

ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ НОВОГО КОЖНОГО ТЕСТА (ДИАСКИНТЕСТА®) ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ТУБЕРКУЛЁЗА ОРГАНОВ ДЫХАНИЯ У ДЕТЕЙ И ПОДРОСТКОВ В ТУБЕРКУЛЁЗНОМ ОТДЕЛЕНИИ

Е. С. ОВСЯНКИНА, М. Ф. ГУБКИНА, Н. Г. ЕРШОВА, М. Г. КОБУЛАШВИЛИ

EXPERIENCE WITH THE NEW SKIN TEST DIASKINTEST® USED TO DIAGNOSE RESPIRATORY TUBERCULOSIS IN CHILDREN AND ADOLESCENTS IN A TUBERCULOSIS UNIT

Ye. S. OVSYANKINA, M. F. GUBKINA, N. G. ERSHOVA, M. G. KOBULASHVILI

Центральный НИИ туберкулёза РАМН, Москва

С целью оценки чувствительности и специфичности нового кожного теста Диаскинтеста® (рекомбинантный белок CFP-10 – ESAT-6, продуцируемый *Escherichia coli* BL21(DE3)/pCFP – ESAT) в условиях стационара обследованы 72 пациента в возрасте от 4 до 17 лет с впервые выявленными рентгенологическими изменениями в лёгких или внутригрудных лимфатических узлах и не получавших до обследования противотуберкулёзных препаратов. По результатам обследования и лечения пациенты были разделены на 3 группы: 1-я группа – 52 больных активным туберкулёзом органов дыхания, 2-я группа – 7 пациентов с остаточными изменениями после спонтанно излеченного туберкулёза, 3-я группа – 13 больных с нетуберкулёзными заболеваниями. Отдельно в каждой группе, сравнивая результаты кожного туберкулинового теста (проба Манту с 2 ТЕ ППД-Л) и Диаскинтеста®, определяли средний размер инфильтрата, процент гиперергических, отрицательных и сомнительных реакций, что позволило оценить чувствительность и специфичность Диаскинтеста® относительно традиционно используемого КТТ. Чувствительность Диаскинтеста® (1-я группа) составила 96,2%, ложноотрицательный ответ с учётом также сомнительной реакции – 3,8% (2 больных с ограниченным туберкулёзным поражением лёгочной ткани). Наиболее чувствительным Диаскинтест® оказался у больных инфильтративным туберкулёзом лёгких, а также при распространённых процессах с наличием распада лёгочной ткани, т. к. именно в этих случаях гиперергическая реакция на Диаскинтест® составила более 80%. Специфичность Диаскинтеста® (3-я группа) составила 84,6%, ложноположительный результат наблюдали в 15,4%. При определении активности впервые выявленных посттуберкулёзных изменений – очаг Гона – (2-я группа) Диаскинтест® оказался более информативным, чем проба Манту с 2 ТЕ ППД-Л, т. к. его специфичность в данном случае (отрицательный результат) составила 100%, а туберкулиновой пробы Манту – 14,3%.

Высокая чувствительность (96,2%) и специфичность (84,6%) нового кожного теста позволяют использовать его при проведении комплексного обследования в условиях специализированного стационара у пациентов с клинико-рентгенологическими признаками туберкулёза органов дыхания, способствуя сокращению сроков дифференциальной диагностики в сложных диагностических случаях. У пациентов с впервые выявленными посттуберкулёзными изменениями Диаскинтест® с высокой степенью достоверности позволяет исключить активность процесса.

Ключевые слова: Диаскинтест®, дети, подростки, диагностика, туберкулёз.

