



Л.А. Шовкун, И.М. Франчук, Е.Д. Кампос, А.В. Константинова, О.В. Ильина

ИННОВАЦИОННЫЕ ТЕХНОЛОГИИ В ИММУНОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКЕ ТУБЕРКУЛЕЗА У КОНТАКТНЫХ ЛИЦ ИЗ ОЧАГОВ ТУБЕРКУЛЕЗНОЙ ИНФЕКЦИИ

*Ростовский государственный медицинский университет,
Кафедра туберкулеза*

Россия, 344022, Ростов-на-Дону, пер. Нахичеванский 29. E-mail: Lshovkun@mail.ru

Цель: сравнительная оценка эффективности пробы Манту с 2 ТЕ ППД-Л, Диаскинтеста®, QuantiFERON®TB Gold для идентификации активной и латентной туберкулезной инфекции у контактных лиц.

Материалы и методы: в исследование включены 220 человек из очагов туберкулезной инфекции. Всем контактным одновременно проводили пробу Манту с 2 ТЕ ППД-Л и пробу с Диаскинтестом®. Тест in vitro QuantiFERON®TB Gold осуществлялся перед постановкой внутрикожных проб. Статистическую обработку данных проводили на персональном компьютере с использованием программы Statistica 6,0 в системе Windows XP.

Результаты: проба Манту с 2 ТЕ ППД-Л достоверно не отличалась у лиц с активным туберкулезом, остаточными посттуберкулезными изменениями и латентной туберкулезной инфекцией. Диаскинтест® и QuantiFERON®TB Gold имели статистически значимые различия в зависимости от группы обследуемых.

Заключение: проба Манту с 2 ТЕ ППД-Л имеет низкую чувствительность и специфичность, недостаточно эффективна для выявления активной и латентной туберкулезной инфекции. Использование Диаскинтеста® и теста QuantiFERON®TB Gold позволяет выявить и идентифицировать туберкулезную инфекцию как активную, так и латентную.

Ключевые слова: туберкулез, проба Манту с 2 ТЕ ППД-Л, Диаскинтест®, QuantiFERON®TB Gold.

L.A. Shovkun, I.M. Franchuk, Ye.D. Kampos, A.V. Konstantinova, O.V. Ilyina

INNOVATIVE TECHNOLOGIES IN THE IMMUNOLOGICAL DIAGNOSIS OF TUBERCULOSIS IN CONTACTS OF THE CENTERS OF TUBERCULOSIS INFECTION

*Rostov State Medical University,
Department of tuberculosis*

29 Nakhichevanskiy st., Rostov-on-Don, 344022, Russia. E-mail: Lshovkun@mail.ru

Purpose: comparative estimation of the efficacy of Mantoux test with 2 TE PPD-L, Diaskintest®, and QuantiFERON®TBGold for identification of active and latent tuberculosis infection at contact persons.

Materials and Methods: the study included 220 people from tuberculosis infection foci. All contact persons underwent the Mantoux test with 2 TE PPD-L and the Diaskintest®. The in vitro QuantiFERON®TBGold test was done before the intracutaneous probes. The statistical manipulation of the obtained data was performed using the Statistica 6.0 package under Windows XP.

Results: the Mantoux test with 2 TE PPD-L was reliably not distinguished for persons with active tuberculosis, residual posttuberculosis changes, and latent tuberculosis infections. Diaskintest® and QuantiFERON®TBGold possessed statistically significant differences depending on the investigated group.

Summary: the Mantoux test with 2 TE PPD-L has low sensitivity and specificity, and not effective enough to detect active and latent tuberculosis infection. The usage of Diaskintest® and QuantiFERON®TBGold allows to detect and identify tuberculosis infection both active and latent.

Key words: tuberculosis, Mantoux test 2 TE PPD-L, Diaskintest®, QuantiFERON®TBGold.



Актуальность темы

В XXI в. туберкулёз остаётся глобальной проблемой для всего человечества. Это тяжёлое заболевание ежегодно уносит тысячи жизней, оставаясь одной из главных причин высокой смертности от инфекционных заболеваний [1,2]. Российская Федерация относится к тем странам, где регистрируется высокий уровень заболеваемости туберкулёзом. В настоящее время отмечается рост заболеваемости туберкулёзом с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ) к основным противотуберкулёзным препаратам, которые наиболее эффективны в лечении туберкулёзной инфекции [3].

