

Д.Т.Леви<sup>1</sup>, А.С.Позднякова<sup>2</sup>, И.В.Бабченко<sup>3</sup>

## Диаскинтест® в диагностике и дифференциальной диагностике туберкулезной инфекции

1 – ГУО "Белорусская медицинская академия последипломного образования", кафедра фтизиопульмонологии: 220714, Минск, ул. П.Бровки, 3;

2 – ФГБУ "Государственный научно-исследовательский институт стандартизации и контроля медицинских биологических препаратов" Минздравсоцразвития России: 119002, Москва, пер. Сивцев Вражек, 41;

3 – ГУ "РНПЦ пульмонологии и фтизиатрии": 220035, Республика Беларусь, Минск, Долгиновский тракт, 157

*D.T.Levi, A.S.Pozdnyakova, I.V.Babchenok*

## Use of Diaskintest® for diagnosis and differentiation of TB infection

### Summary

Experience of application of Diaskintest® has been presented in this article. Diaskintest is a new medical tool for diagnosis and differentiation of TB infection. Sensitivity and specificity of Diaskintest were studied in an experimental research and a clinical trial. A comparative analysis of responses to the Diaskintest vs tuberculin in 70 children and adolescents both TB patients and healthy persons vaccinated with BCG was done.

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

### Резюме

Представлены результаты оценки эффективности использования нового диагностического препарата Диаскинтест® для диагностики и дифференциальной диагностики туберкулезной инфекции. Проведено экспериментальное и клиническое исследование по изучению чувствительности и специфичности препарата, 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, больные туберкулезом.

Период эпидемического неблагополучия по туберкулезу всегда характеризуется ухудшением структуры клинических форм туберкулеза. На современном этапе у детей это проявляется ростом внелегочных форм туберкулеза с преобладанием менингита, поражения костно-суставной системы и периферических лимфатических узлов [1–3]. Многие авторы отмечают также и рост БЦЖ-осложнений с более частыми проявлениями их в виде БЦЖ-оститов и БЦЖ-лимфаденитов [4–6]. Туберкулезное поражение и БЦЖ-осложнения с данной локализацией требуют своевременной диагностики для определения правильной тактики лечения. Однако своевременная дифференциальная диагностика затруднительна, что связано не только со схожестью клинико-морфологических признаков туберкулеза и БЦЖ-осложнений, но и со сложностью интерпретации результата туберкулиновой пробы Манту, которая на протяжении долгого времени является единственным методом ранней диагностики туберкулезной инфекции. Сенсибилизация организма вакцинированного ребенка антигенами БЦЖ или патогенных штаммов микобактерий туберкулеза проявляется в обоих случаях как положительный ответ на пробу. По этой же причине затруднительно и раннее выявление туберкулеза на этапе первичного инфицирования по результату туберкулиновой пробы Манту с 2 ТЕ очищенного туберкулина ППД-Л [2, 4, 6, 7].

Одним из направлений оптимизации ранней диагностики и дифференциальной диагностики туберкулеза является использование специфичных для *Mycobacterium tuberculosis* антигенов. Сравнительный анализ и расшифровка геномов разных видов микобактерий позволили исследователям выделить у *M. tuberculosis* область RD1, которая отсутствует у штамма БЦЖ. В этой области *M. tuberculosis* кодируется синтез 2 секреторных белков ESAT-6 (*early secreted antigenic target*) и CFP-10 (*culture filtrate protein*). В лаборатории биотехнологии НИИ молекулярной медицины ММА им. И.М.Сеченова совместно с ЗАО "Мастерклон" был разработан на основании этих пептидов новый генно-инженерный комплексный реагент ESAT-6/CFP-10, который выявляет гиперчувствительность замедленного типа при инфицировании организма патогенным штаммом комплекса *M. tuberculosis* и не вызывает реакции у вакцинированных БЦЖ. На основании этих исследований фармацевтической фирмой "Лекко" был освоен выпуск препарата Диаскинтест® (аллерген туберкулезный рекомбинантный в стандартном разведении).