Seventy-two patients aged 4 to 17 years, who had first detected X-ray changes in the lung or intrathoracic lymph nodes and had received no antituberculous drugs before study, were examined to estimate the sensitivity and specificity of the new skin test Diaskintest® (recombinant CFR-10 – ESAT-6 protein produced by *Escherichia coli* BL21(DE3)/pCFP – ESAT). According to the results of examination and treatment, the patients were divided into 3 groups: 1) 52 patients with active respiratory tuberculosis; 2) 7 patients with residual changes after spontaneously cured tuberculosis; 3) 13 with nontuberculous diseases. By comparing the results of the skin tuberculin test (Mantoux test with 2 TE PPD-L) and Diaskintest®, the mean size of an infiltrate and the percentage of hyperergic, negative and doubtful reactions were estimated in each group, which allowed evaluation of the sensitivity and specificity of the new skin test Diaskintest® versus the conventional skin tuberculin test. The sensitivity of Diaskintest® (Group 1) was 96.2%; false-negative responses with doubtful results being kept in mind were 3.8% (2 patients with limited tuberculous lung lesion). Diaskintest® was the most sensitive in patients with infiltrative pulmonary tuberculosis, in those with disseminated processes or lung tissue decay, as the hyperergic reaction to Diaskintest® just in these cases was more than 80.0%. Its specificity (Group 3) was 84.6%; false-positive results were seen in 15.4%. Determining the activity of first detected posttuberculosis changes – Ghon's focus (Group 2) indicated that Diaskintest® was of more informative value than the Mantoux test with 2 TE PPD-L since its specificity in this case (a negative result) was 100.0%, and that of the Mantoux tuberculin test was 14.3%. The high sensitivity (96.2%) and specificity (84.6%) of the new skin test Diaskintest® permit its use in the comprehensive examination of patients with clinical and radiological signs in a specialized hospital, contributing to the shorter duration of differential diagnosis in difficult diagnostic cases. Diaskintest® enables one to rule out the activity of the process with a high assurance in patients with first detected post-tuberculosis changes.

Key words: Diaskintest®, children, adolescents, diagnose, tuberculosis.

В связи с многообразием клинических форм, «масок» туберкулёза, вариантов его течения (от бессимптомного до острого) проблема ранней диагностики туберкулёза, а также дифференциальной диагностики нетуберкулёзных заболеваний органов дыхания у детей и подростков оста-

ётся актуальной. Одним из распространённых тестов, используемых в скрининговом обследовании населения на туберкулёз, является кожный туберкулиновый тест (КТТ). В России с этой целью используют очищенный туберкулин в стандартном разведении (проба Манту с 2 ТЕ

ППД-Л). Данный тест характеризует не только наличие заболевания туберкулёзом, но также состояние поствакцинного иммунитета и инфицированности микобактериями туберкулёза (МБТ), что затрудняет диагностику локального туберкулёза. В частности, даже гиперергическая туберкулиновая чувствительность не всегда свидетельствует о наличии локального туберкулёзного процесса. По нашим данным [1], гиперергическая реакция на пробу Манту с 2 ТЕ ППД-Л встречается у 10,8% пациентов с нетуберкулёзными заболеваниями. При обследовании (с использованием компьютерной томографии) 147 пациентов с гиперергической реакцией на пробу Манту с 2 ТЕ ППД-Л получены следующие результаты: диагностирована малая форма внутригрудного туберкулёза у 62 детей (42,2%), установлено инфицирование МБТ у 85 пациентов (57,8%), в том числе выявлена параспецифическая гиперергическая реакция на туберкулин в 8,2% случаев [5].

Назрела необходимость поиска нового, более специфичного теста для диагностики туберкулёза и его дифференциальной диагностики с нетуберкулёзными заболеваниями.

В лаборатории биотехнологии НИИ молекулярной медицины ММА им. И. М. Сеченова совместно с ЗАО «Мастерклон» был разработан новый реагент для скрининговой диагностики туберкулёзной инфекции, получивший название Диаскинтест®. Препарат Диаскинтест® – аллерген туберкулёзный рекомбинантный в стандартном разведении, продуцируемый генетически модифицированной культурой *Escherichia coli* BL21(DE3)/pCFP-ESAT. Особенностью белков CFP-10 и ESAT-6 является их отсутствие у *Mycobacterium bovis* BCG [3, 4].

