуберкулезных заболеваний органов дыхания и туберкулеза. В основе диагностического и дифференциально-диагностического подхода на протяжении десятилетий лежала туберкулинодиагностика. Однако внутрикожная туберкулиновая проба с 2ТЕ ППД-Л имеет низкую специфичность из-за перекрестной сенсибилизации организма вакцинным штаммом *M. bovis* BCG и патогенным штаммом *M. tuberculosis*, что определяет ее положительный результат во всех случаях [1,5]. Сравнительный анализ и расшифровка геномов разных видов микобактерий позволили выделить у *M. tuberculosis* область RD1, которая отсутствует у штамма БЦЖ. Синтез двух секреторных белков ESAT-6 (early secreted antigenic target) и CFP-10 (culture filtrate protein) кодируется в этой области при размножении *M. tuberculosis* и определяет ее вирулентные свойства [3,9,10].

В лаборатории биотехнологии НИИ Молекулярной медицины ММА им. И.М. Сеченова совместно с ЗАО «Мастерклон» был разработан на основе этих пептидов новый реагент для постановки внутрикожной пробы, названный Диаскинтест®. Препарат «Диаскинтест®» представляет собой аллерген туберкулезный рекомбинантный в стандартном разведении, продуцируемый генетически модифицированной культурой *Escherichia coli* BL21(DE3)/pCFP-ESAT. Препарат содержит два антигена (ESAT-6 и CFP-10), которые отсутствуют в вакцинном штамме БЦЖ, поэтому гиперчувствительность замедленного типа при его введении в организм отмечается у инфицированных и больных туберкулезом. Исследования, проведенные российскими учеными, установили, что внутрикожная проба с препаратом Диаскинтест® превосходит туберкулиновую пробу по чувствительности и специфичности [3].

Цель работы

Изучить диагностическую значимость нового препарата «Диаскинтест®» для дифференциальной диагностики туберкулеза, БЦЖ-осложнений, постинфекционной и поствакцинальной аллергии у детей.

Материал и методы

Клиническое исследование по изучению чувствительности и специфичности препарата «Диаскинтест®» проводилось на базе детско-подросткового отделения ГУ «РНПЦ пульмонологии и фтизиатрии» и УЗ «Минский областной противотуберкулезный диспансер». Обследовано 70 пациентов в возрасте от 1 года до 18 лет, среди которых было выделено 4 группы:

1 группа – 36 больных туберкулезом детей и подростков, находившихся на стационарном лечении в детско-подростковом отделении ГУ «РНПЦ пульмонологии и фтизиатрии».

2 группа – 16 инфицированных микобактериями туберкулеза детей и подростков, проживающих в контакте с больным туберкулезом;

3 группа – 6 детей с осложненным течением вакцинации БЦЖ;

4 группа – 12 детей с первичным инфицированием микобактериями туберкулеза (виражом туберкулиновой реакции).

Каждому пациенту в соответствии с инструкцией было введено 0,1 мл раствора (0,2 мкг) препарата «Диаскинтест®» внутрикожно на внутреннюю поверхность средней трети предплечья. Результаты реакции оценивались через 72 часа по следующим критериям: отрицательная – полное отсутствие инфильтрата (папулы) и гиперемии; сомнительная – наличие инфильтрата 2 – 4 мм или только гиперемии; положительная – инфильтрат размером 5 мм и более; при размере инфильтрата 15 мм и более реакция считалась гиперергической.

Техника постановки и оценка результата внутрикожной пробы с Диаскинтестом® аналогичны пробе Манту с 2ТЕ ППД-Л, что позволило провести сравнительную оценку результативности препарата «Диаскинтест®» и туберкулина у обследуемых детей всех групп.

Результаты и обсуждение

В структуре клинических форм туберкулеза у пациентов первой группы преобладал инфильтративный туберкулез – 20 (55,5%) случаев. Первичный туберкулезный комплекс был зарегистрирован у 4 (11,1%) пациентов, по 3 (8,3%) пациента с очаговым туберкулезом и туберкулезом внутригрудных лимфатических узлов, по 2 (5,6%) пациента с диссеминированным туберкулезом и туберкулезным экссудативным плевритом, по 1 (2,8%) больному с туберкулезом почек и туберкулезом костей и суставов. Больные активным туберкулезом органов дыхания составили 32 (88,9±5,2%) человека, 4 (11,1±5,2%) пациента окончили основной курс лечения и имели клиническое излечение туберкулеза. Бактериологическое подтверждение диагноза имели 19 (52,8±8,3%) пациентов. Сравнительный анализ результатов исследования внутрикожной пробы с препаратом «Диаскинтест®» и пробы Манту с 2ТЕ ППД-Л показал, что у большинства пациентов, включенных в первую группу наблюдения, отмечена положи-