### Материалы и методы

На базе Государственного института стандартизации и контроля медицинских биологических препаратов им. Л.А.Тарасевича проводилось экспериментальное

изучение чувствительности и специфичности Диаскинтеста. Животные (морские свинки альбиносы массой  $350 \pm 50$  г) содержались в одинаковых условиях окружающей среды и на постоянном пищевом рационе. Их сенсибилизацию проводили путем заражения 19-дневной культурой вирулентного штамма *M. tuberculosis* H37Rv подкожно в область внутренней поверхности бедра (по 0,1 мг микобактерий в 0,2 мл 0,9%-ного раствора хлорида натрия на 1 животное), этой же культурой, убитой нагреванием (по 0,5 мг в 0,2 мл неполного адьюванта Фрейнда на 1 животное внутрикожно в 2 места), или вакцинацией БЦЖ (по 0,5 мг в 0,4 мл 0,9%-ного раствора хлорида натрия на 1 животное внутрикожно в 4 места).

Свинок использовали для постановки проб в период 30–40 сут. после сенсибилизации. За 24 ч до постановки туберкулиновых проб шерсть на спине или боках морских свинок удаляли сплошной полосой шириной 3–4 см. Препараты – туберкулин и Диаскинтест – вводили внутрикожно в объеме 0,1 мл, кодируя шприц с препаратом и место укола на животном. Реакцию учитывали через 24 ч, после чего расшифровывали кодирование эксперимента.

Клиническое исследование по изучению чувствительности и специфичности препарата проводилось на базе детско-подросткового отделения НИИ пульмонологии и фтизиатрии МЗ Республики Беларусь и Минского областного противотуберкулезного диспансера. Были обследованы 70 пациентов в возрасте от 1 года до 18 лет, которые были разделены на 4 группы: 1-я группа – 35 больных туберкулезом детей и подростков; 2-я группа – 21 инфицированный микобактериями туберкулеза ребенок или подросток, находящиеся в контакте с больным туберкулезом; 3-я группа – 6 детей с предполагаемым диагнозом БЦЖ-осложнения; 4-я группа – 9 детей раннего возраста с предварительным диагнозом первичное инфицирование микобактериями туберкулеза (выраж туберкулиновой реакции).

Каждому пациенту с уже известным результатом пробы Манту в поверхностный слой кожи внутренней поверхности левого предплечья вводили по 0,1 мл раствора Диаскинтест в стандартном разведении, содержащего 0,2 мкг в 1 дозе. Результат учитывали через 72 ч согласно прилагаемой к препарату инструкции. Чувствительность и специфичность нового диагностического препарата определяли при сравнительной оценке результатов постановки Диаскинтеста и пробы Манту с 2 ТЕ туберкулина в различных группах пациентов.

## Результаты и обсуждение

По результатам экспериментальных исследований было установлено, что препарат безвреден, не токсичен, не обладает сенсибилизирующими свойствами. Исследование чувствительности Диаскинтеста проводили на животных, зараженных вирулентным штаммом микобактерий туберкулеза, которым вводили эквивалентные дозы туберкулина и Диаскинтеста (табл. 1). Реакция на туберкулин появлялась

в более ранние сроки после заражения, что вполне объяснимо тем фактом, что туберкулин содержит практически весь спектр антигенов микобактерий туберкулеза, а Диаскинтест только 2 антигена. Через 4 нед. после заражения ответная реакция стала равнозначной, зависимость доза–эффект также была практически одинаковой для обоих препаратов. Использование низких доз показало, что реакция зараженных животных на 0,2 мкг Диаскинтеста равна по размерам реакции на 2 ТЕ туберкулина, что позволяет сделать вывод о высокой чувствительности обоих коммерческих препаратов.

Изучение специфичности Диаскинтеста проводили на БЦЖ-вакцинированных морских свинках с использованием высоких (20 мкг) и низких (0,2 мкг) доз Диаскинтеста и 2 ТЕ туберкулина. Все 6 животных реагировали на туберкулин положительно и не давали реакции ни на низкую, ни на высокую дозы Диаскинтеста. Полученные результаты позволяют сделать заключение о высокой специфичности этого препарата. Интересно отметить, что морские свинки, сенсибилизированные убитой нагреванием культурой *M. tuberculosis* H37Rv, отвечали на введение 2 ТЕ туберкулина реакцией, соответствующей по размеру (8–12 мм) реакции на эту дозу у животных, зараженных живыми клетками этого штамма. Реакция на эквивалентную дозу Диаскинтеста была отрицательной, а на очень высокую (20 мкг) – сомнительной или слабоположительной.