В результате доклинических исследований установлено, что препарат Диаскинтест® нетоксичен, не обладает сенсibiliзирующими свойствами, безопасен [3, 4]. Это стало основанием для проведения ограниченных клинических испытаний.

Совместно с другими медицинскими учреждениями ГУ ЦНИИТ РАМН принимал участие в проведении клинического исследования реактогенности и специфической активности нового диагностического кожного теста (Диаскинтеста®) у больных туберкулёзом органов дыхания детей и подростков (открытое исследование, сравнительное с очищенным туберкулином в стандартном разведении – 2 ТЕ ППД-Л) [3, 4, 6].

Цель настоящего исследования: оценка информативности Диаскинтеста® в диагностике и дифференциальной диагностике туберкулёза органов дыхания и нетуберкулёзных заболеваний у детей и подростков, а также в определении активности туберкулёзного процесса.

В исследование были включены 72 пациента (29 подростков и 43 ребёнка, в том числе 6 человек дошкольного возраста; девочек – 39, мальчиков – 33) в возрасте от 4 до 17 лет, находившиеся на обследовании в детско-подростковом отделе ГУ ЦНИИТ РАМН в 2009 г. У всех пациентов изменения в лёгких или внутригрудных лимфатических узлах были выявлены впервые, у 17 человек определялись только на компьютерных томограммах. Обследование проводили до начала приёма противотуберкулёзных препаратов.

Лабораторно-инструментальное обследование включало: клинический анализ крови, клинический анализ мочи, исследование функции печени, определение содержания в крови уровня белков острой фазы воспаления альфа-1-антитрипсина и гаптоглобина, ультразвуковое исследование органов брюшной полости и почек, ЭКГ, ФВД у детей старше 6 лет, 3-кратное исследование мокроты/смывов с верхних дыхательных путей на МБТ методом люминесцентной микроскопии и посева на плотные питательные среды Левенштейна – Йенсена и Финна-2, проведение туберкулиновой пробы Манту с 2 ТЕ ППД-Л и кожной пробы с препаратом Диаскинтест®.

Постановку проб с препаратом Диаскинтест® и туберкулином (2 ТЕ ППД-Л) проводили одновременно на обеих руках (внутренняя поверхность средней трети предплечий) внутрикожно одноразовыми туберкулиновыми шприцами. Препарат ДСТ вводили в кожу правого предплечья в дозе 0,1 мл (0,2 мкг), очищенный туберкулин в стандартном разведении (2 ТЕ) в дозе 0,1 мл – в кожу левого предплечья.

Оценку результатов туберкулиновой пробы Манту с 2 ТЕ ППД-Л осуществляли в соответствии с приложением № 4 к приказу Минздрава России № 109 от 21.03.2003 г. [7], кожной реакции – в соответствии с инструкцией по применению препарата Диаскинтест® [2].

Диагностика туберкулёза основывалась на сопоставлении анамнестических, клинических, лабораторных, микробиологических, рентгенологических данных.

По результатам обследования и лечения пациенты были разделены на 3 группы: 1-я группа – 52 больных активным туберкулёзом органов дыхания, 2-я группа – 7 пациентов с остаточными изменениями после спонтанно излеченного туберкулёза, 3-я группа – 13 больных с нетуберкулёзными заболеваниями.