Таблица 1. Сравнительная частота результатов кожных реакций на Диаскинтест® и туберкулин в группах наблюдения ($P \pm m$)

Группа наблюдений	Препарат	Результаты проб							
		отрицательный		сомнительный		положительный		гиперергический	
		абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
1- группа (n=36)	Диаскинтест®	7	19,4 ± 6,6	6	16,7 ± 6,2	23	63,9 ± 8,0	18	50,0 ± 8,3
	Туберкулин	0	2,6 ± 2,5	6	16,7 ± 6,2	30	83,3 ± 6,2	7	19,4 ± 6,6
	p		< 0,05		> 0,05		> 0,05		< 0,01
2- группа (n=16)	Диаскинтест®	4	25,0 ± 11,2	6	37,5 ± 12,5	6	37,5 ± 12,5	1	6,3 ± 6,2
	Туберкулин	0	5,5 ± 5,2	2	12,5 ± 8,5	14	87,5 ± 8,5	2	12,5 ± 8,5
	p		> 0,05		> 0,05		< 0,01		> 0,05
3- группа (n=6)	Диаскинтест®	5	83,3 ± 16,6	1	16,7 ± 16,6	0	12,5 ± 11,0	0	12,5 ± 11,0
	Туберкулин	0	12,5 ± 11,0	0	12,5 ± 11,0	6	87,5 ± 11,0	2	33,3 ± 19,2
	p		< 0,01		> 0,05		< 0,001		> 0,05
4- группа (n=12)	Диаскинтест®	7	58,3 ± 14,9	1	8,3 ± 8,3	4	33,3 ± 14,2	0	7,1 ± 6,6
	Туберкулин	0	7,1 ± 6,6	0	7,1 ± 6,6	12	92,9 ± 6,6	5	41,7 ± 14,8
	p		< 0,01		> 0,05		< 0,01		< 0,05

тельная реакция на туберкулин – 30 (83,3±6,2%) человек, тогда как на Диаскинтест® ответ был положительным у 23 (63,9±8,0%) пациентов (таблица 1). Сопоставление степени выраженности положительных реакций показало преобладание у больных туберкулезом гиперергической реакции на Диаскинтест®, которая была зарегистрирована у 18 (50,0±8,3%) пациентов. В то время как на туберкулин гиперергическую и высокую нормергическую реакцию имели только 7 (19,4±6,6%) пациентов. Средний размер инфильтрата на Диаскинтест® составил 17,4±1,15 мм, что достоверно по степени выраженности превосходило туберкулиновую реакцию с 2ТЕ ППД-Л – 12,7±0,67 мм ($p < 0,01$) (таблица 2). Отрицательной реакции на туберкулин зарегистрировано не было, на Диаскинтест® отрицательный ответ был получен у 7 (19,4±6,6%) пациентов ($p < 0,05$). На начальном этапе противотуберкулезного лечения (продолжительность лечения составила 1,2±0,2 месяца) отрицательный ответ на Диаскинтест® имели два пациента с диагнозом очаговый туберкулез легких, реакция на туберкулин у одного из этих пациентов была сомнительной, у другого – положительной. Контрольное рентгенологическое обследование после постановки пробы с Диаскинтестом® засвидетельствовало полное рассасывание воспалительных изменений в легких, что позволило снять диагноз туберкулеза. Следует отметить, что отрицательный ответ на Диаскинтест®, как и сомнительный у 6 (16,7±6,2%) пациентов, был зарегистрирован у детей, получавших противотуберкулезную терапию свыше 4-х месяцев и с клинически излеченным туберкулезом. Проба Манту у пациентов с таким же сроком лечения, оставалась преимущественно положительной. Полученные результаты указывают на высокую информативность нового кожного метода с Ди-

аскинтестом® для определения активности туберкулезного процесса.