Клиническое исследование по изучению чувствительности препарата проводилось с участием 35 пациентов. В структуре клинических форм туберкулеза преобладал инфильтративный туберкулез – у 20 человек (57,1 %), было зарегистрировано по 3 случая очагового туберкулеза (8,4 %), первичного туберкулезного комплекса (8,4 %) и туберкулеза внутригрудных лимфатических узлов (8,4 %), по 2 случая диссеминированного туберкулеза (5,7 %), туберкулеза почек (5,7 %) и туберкулезного плеврита (5,7 %). Все больные туберкулезом дети и подростки находились на стационарном лечении, однако имели различный период развития туберкулезного процесса, т. е. находились в различных фазах основного курса противотуберкулезного лечения (интенсивная фаза, фаза продолжения и фаза окончания основного курса лечения – клиническое излечение туберкулеза). Начальный этап – интенсивную фазу противотуберкулезного лечения – проходили 23 пациента, 3 из них с ВИЧ-ассоциированным туберкулезом. Анализ

**Таблица 1**  
**Ответная реакция вакцинированных, зараженных и сенсибилизированных животных на Диаскинтест и туберкулин ППД-Л**

Группы животных	Реакция на туберкулин ППД-Л	Реакция на Диаскинтест
БЦЖ-вакцинированные	положительная	отрицательная
Зараженные <i>M. tuberculosis</i> H37Rv	положительная	отрицательная
Сенсибилизированные убитой культурой <i>M. tuberculosis</i> H37Rv	положительная	отрицательная

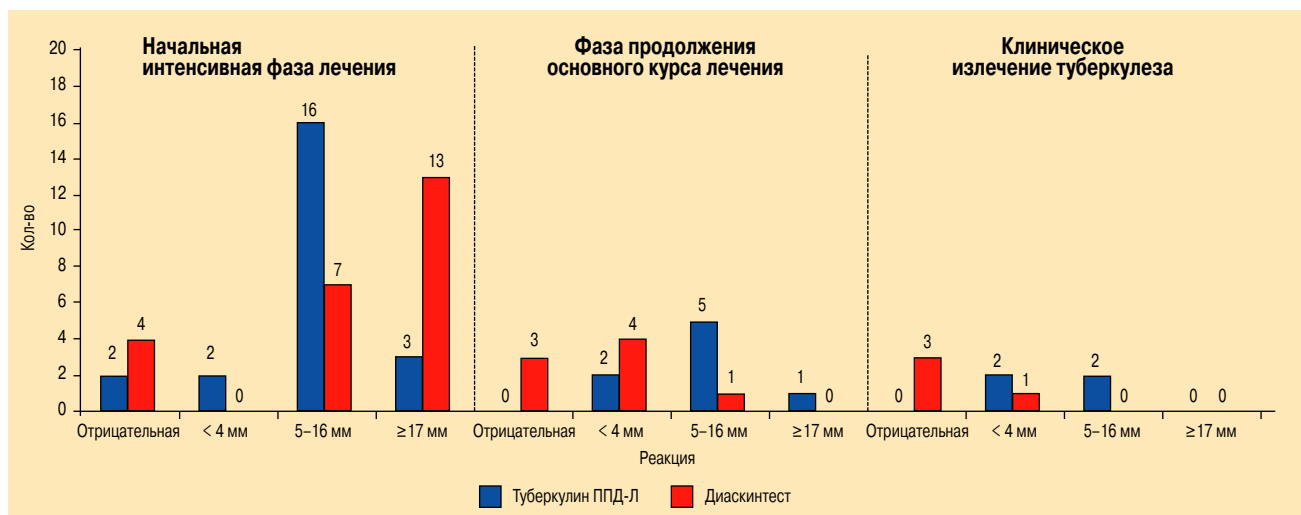


Рисунок. Результаты постановки Диаскинтеста и пробы Манту у больных, находившихся в различных фазах основного курса лечения

