

*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 <sub>1,2</sub>	< 0,05	< 0,05	
p <sub>1,4</sub>	< 0,01	> 0,05	
p <sub>2,4</sub>	> 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). Выраженность 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 угрожаемых 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. Внутрикожная 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 физиопульмонологии; 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.