Несмотря на некоторую стабилизацию распространения туберкулёзной инфекции в нашей стране, в целом, ситуация продолжает оставаться напряжённой, что связано с недостаточно эффективной профилактической работой в общей лечебной сети среди взрослого населения, несвоевременным выявлением тяжёлых клинических форм заболевания, ростом числа больных, выделяющих устойчивые штаммы микобактерий туберкулёза [3,4]. Напряжённая эпидемиологическая ситуация по туберкулёзу обусловлена не только инфекционным, но и социальным характером заболевания, что способствует росту заболеваемости лиц, проживающих в очагах туберкулёза. Наибольшую опасность представляют очаги, расположенные в коммунальных квартирах, общежитиях, домах гостиничного типа, потому что в таких очагах к контактным лицам относятся не только непосредственно проживающие с больным родственники, но и соседи, жители домов, которые расположены в общем дворе [4,5].

В этих условиях особенно актуальным является вопрос выявления туберкулёза у контактных лиц в очагах туберкулёзной инфекции. В настоящее время высок риск заражения в очагах туберкулёза, потому что увеличивается число скрытых источников инфекции, а также нарастают агрессивные свойства возбудителя – высокая вирулентность, лекарственная устойчивость. Наибольший риск заражения туберкулёзом сохраняется у лиц, находящихся в тесном семейном контакте с больными туберкулёзом, особенно хроническими формами, постоянными бактериовыделителями, в том числе, со множественной лекарственной устойчивостью микобактерий туберкулёза. Одной из причин высокой заболеваемости в очагах является отказ от обследования и профилактического лечения контактных лиц, нарушение ими гигиенических и эпидемиологических требований. Большую эпидемическую опасность источников инфекции подтверждает высокий уровень заболеваемости туберкулёзом лиц из контактов с больными, особенно бактериовыделителями. По данным разных авторов, заболеваемость лиц из очагов туберкулёзной инфекции выше в 40-50 раз, поэтому важнейшей задачей фтизиатрии в сложившейся ситуации является предотвращение и своевременное выявление случаев заболевания туберкулёзом среди лиц, проживающих в очагах туберкулёза [3,4,6].

В связи с этим, разработка и внедрение в практику новых методов иммунологической диагностики туберкулёза, в том числе, латентной туберкулёзной инфекции, а также не инвазивных методик, является актуальной задачей фтизиатрии.

До недавнего времени кожный туберкулиновый тест (проба Манту с 2 ТЕ ППД-Л) был единственным доступным методом диагностики латентной туберкулёзной инфекции. Среди детского и подросткового населения по-

становку пробы Манту с 2ТЕ ППД-Л проводят ежегодно. Пробу Манту с 2ТЕ ППД-Л следует применять и у взрослых контактных лиц из очагов туберкулёзной инфекции, по результатам которой осуществлять отбор для более глубокого обследования на туберкулёз [6]. Однако данная проба определяет лишь наличие или отсутствие туберкулёзной инфекции в организме, не подтверждая активный туберкулёз. У многих инфицированных лиц наблюдается отрицательная проба Манту с 2ТЕ ППД-Л. К этой группе относятся больные с нарушениями в иммунном статусе. У некоторых обследуемых, которые с высокой долей вероятности не являются инфицированными *M. tuberculosis*, выявляется высокая чувствительность к туберкулину и положительные реакции на туберкулиновый кожный тест после вакцинации бациллой Calmette-Guérin (BCG), после инфицирования микобактерией, отличной от комплекса *M. tuberculosis*, или же в силу других неопределённых факторов.

Недостаточная эффективность пробы Манту с 2ТЕ ППД-Л обусловлена низкой чувствительностью и специфичностью, в связи с чем долгое время велся интенсивный поиск антигенных детерминант, присущих только *M. tuberculosis* и позволяющих дифференцировать вакцинальный иммунитет, развивающийся в результате вакцинации БЦЖ-М, иммунные реакции на непатогенные микобактерии и инфекцию вызванную *M. tuberculosis*. Обнаружить антигены, свойственные только *M. tuberculosis*, удалось лишь после завершения исследования по первичной структуре генома *M. tuberculosis*. Было установлено, что *M. tuberculosis* кодирует синтез двух секреторных белков ESAT-6 и CFP-10, которые отсутствуют у *M. bovis* и большинства непатогенных микобактерий. Новый препарат, разработанный группой специалистов НИИ молекулярной медицины Московской Медицинской Академии им. И.М. Сеченова, получил название ДИАСКИНТЕСТ®. Препарат представляет собой рекомбинантный белок CFP-10 - ESAT-6, продуцируемый *Escherichia coli*, предназначен для выявления гиперчувствительности замедленного типа [7]. Высокая чувствительность и специфичность Диаскинтеста® позволяет использовать кожную пробу с препаратом для проведения дифференциальной диагностики и уточнения активности туберкулёзных изменений [7,8]. Согласно исследованиям [7], при уточнении активности туберкулёзного процесса кожная проба с препаратом Диаскинтест® является эффективней пробы Манту с 2 ТЕ ППД-Л.