ответной реакции показал, что у данной категории больных преобладает гиперергическая реакция на Диаскинтест ( $> 17$  мм) — у 13 пациентов (56,5 %), в то время как на туберкулин — только у 3 (13,0 %) (рисунок). При ответе на туберкулин преобладала реакция размером от 5 до 16 мм — у 16 больных (69,5 %). Реакция такого размера на Диаскинтест отмечена только у 7 пациентов (30,4 %). Больных с сомнительным ответом на Диаскинтест на начальном этапе лечения зарегистрировано не было, на туберкулин сомнительной реакцией в виде гиперемии ответили 2 (8,6 %). Отрицательный ответ на Диаскинтест имели 4 пациента, находившиеся в начальной фазе интенсивной терапии, 3 из них — с ВИЧ-ассоциированным туберкулезом. Один больной с диагнозом очаговый туберкулез, получавший в течение месяца интенсивную противотуберкулезную терапию, на Диаскинтест реагировал отрицательно. Это побудило нас к проведению контрольного рентгенологического обследования больного, которое засвидетельствовало полное рассасывание воспалительных изменений в легких, что позволило снять диагноз туберкулез. Диагностика очагового туберку-

леза, который относится к малой форме туберкулеза из-за зачастую слабо выраженных клинко-морфологических проявлений специфического поражения, всегда вызывает у фтизиатров определенное затруднение. Отсутствие явных, характерных для туберкулеза клинко-рентгенологических данных, часто требует проведения противотуберкулезной тест-терапии, что создает дополнительную медикаментозную нагрузку на растущий организм ребенка. В описываемом случае применение Диаскинтеста помогло избежать такого негативного влияния и поставить правильный диагноз — пневмония.

В группе детей, которые находились в фазе продолжения основного курса лечения по поводу активного туберкулеза (8 пациентов) или имели клинически излеченный туберкулезный процесс (4 человека), преобладали отрицательный ответ на Диаскинтест или сомнительная реакция (гиперемия) — у 6 (50,0 %) и 5 (41,7 %) пациентов соответственно. Это указывало на угасание или отсутствие активности туберкулезного процесса. Следует отметить, что пациенты с клинически излеченным туберкулезом, также как и больные на этапе окончания основного курса

Таблица 2  
Результативность внутрикожных проб с Диаскинтестом и с туберкулином ППД-Л

Категория	Препарат	Внутрикожная реакция					
		Гиперергическая ( $\geq 17$ мм)	Положительная (15–16 мм)	Положительная (10–14 мм)	Положительная (5–9 мм)	Сомнительная (2–4 мм)	Отрицательная
Больные туберкулезом ( $n = 35$ )	Диаскинтест	12 ( $34,3 \pm 8,0$ )	5 ( $14,3 \pm 5,9$ )	3 ( $8,6 \pm 4,7$ )	2 ( $5,7 \pm 3,9$ )	7 ( $20,0 \pm 6,7$ )	6 ( $17,1 \pm 6,3$ )
	туберкулин	2 ( $5,7 \pm 3,9$ )	5 ( $14,3 \pm 5,9$ )	16 ( $45,7 \pm 8,4$ )	5 ( $14,3 \pm 5,9$ )	5 ( $14,3 \pm 5,9$ )	2 ( $5,7 \pm 3,9$ )
$p$		$< 0,01$		$< 0,001$			
Тубинфицированные ( $n = 17$ ) ( $n = 21$ )	Диаскинтест	1 ( $5,9 \pm 5,8$ )	0	3 ( $17,6 \pm 9,5$ )	2 ( $11,8 \pm 8,0$ )	7 ( $41,2 \pm 12,3$ )	4 ( $23,5 \pm 10,6$ )
	туберкулин	1 ( $5,9 \pm 5,8$ )	2 ( $11,8 \pm 8,0$ )	7 ( $41,2 \pm 12,3$ )	6 ( $35,3 \pm 11,0$ )	3 ( $17,6 \pm 9,5$ )	0
$p$		$< 0,05$					
Дети с БЦЖ-осложнениями ( $n = 6$ )	Диаскинтест	0	0	0	0	2 ( $33,3 \pm 21,0$ )	4 ( $66,7 \pm 21,0$ )
	туберкулин	1 ( $16,7 \pm 16,6$ )	1 ( $16,7 \pm 16,6$ )	3 ( $50,0 \pm 22,3$ )	1 ( $16,7 \pm 16,6$ )	0	0
$p$		$< 0,05$		$< 0,01$			
Дети с неустановленным характером туберкулиновой аллергии ( $n = 11$ )	Диаскинтест	0	0	4 ( $36,4 \pm 15,2$ )	0	2 ( $18,2 \pm 12,2$ )	5 ( $45,5 \pm 15,7$ )
	туберкулин	3 ( $27,3 \pm 14,0$ )	5 ( $45,5 \pm 15,7$ )	1 ( $9,1 \pm 9,0$ )	2 ( $18,2 \pm 12,2$ )	0	0
$p$		$< 0,01$		$< 0,01$			