Характеристика пациентов 1-й группы. Возраст больных – от 4 до 17 лет. Равное соотношение детей и подростков – 28 и 24 человека соответственно. В структуре клинических форм преобладали туберкулёз внутригрудных лимфатических узлов (ТВГЛУ) – у 21 человека (40,4%), инфильт-

ративный туберкулёз лёгких (ИТ) – у 16 (30,8%), реже встречался очаговый туберкулёз (ОТ) – у 9 (17,3%), в единичных случаях отмечен первичный туберкулёзный комплекс (ПТК) – у 4 (7,7%), по одному случаю – казеозная пневмония и туберкулёма (3,8%). Туберкулёзные процессы имели различный объём поражения лёгочной ткани или внутригрудных лимфатических узлов (ВГЛУ). Распространённые процессы (поражение более 1-2 сегментов лёгких или более 2 групп ВГЛУ, а также двусторонние процессы, осложнённые процессы, процессы с наличием распада лёгочной ткани) встречались у 22 человек (43,1%), ограниченные (односторонние процессы с поражением 1-2 сегментов лёгких или 1-2 групп ВГЛУ без осложнений) – у 20 (38,5%), малые формы внутригрудного туберкулёза (изменения во ВГЛУ или лёгких, определяемые только на компьютерных томограммах) – у 10 (19,2%). Бактериовыделители встречались только среди пациентов с лёгочными процессами – 12 (45,4%) из 27 больных. Распад лёгочной ткани определяли у 17 пациентов (63%). У всех больных ТВГЛУ, а также у 2 больных с ПТК процессы были выявлены на этапе обратного развития в фазе начинающейся кальцинации. При этом у них имелись различной степени выраженности клинико-лабораторные признаки активности туберкулёзного процесса (наличие симптомов интоксикации, изменения в гемограмме, повышение уровня белков острой фазы воспаления: гаптоглобина, альфа-1-антитрипсина).

Характеристика пациентов 2-й группы. Возраст от 5 до 12 лет. Дети были направлены на обследование по результатам массовой туберкулинодиагностики. При традиционном рентгено-томографическом обследовании патологии в лёгких и внутригрудных лимфатических узлах не выявлено. На КТ органов грудной клетки у всех пациентов обнаружен очаг Гона. Клинико-лабораторных признаков активности впервые выявленных посттуберкулёзных изменений не наблюдали. Факт наличия контакта с больным туберкулёзом в прошлом был установлен у 1 пациента в возрасте 7 лет, имеющего инфильтрат на пробу Манту с 2 ТЕ ППД-Л размером 15 мм.

Характеристика пациентов 3-й группы. Обследованы 8 детей, 5 подростков (5 девочек, 8 мальчиков) в возрасте от 8 до 17 лет. Диагностированы следующие заболевания: пневмонии – у 6 больных (неспецифическая пневмония – у 4, эозинофильная пневмония – у 2), врождённые пороки развития – у 3 (сердца, лёгких и бронхов – по 1), паразитарные заболевания – у 2 (эхинококкоз, токсоплазмоз), заболевания опухолевой природы – у 2 (остеохондрома 3-го ребра, нейроэндокринный рак вилочковой железы). В равных соотношениях данные заболевания были выявлены у 6 пациентов при обращении за медицинской помощью ($46,2 \pm 14,3\%$) и у 7 человек при прове-

дении проверочных обследований ($53,8 \pm 14,3\%$): флюорографии (5 человек) и массовой туберкулинодиагностики (2 человека). С бронхолёгочными жалобами к врачу обратились 4 больных с неспецифической пневмонией, 1 пациент с эозинофильной пневмонией и 1 пациент с эхинококкозом. Остальные 7 человек активно жалоб не предъявляли и считали себя, так же, как и их родители, здоровыми. У 2 пациентов первоначально был диагностирован туберкулёз, они получали противотуберкулёзную терапию сроком 3 и 6 мес. без положительного эффекта, что позволило сомневаться в правомочности поставленного диагноза. Оба пациента прооперированы, окончательный диагноз верифицирован гистологически: в одном случае установлен врождённый порок развития бронхов, в другом – нейроэндокринный рак вилочковой железы.