Новый иммунологический тест является доступным методом диагностики латентной туберкулёзной инфекции. Высокая чувствительность и специфичность Диаскинтеста® обуславливает его применение в группах высокого риска, в частности, в очагах туберкулёзной инфекции [9].

Однако использование Диаскинтеста® ограничено в тех случаях, когда у пациента диагностированы различные аллергические и кожные заболевания, а также недавно перенесённые инфекционные заболевания. Поэтому очевидно, что необходимо разрабатывать новые методы диагностики, которые были бы лишены недостатков кожных туберкулиновых тестов.

Одной из последних разработок в области диагностики туберкулёзной инфекции является тест QuantiFERON®-TB Gold. QuantiFERON®-TB Gold является косвенным тестом на присутствие инфекции *M. tuberculosis* (латентную туберкулёзную инфекцию, включая саму болезнь).

Данный тест основан на количественном определении интерферона INF-γ, высвобождаемого сенсибилизиро-



ванными Т-клетками, стимулированными *in vitro* специфическими АГ (ESAT-6, CFP-10, RD11) *M. tuberculosis*. Отсутствие необходимости контакта пациента с туберкулиновым антигеном позволяет использовать данный тест у пациентов с риском развития аллергической реакции.

Для выявления клеточного ответа используются антигены возбудителя, не содержащиеся в бацилле Calmette-Guerin (BCG). Таким образом, использование данного теста может гарантировать отсутствие перекрестных реакций и как следствие, ложноположительных случаев диагностики как в случае использования кожного туберкулинового теста.

Цель исследования - сравнительная оценка эффективности пробы Манту с 2 ТЕ ППД-Л, Диаскинтеста®, QuantiFERON®TB Gold для идентификации активной и латентной туберкулезной инфекции у контактных лиц.

Материалы и методы

Исследование проводилось на базе ГБУ РО «Противотуберкулезный клинический диспансер» Ростовской области в 2014-2015 гг. В соответствии с поставленной целью и задачами в исследование были включены 220 человек, имевшие контакты с больными активным туберкулезом легких в очаге туберкулезной инфекции.

Всем участникам одновременно проводили пробу Манту с 2 ТЕ ППД-Л и пробу с Диаскинтестом®. В левое предплечье вводили 0,1 мл (2 ТЕ) стандартного очищенного туберкулина ППД-Л, в правое предплечье – 0,1 мл (0,2 мкг) препарата Диаскинтест®. Результаты проб учитывали через 72 часа и оценивали согласно инструкции. Забор крови для проведения теста *in vitro* QuantiFERON®TB Gold осуществлялся перед постановкой внутрикожных проб во избежание бустерного эффекта. Тест QuantiFERON®TB Gold считали сомнительным при значении от 0 до 0,35 МЕ/мл, положительным при значении выше 0,35 МЕ/мл, гиперэргическим при значении >10,0 МЕ/мл.

Статистическую обработку полученных данных проводили на персональном компьютере с использованием компьютерной программы Statistica 6,0 в системе Windows XP.

Рассчитывали среднее значение исследуемых показателей М (для абсолютных величин) и Р (для относительных величин), среднее квадратичное отклонение Q, ошибку репрезентативности для средних значений величин mM, ошибку репрезентативности для интенсивных показателей mP. Уровень статистической значимости различий (р) для абсолютных и относительных величин определяли с помощью теста Краскала-Уоллиса. Различия считались достоверными при значении $p < 0,05$.

При проверке результатов пробы Манту с 2ТЕ ППД-Л через 72 часа, они оказались следующими: из 220 человек у 10 проба была отрицательной, у 18 – сомнительной, у 174 – положительной, у 18 – гиперэргической.

Результаты Диаскинтеста® отличались от результатов пробы Манту с 2ТЕ ППД-Л. При проверке результатов было выявлено 145 отрицательных результатов, 4 – сомнительных, 64 – положительных, 6 – гиперэргических.

Тест QuantiFERON®TB Gold показал следующие результаты: отрицательных – 141, сомнительных – 5, положительных – 67 и 4 – гиперэргических.