лечения, реагировали на Диаскинтест отрицательной или сомнительной реакцией, что достоверно отличается от результатов пробы Манту (табл. 2). На туберкулин у 7 (58,3 %) из 12 пациентов этой группы зарегистрирована нормергическая реакция, отрицательной реакции не отмечалось.

Все тубинфицированные дети из контакта с больным туберкулезом также имели ответ на Диаскинтест, однако он проявлялся у большей части детей (54,0 %) сомнительной реакцией (< 5 мм) (табл. 2). Гиперергическая реакция (20 мм) была зарегистрирована только у 1 ребенка 10 лет из туберкулезного очага смерти (мать ребенка 3 мес. назад умерла от туберкулеза с множественной лекарственной устойчивостью) и совпадала с гиперергическим ответом на туберкулин. Такой ответ на оба препарата определил необходимость проведения дополнительного обследования ребенка и комплексной химиопрофилактики с использованием 2 противотуберкулезных препаратов в сочетании с иммуномодулятором.

В группе тубинфицированных детей нормергический ответ на Диаскинтест имели 5 человек (23,8 %), в то время как на туберкулин такая реакция отмечалась в 3 раза чаще — у 15 (71,4 %). Выраженную нормергическую реакцию (14–16 мм) на туберкулин имели 9 детей с диагнозом инфицирование микобактериями туберкулеза, что определяло необходимость проведения им повторного курса химиопрофилактики. На Диаскинтест такая реакция была только у 3 детей. Применение Диаскинтеста позволило сократить число пациентов, нуждающихся в повторном курсе превентивной терапии, до 3 человек. Отрицательно реагирующих на туберкулин среди тубинфицированных детей не было, однако на Диаскинтест не отвечали 4 ребенка (23,5 %), что позволило избежать проведения им химиопрофилактики. Учитывая существенную разницу в реакции на Диаскинтест у тубинфицированных и больных туберкулезом детей и подростков, данный тест может быть использован при обследовании на туберкулез детей из групп риска (контактных с больными туберкулезом и тубинфицированными лицами), а также для отбора детей и подростков для проведения химиопрофилактики и, особенно, для повторного ее курса в условиях контакта с больными туберкулезом.

Обследование лиц с осложнениями на БЦЖ-вакцинацию выявило у 2 из 6 обследованных детей положительную реакцию на Диаскинтест. Это были дети в возрасте 3 и 4 лет, прооперированные по поводу левостороннего подмышечного лимфаденита. Лимфаденит был выявлен у них при обследовании по поводу выража туберкулиновой реакции, который проявлялся гиперергической реакцией на туберкулин, что предполагало возможность развития у них периферического туберкулезного лимфаденита на фоне тубинфицирования. У 4 детей в возрасте до 2 лет реакция на Диаскинтест была отрицательной, что указывало на поствакцинальную чувствительность к туберкулину с развитием осложнений на прививку БЦЖ в виде регионарного левостороннего подмышечного лимфаденита.

У 11 детей раннего возраста (группа дифференциальной диагностики) решался вопрос о первичном инфицировании микобактериями туберкулеза и необходимости назначения химиопрофилактики, причем 3 из них — с использованием 2 противотуберкулезных препаратов в связи с гиперергической реакцией на туберкулин.

При постановке Диаскинтеста отрицательная реакция была засвидетельствована у 5 из 11 детей (45,5 %), что позволило не назначать им химиопрофилактику. В анамнезе 3 детей была отмечена пищевая и медикаментозная аллергия. У 2 из них получена положительная реакция на Диаскинтест, что свидетельствовало об инфицировании микобактериями туберкулеза. У годовалого ребенка с аллергическим фоном в анамнезе и с гиперергической реакцией на туберкулин реакция на Диаскинтест была отрицательной. Это обстоятельство, по-видимому, указывает на поствакцинальный характер гиперчувствительности замедленного типа к туберкулину и отсутствие инфицирования микобактериями туберкулеза.