Отдельно в каждой группе, сравнивая результаты пробы Манту с 2 ТЕ ППД-Л и Диаскинтеста[®], определяли средний размер инфильтрата, процент гиперергических, отрицательных и сомнительных реакций, что позволило оценить чувствительность и специфичность Диаскинтеста[®] относительно традиционно используемого КТТ.

Результаты и обсуждение

Средний размер инфильтрата у больных активным туберкулёзом органов дыхания (1-я группа) на пробу Манту с 2 ТЕ ППД-Л составил $17,2 \pm 0,46$ мм, на Диаскинтест[®] – $17,2 \pm 0,80$ мм. У всех пациентов 1-й группы реакция на пробу Манту с 2 ТЕ ППД-Л была положительная. При проведении Диаскинтеста[®] положительные реакции наблюдали у 49 (96,2%) больных. Отрицательный результат на Диаскинтест[®] отмечали у 1 (1,9%) больного с ограниченным инфильтративным процессом (по типу округлого инфильтрата) с последующим формированием туберкулёмы, проба Манту у этого пациента была гиперергическая. Сомнительный результат ДСТ обнаружен у 1 (1,9%) больной с ограниченным лёгочным процессом, туберкулиновая чувствительность по пробе Манту была умеренная.

Гиперергические реакции на Диаскинтест[®] выявлены у 38 человек и наблюдались достоверно чаще, чем по результатам пробы Манту с 2 ТЕ ППД-Л – у 27 человек ($73,1 \pm 6,1$ и $51,9 \pm 7,0\%$ соответственно, $p < 0,05$). Эти различия отмечали за счёт больных инфильтративным туберкулёзом, т. к. только при этой клинической форме частота гиперергических реакций на Диаскинтест[®] была выше, чем на пробу Манту с 2 ТЕ ППД-Л ($87,5 \pm 8,5$ и $37,5 \pm 12,5\%$ соответственно, $p < 0,01$). Также были выявлены достоверные различия в частоте встречаемости гиперергических реакций на пробу Манту с 2 ТЕ ППД-Л и ДСТ у больных с распространёнными процессами ($40,9 \pm 10,7$ и $81,8 \pm 8,4\%$

соответственно, $p < 0,01$), лёгочными процессами в фазе распада ($29,4 \pm 11,4$ и $82,4 \pm 9,5\%$ соответственно, $p < 0,01$).

Таким образом, чувствительность препарата Диаскинтест® составила 96,2%, ложноотрицательный ответ с учётом также сомнительной реакции наблюдали в 3,8% случаев у больных с ограниченным туберкулёзным поражением лёгочной ткани. Наиболее чувствительным Диаскинтест® оказался у больных инфильтративным туберкулёзом лёгких, а также при распространённых процессах и процессах с наличием распада лёгочной ткани, т. к. именно в этих случаях гиперергическая реакция на Диаскинтест® составила более 80%.

Во 2-й группе (впервые выявленные неактивные посттуберкулёзные изменения после спонтанно излеченного первичного туберкулёза – очаг Гона) средний размер инфильтрата на пробу Манту с 2 ТЕ ППД-Л составил $11,29 \pm 1,5$ мм, по результатам Диаскинтеста® – $1,0 \pm 0,7$ мм, $p < 0,001$. Сомнительная реакция на пробу Манту с 2 ТЕ ППД-Л при отсутствии активности туберкулёзного процесса встречалась только у 1 (14,3%) пациента, у 6 (85,7%) человек была зарегистрирована положительная реакция различной степени выраженности (выраженная у 1 человека, умеренная – у 5). Реакция на Диаскинтест® в этой группе была отрицательной у 6 человек (85,7%), у 1 (14,3%) пациента – сомнительной. Совпадение результатов кожной реакции на пробу Манту и Диаскинтест® составило 14,3% (оба ответа сомнительные), в остальных случаях при положительной реакции на пробу Манту отмечали отрицательный результат на Диаскинтест® (85,7%).