Все дети второй группы наблюдения из семейного контакта с больным туберкулезом состояли на учете в противотуберкулезном диспансере и получили курс превентивной терапии. На момент исследования реакция Манту оставалась положительной у 14 (87,5±8,5%) детей, тогда как на кожную пробу с Диаскинтестом® положительно отреагировало 6 (37,5±12,5%) человек ($p < 0,01$). Гиперергическая реакция на Диаскинтест® была зарегистрирована у одного ребенка 10 лет из туберкулезного очага смерти и совпадала с гиперергическим ответом на туберкулин. Достоверного различия в степени выраженности положительной реакции на Диаскинтест® и на пробу Манту отмечено не было, средний размер папулы составлял 11,2±2,46 мм и 9,9±1,02 соответственно ($p > 0,05$). Сомнительную чувствительность на туберкулин имели 2 (12,5±8,5%) детей, на Диаскинтест® – 6 (37,5±12,5%). Отрицательно реагирующих на туберкулин детей зарегистрировано не было, при постановке Диаскинтеста® отрицательная реакция была отмечена у 4 (25,0±11,2%) человек. Данные результата пробы с препаратом «Диаскинтест®» указывали на отсутствие необходимости проведения повторного курса превентивной терапии 10 детям, проживавшим в контакте с больным туберкулезом.

У детей третьей группы наблюдения раннего возраста с осложненным течением вакцинации БЦЖ был диагностирован БЦЖ-остит у 3 пациентов, БЦЖ-лимфаденит у 2 пациентов и у 1 пациента – холодный абсцесс левого плеча. Реакция Манту с 2ТЕ ППД-Л была положительной у всех детей, средний размер папулы составил 12,3±1,83 мм. Ответ на Диаскинтест® у 5 (83,3±16,6%) детей в возрасте до 2-х лет был отрицательным. У одного ребенка в возрасте 4-х лет лимфаденит был выявлен при обследовании по выражению туберкулиновой пробы с гиперергической реакцией на туберкулин, что предполагало возможность развития у него туберкулеза периферических лимфатических узлов. Ответная реакция на Диаскинтест® у этого ребенка была сомнительной. Данные сравнительного анализа результата на Диаскинтест® и пробу Манту с 2ТЕ ППД-Л указывали на поствакцинальное состояние детей с развитием БЦЖ-осложнений.

В анамнезе 3 детей четвертой группы наблюдения с выраженным туберкулиновой реакцией была отмечена пище-

Таблица 2. Степень выраженности положительной реакции на Диаскинтест® и туберкулин ($M \pm m$)

Группа пациентов	Размер инфильтрата, мм		p
	Диаскинтест®	Туберкулин	
1- группа (n=36)	17,4 ± 1,15	12,7 ± 0,67	< 0,01
2- группа (n=16)	11,2 ± 2,46	9,9 ± 1,02	> 0,05
3- группа (n=6)	–	12,3 ± 1,83	
4- группа (n=12)	6,0 ± 0,47	12,3 ± 1,19	< 0,01
p _{1,2}	< 0,05	< 0,05	
p _{1,4}	< 0,01	> 0,05	
p _{2,4}	> 0,05	> 0,05	

□ Оригинальные научные публикации

вая и медикаментозная аллергия. Контакт с больным туберкулезом установлен не был. У всех детей решался вопрос о назначении превентивной терапии, трем детям с гиперергической реакцией на туберкулин – с использованием двух противотуберкулезных препаратов. При постановке Диаскинтеста® только 4 (33,3±14,2%) детей имели положительные реакции, подтверждающие их инфицирование. Средний размер папулы на Диаскинтест® составил 6,0±0,47 мм и был достоверно меньше среднего размера папулы на пробу Манту – 12,3±1,19 мм ($p < 0,01$). У годовалого ребенка с гиперергической реакцией на туберкулин и с аллергическим фоном в анамнезе ответа на Диаскинтест® отмечено не было. Отрицательная реакция на Диаскинтест® была зафиксирована у 7 (58,3±14,9%) из 12 детей, что указывало на отсутствие у них активной туберкулезной инфекции и не требовало проведения профилактического противотуберкулезного лечения.

Сравнительный анализ степени выраженности реакции на препарат «Диаскинтест®» у детей из разных групп наблюдения показал, что при заболевании туберкулезом (1 группа) степень выраженности положительной реакции была достоверно выше, чем при инфицировании микобактериями туберкулеза (таблица 2). Выявленность реакции снижалась в процессе противотуберкулезного лечения. У детей с осложненным течением вакцинации БЦЖ (3 группа), положительных реакций на препарат «Диаскинтест®» зарегистрировано не было, что дало возможность дифференцировать поствакцинальную и инфекционную аллергии у детей 2, 3 и 4 групп наблюдения. Таким образом, данный тест может быть использован при обследовании на заболевание туберкулезом детей из наиболее уязвимых групп социального и медицинского риска, а также для отбора инфицированных детей и подростков на проведение превентивной терапии, и, особенно, для повторного ее курса в условиях контакта с больным туберкулезом.