## Заключение

1. Полученные данные свидетельствуют о высокой степени чувствительности препарата Диаскинтест® (аллерген туберкулезный рекомбинантный в стандартном разведении): все зараженные вирулентным штаммом микобактерий животные в эксперименте и все больные туберкулезом при клиническом исследовании реагировали на Диаскинтест положительно.
2. У больных туберкулезом детей с активными проявлениями заболевания (начальная интенсивная фаза лечения) отмечалась выраженная (15–24 мм) реакция на Диаскинтест, в 40 % случаев она была гиперергической (папула — 17–24 мм).
3. Больные туберкулезом с длительным (4–6 мес.) противотуберкулезным лечением и клинически излеченным туберкулезом реагировали на Диаскинтест сомнительной (гиперемия или папула 3–5 мм) или отрицательной реакцией.
4. Иммунокомпрометированные больные с ВИЧ-ассоциированным туберкулезом при постановке Диаскинтеста дают отрицательный результат.
5. Реакция на Диаскинтест у тубинфицированных детей менее выражена, чем у больных туберкулезом.
6. Дети, вакцинированные БЦЖ и неинфицированные микобактериями туберкулеза, а также дети с осложнениями на прививку БЦЖ на Диаскинтест не реагируют.

Таким образом, новый диагностический препарат Диаскинтест является высоко информативным и может быть использован для ранней диагностики туберкулеза и определения его активности, а также для дифференцирования поствакцинальной и инфекционной гиперчувствительности замедленного типа, дифференциальной диагностики туберкулеза и осложнений на прививку БЦЖ.

## Литература

1. Аксенова В.А. Инфицированность и заболеваемость туберкулезом детей, как показатель общей эпидемиологической ситуации по туберкулезу в России. Пробл. туберкулеза 2002; 1: 6–9.
2. Васильева Е.Б., Мосина А.В. Клиническая и эпидемиологическая характеристика туберкулеза у детей раннего возраста. Пробл. туб. и бол. легких 2008; 11: 24–28.
3. Мушкин А.Ю. Костно-суставной туберкулез: современная ситуация и прогноз. Пробл. туб. и бол. легких 2007; 1: 13–16.
4. Аксенова В.А., Мушкин А.Ю., Коваленко К.Н. и др. БЦЖ-оститы у детей: эпидемиологические показатели некоторых регионов Российской Федерации. Пробл. туб. и бол. легких 2007; 1: 9–12.
5. Васильев А.В. Детский туберкулез – отражение проблем современности. Пробл. туб. 1995; 5: 3–5.
6. Позднякова А.С., Гуревич Г.Л., Скрыгина Е.М., Гуз Р.А. Туберкулез у детей раннего возраста. В кн.: VIII Съезд педиатров РБ: Сборник науч. трудов. Минск; 2006.
7. Король О.И., Лозовский М.Э. (ред.). Туберкулез у детей и подростков: Руководство. СПб.: Питер; 2005.

## Информация об авторах

Леви Диана Тимофеевна – д. м. н., проф., зав. лабораторией микобактериальных препаратов ГНИИ стандартизации и контроля медицинских биологических препаратов им. Л.А.Тарасевича; тел. (499) 241-44-49; e-mail: levidt@mail.ru

Позднякова Анастасия Семеновна – к. м. н., доцент кафедры фтизиопульмонологии Белорусской медицинской академии последипломного образования, глав. внештатный фтизиопедиатр Министерства здравоохранения Республики Беларусь; тел. (375-17) 265-20-91, факс (375-17) 231-20-45; e-mail: info@belmapo.by

Бабченко Ирина Васильевна – врач детского отделения РНПЦ пульмонологии и фтизиатрии; тел.: (375-17) 289-89-54, факс: (375-17) 289-89-50; e-mail: niipulm@users.med.by

Поступила 09.09.10

© Коллектив авторов, 2010

УДК 616.24-002.5-078