Таким образом, при определении активности впервые выявленных посттуберкулёзных изменений Диаскинтест® оказался более информативным, чем проба Манту с 2 ТЕ ППД-Л, т. к. его специфичность в данном случае составила 100%, а туберкулиновой пробы Манту – 14,3%.

В 3-й группе (нетуберкулёзные заболевания) реакция на пробу Манту с 2 ТЕ ППД-Л у всех 13 больных была положительная, при этом низкая туберкулиновая чувствительность отмечена у 2 человек, умеренная – у 7, выраженную и гиперергическую имели по 2 человека; средний размер инфильтрата составил $13,38 \pm 0,98$ мм. Результаты Диаскинтеста® были следующими: средний размер инфильтрата – $1,15 \pm 0,87$ мм ($p < 0,001$), отрицательный результат – 84,6% (11 больных), положительный (11 мм папула) и сомнительный (4 мм папула) по 7,7% (по 1 больному). В двух последних случаях первоначально был диагностирован туберкулёз, проводилась противотуберкулёзная терапия без эффекта, в последующем диагноз верифицирован морфологически (оба пациента оперированы): были диагностированы врождённый порок развития бронхов, нейроэндокринный рак вилочковой

железы, т. е. в обоих случаях результат Диаскинтеста® был ложноположительным.

Таким образом, специфичность Диаскинтеста® составила 84,6%, ложноположительный результат наблюдался в 15,4% случаев.

Заключение

Высокая чувствительность (96,2%) и специфичность (84,6%) Диаскинтеста® позволяет использовать его при проведении комплексного обследования в условиях специализированного стационара у пациентов с клинико-рентгенологическими признаками туберкулёза органов дыхания, способствуя сокращению сроков диагностики и дифференциальной диагностики в наиболее сложных диагностических случаях. У пациентов с впервые выявленными посттуберкулёзными изменениями Диаскинтест® с высокой степенью достоверности позволяет исключить активность процесса.

ДЛЯ КОРРЕСПОНДЕНЦИИ:

Овсянкина Елена Сергеевна

ЦНИИ туберкулёза РАМН, доктор медицинских наук,
профессор, зав. детско-подростковым отделом.
107564, Москва, Яузская аллея, д. 2
Тел.: 8 (499) 785-90-05.

ЛИТЕРАТУРА

1. Губкина М. Ф. Диагностика и дифференциальная диагностика туберкулёза органов дыхания у детей и подростков без обнаружения микобактерий при выявлении заболевания: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. – М., 2004. – С. 41.
2. Инструкция по применению ДИАСКИНТЕСТ Аллерген туберкулёзный рекомбинантный в стандартном разведении, раствор для внутрикожного введения. – Утв. главным государственным санитарным врачом РФ 19.06.2008 г. № 01-11/99-08.
3. Киселёв В. И., Барановский П. М., Рудых И. В. и др. Клинические исследования нового кожного теста ДИАСКИНТЕСТ для диагностики туберкулёза // Пробл. туб. – 2009. – № 2. – С. 1-8.
4. Кожная проба с препаратом Диаскинтест (аллерген туберкулёзный рекомбинантный 0,2 мкг в 0,1 мл раствор для внутрикожного введения) для идентификации туберкулёзной инфекции // Пособие для врачей. – М., 2009. – 31 с.
5. Кузьмина И. К. Значение гиперергической чувствительности к туберкулину в диагностике туберкулёза органов дыхания и формировании групп риска у детей и подростков: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. – М., 2009. – С. 28.
6. Литвинов В. И., Словоцкий Л. В., Сельцовский П. П. и др. Новый кожный тест для диагностики туберкулёзной инфекции // Рос. мед. журнал. – 2009. – № 1. – С. 1-4.
7. Приказ Минздрава России № 109 от 21.03.2003 г. «О совершенствовании противотуберкулёзных мероприятий в Российской Федерации».

Поступила 19.10.09