Всем контактным было проведено флюорографическое обследование, в результате которого выявлено 19 (8,6% ± 1,9) человек, у которых были рентгенологические признаки активной туберкулезной инфекции.

Всем контактным, имевшим сомнительные положительные и гиперэргические результаты пробы Диаскинтеста® (74 (33,8% ± 3,2) человека), проводили обследование методом спиральной компьютерной томографии, которая выявила 32 человек (14,7 ± 2,4%), имевших рентгенологические признаки активной туберкулезной инфекции, и 15 человек (6,9 ± 1,7%) с остаточными посттуберкулезными изменениями.

Низкий процент выявления активной туберкулезной инфекции методом флюорографии по сравнению с методом спиральной компьютерной томографии, объясняется тем, что разрешающие возможности флюорографического метода обследования не позволяют выявить малые процессы.

Анализ частоты результатов иммунологических проб представлен в табл. 1.

Таблица 1

Результаты иммунологических проб у контактных лиц из очагов туберкулезной инфекции (n=220)

№	Результат	Иммунологический тест (%)		
		проба Манту с 2ТЕ ППД-Л	Диаскинтест®	QuantiFERON®TBGold
1	Отрицательный	**4,5 ± 1,4*	66,2 ± 3,2*	**64,4 ± 3,2
2	Сомнительный	**8,1 ± 1,8*	1,8 ± 0,9*	**2,2 ± 1,0
3	Положительный	**79,3 ± 2,7*	29,0 ± 3,1*	**31,3 ± 3,1
4	Гиперэргический	**8,1 ± 1,8*	3,0 ± 1,2*	**2,1 ± 1,0

* – уровень статистической значимости различий показателей внутри группы – $p < 0,05$

** – уровень статистической значимости различий показателей между основной группой и группой сравнения – $p < 0,05$

У 2 человек (0,5 ± 0,4%), имевших отрицательную реакцию на Диаскинтест®, были выявлены признаки активного туберкулезного процесса, у прочих обследованных из этой группы патологических изменений выявлено не было. Отсутствие положительной реакции на Диаскинтест® у лиц с активной туберкулезной инфекцией – явление отрицательной анергии – возникает у больных с выраженными нарушениями иммунного статуса.

У лиц с активным туберкулезом органов дыхания (34 человека) удельный вес отрицательных результатов пробы Манту с 2ТЕ ППД-Л составил 8,8 ± 4,9 % (3 человека), Диаскинтеста® 5,8 ± 4,0 % (2 человека), QuantiFERON®TB Gold 5,8 ± 4,0 % (2 человека), удельный вес гиперэргических результатов – 14,7 ± 6,1 % (5 человек), 23,5 ± 7,3 % (8 человек), 20,5 ± 6,9% (7 человек) соответственно. Больший удельный вес гиперэргических реакций по результатам проб Диа-



скинтест® и QuantiFERON®TB Gold свидетельствует о более высокой чувствительности и специфичности этих тестов по сравнению с реакцией Манту.

У лиц с остаточными посттуберкулезными изменениями (15 человек) отмечено отрицательных результатов пробы Манту с 2ТЕ ППД-Л у $13,3 \pm 9,1\%$ (2 человека), Диаскинтеста® - у $20,0 \pm 10,7\%$ (3 человека), QuantiFERON®TB Gold - у $33,3 \pm 12,6\%$ (5 человек). Частота гиперэргических реакций по результатам пробы Манту составила $20,0 \pm 10,7\%$ (3 человека), Диаскинтеста® - $6,7 \pm 6,7\%$ (1 человек), 0% - QuantiFERON®TB Gold. Снижение частоты гиперэргических реакций по результатам Диаскинтеста® и теста QuantiFERON®TB Gold у лиц с остаточными изменениями перенесенного туберкулеза свидетельствует об угасании

иммунного ответа и может быть критерием активности процесса (табл. 2).

У лиц, не имевших рентгенологических признаков активного или неактивного туберкулеза (171 человек), удельный вес отрицательных реакций составил: на пробу Манту с 2ТЕ ППД-Л - $2,3 \pm 1,1\%$ (4 человека), на Диаскинтест $81,3 \pm 3,0\%$ (139 человек), на QuantiFERON®TB Gold - $77,8 \pm 3,2\%$ (133 человека); удельный вес гиперэргических реакций $5,8 \pm 1,8\%$ (10 человек), 0%, 0% соответственно. Отсутствие гиперэргических реакций на Диаскинтест® и тест QuantiFERON®TB Gold у контактных лиц, не имевших рентгенологических признаков активного или неактивного туберкулеза, свидетельствует об эффективности этих тестов для выявления как активной, так и латентной туберкулезной инфекции.