Выводы

1. Полученные данные свидетельствуют о высокой степени чувствительности препарата «Диаскинтест®». В период начальных проявлений болезни все больные туберкулезом дети и подростки реагировали положительно, в тоже время отрицательная реакция на Диаскинтест® у 2 пациентов подтвердила наличие неспецифических изменений в легких (пневмонии).

2. Установлена высокая информативность нового метода для определения активности популяций микобактерий в организме ребенка. Дети и подростки с клинически излеченным туберкулезом, или получившие курсы превентивной терапии в очаге туберкулезной инфекции,

чаще реагировали на Диаскинтест® сомнительной или отрицательной реакцией, в то время как проба Манту у них оставалась положительной.

3. Исследования показали возможность использования Диаскинтеста® в качестве маркера у детей и подростков, как активного туберкулеза, так и латентной туберкулезной инфекции. При активном туберкулезном процессе степень выраженности положительной реакции на Диаскинтест® была достоверно ($p < 0,01$) выше туберкулиновой реакции с 2ТЕ ППД-Л. Инфицированные микобактериями туберкулеза дети, имели положительные реакции на Диаскинтест®, хотя и менее выраженные в сравнении с таковыми у больных туберкулезом.

4. Сомнительная и отрицательная реакция на препарат «Диаскинтест®» позволила сократить число детей, нуждающихся в проведении превентивного лечения среди инфицированных по пробе Манту с 2 ТЕ ППД.

5. Внутривенная проба с препаратом «Диаскинтест®» высоко специфична. Дети, вакцинированные БЦЖ, включая детей с осложнениями противотуберкулезной вакцинации, не имели ответа на препарат «Диаскинтест®».

Литература

1. *Вакцинопрофилактика туберкулеза: значение и проблемы* / В.А. Аксенова [и др.] // Проблемы туберкулеза и болезней легких. – 2009. – №1. – С. 10 – 16.
2. *Вирулентность лекарственно-устойчивых микобактерий туберкулеза* / Е. М. Скрягина [и др.] // Медицинская панорама. – 2008. – №13 (96). – С. 34 – 37.
3. *Кожная проба с препаратом «ДИАСКИНТЕСТ®» – новые возможности идентификации туберкулезной инфекции* / В. А. Аксенова [и др.]; под ред. академика РАН и РАМН М.А. Пальцева. – 2-е изд., испр. и доп. – М.: Шико, 2011. – 256 с.: ил.
4. *Мушкин, А. Ю. Костно-суставной туберкулез: современная ситуация и прогноз* / А. Ю. Мушкин // Проблемы туберкулеза и болезней легких. – 2007. – № 1. – С.13 – 16.
5. *Овсянкина, Е. С. Актуальные проблемы противотуберкулезной помощи детям и подросткам* / Е. С. Овсянкина // Проблемы туберкулеза и болезней легких. – 2009. – № 1. – С. 3 – 5.
6. *Позднякова, А. С. Факторный анализ риска развития и тяжести течения туберкулеза у подростков* / А. С. Позднякова // Медицинский журнал. – 2008. – №3. – С. 104 – 106.
7. *Туберкулез у детей и подростков в России в 21 веке* / В.А. Аксенова [и др.] // Совершенствование медицинской помощи больным туберкулезом: материалы Всероссийской науч.-практ. конф., Санкт-Петербург, 20-22 окт. 2011г. / С.-Петерб. НИИ фтизиатрии; под ред. профессора П.К. Яблонского. – СПб., 2011. – С. 328 – 330.
8. *Mc Shane, H. Vaccine strategies against tuberculosis* / H. Mc Shane / *Swiss. Med. Wkly.* – 2009. – Vol. 139, N 11-12. – P. 156 – 160.
9. *Menzies, D. Meta-analysis: New Tests for the Diagnosis of Latent Tuberculosis Infection: Areas of Uncertainty and Recommendation for Research* March / D. Menzies, M. Pai, G. Comstock // *Annals of Internal. Medicine.* – 2007. – Vol.146, №5 – P. 340 – 354.
10. *Sensitivity of a new commercial enzyme-linked immunospot assay (T SPOT-TB) for diagnosis of tuberculosis in clinical practice* / T. Meier [et al.] // *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* – 2005. – Vol.24. – P. 529 – 536.