Таблица 2

Результаты иммунологических проб в зависимости от данных рентгенологического обследования

№	Иммунологический тест	Активный туберкулез	Неактивный туберкулез	Норма
1	Проба Манту с 2ТЕ ППД-Л (папула, мм)	$12,4 \pm 0,6$	$10,8 \pm 0,04$	$11,8 \pm 0,02$
2	Диаскинтест® (папула, мм)	$14,0 \pm 0,08^*$	$11,0 \pm 0,02^*$	$4,0 \pm 0,01^*$
3	QuantiFERON®TB Gold (МЕ/мл)	$7,6 \pm 0,9^*$	$4,2 \pm 0,5^*$	$0,6 \pm 0,3^*$

* – уровень статистической значимости различий показателей внутри группы – $p < 0,05$

** – уровень статистической значимости различий показателей между основной группой и группой сравнения – $p < 0,05$

Таким образом, результаты пробы Манту с 2ТЕ ППД-Л достоверно не отличались у лиц имевших признаки активного туберкулеза, остаточных посттуберкулезных изменений и не имевших патологических изменений по результатам лучевой диагностики, в то время как результаты Диаскинтеста® и QuantiFERON®TB Gold имели статистически значимые различия в зависимости от группы обследуемых. Обнаружена прямая коррелятивная связь между размером папулы на Диаскинтест® и количественным результатом QuantiFERON®TB Gold ($r = 0,64$, $p < 0,001$) у лиц с активным туберкулезом, при этом связи между размером папулы на пробу Манту с 2ТЕ ППД-Л и результатами Диаскинтеста® и QuantiFERON®TB Gold обнаружено не было. У пациентов с остаточными посттуберкулезными изменениями и не имевших патологических изменений также не было выявлено коррелятивной связи между количествен-

ными результатами иммунологических проб.

Выводы

Проба Манту с 2ТЕ ППД-Л имеет низкую чувствительность и специфичность, вследствие чего недостаточно эффективна для выявления активной и латентной туберкулезной инфекции.

Использование Диаскинтеста® и теста QuantiFERON®TB Gold значительно эффективнее, чем проба Манту с 2ТЕ ППД-Л, позволяет выявить и идентифицировать туберкулезную инфекцию как активную, так и латентную.

Рекомендовать внедрение в практику использования Диаскинтеста® и теста QuantiFERON®TB Gold для обследования контактных лиц из очагов туберкулезной инфекции для своевременной диагностики туберкулеза.

ЛИТЕРАТУРА

1. EuroTB. Surveillance of tuberculosis in Europe: report on tuberculosis cases notified in 2003. Saint-Maurice, Institut de Veille Sanitaire, 2005 (http://www.eurotb.org/rapporst_2003.htm, accessed 7 August 2006).
2. Global tuberculosis control: surveillance, planning, financing. Geneva, WHO, 2006 (WHO/HTM/2006.326)
3. Шилова М.В. Эпидемическая обстановка по туберкулезу в Российской Федерации к началу 2009 г. // Туберкулез и болезни органов дыхания. – 2010. - № 5 – с. 14-21
4. Мордык А.В., Пузырева Л.В. Заболеваемость туберкулезом контактных лиц в очагах туберкулезной инфекции на территории Омской области // Сибирское медицинское обозрение. – 2013. - № 5. – с. 52-55
5. Корначев А.С., Семин Н.А., Голубев Д.Н. Роль современных факторов в эпидемическом процессе туберкулеза в России // Эпидемиология и вакцинопрофилактика – 2007. - № 1 – с. 16-2
6. Федеральный закон № 77-ФЗ «О предупреждении распространения туберкулеза в Российской Федерации» от 18.06.2001 г.
7. Кожная проба с препаратом «Диаскинтест» – новые возможности идентификации туберкулезной инфекции. Под ред. М.А. Пальцева. Москва, «Медицина», 2010, С.14.
8. Медников Б.Л., Слогодская Л.В. Кожная проба с препаратом ДИАСКИНТЕСТ® (аллерген туберкулезный рекомбинантный 0,2 мкг в 0,1 мл раствор для внутрикожного введения) для идентификации туберкулезной инфекции. Пособие для врачей. Москва, 2009, 28 с.
9. Приказ Министерства Здравоохранения № 951 от 29.12.2014 года «Об утверждении методических рекомендаций по совершенствованию диагностики и лечения туберкулеза органов дыхания»