

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ИНСТИТУТ ФТИЗИОПУЛЬМОНОЛОГИИ» МИНИСТЕРСТВА
ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

Ананьев
Семен Михайлович

**ДИАГНОСТИКА ЛАТЕНТНОЙ ТУБЕРКУЛЕЗНОЙ
ИНФЕКЦИИ У ДЕТЕЙ С ПРИМЕНЕНИЕМ
ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ ТЕСТОВ НОВОГО ПОКОЛЕНИЯ**

14.01.16 – фтизиатрия

Диссертация
на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
доктор медицинских наук А.А. Старшинова

Санкт-Петербург
2017

О Г Л А В Л Е Н И Е

ВВЕДЕНИЕ	4
Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	12
1.1. Туберкулез у детей: изменение эпидемических показателей за последние десять лет	12
1.2. Иммунологические методы диагностики туберкулеза у детей.....	15
1.3. Диагностика латентной туберкулезной инфекции у детей...	21
Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	27
2.1. Общая характеристика пациентов.	34
2.2. Методы исследования.....	34
2.2.1 Сбор анамнеза и оценка клинической симптоматики.....	35
2.2.2 Иммунологические методы.....	40
2.2.3 Методы этиологической диагностики.....	41
2.2.4 Комплекс лучевого обследования.....	42
2.2.5 Методы статистического анализа.....	42
Глава 3. ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ У ДЕТЕЙ С ЛАТЕНТНОЙ ТУБЕРКУЛЕЗНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ.....	44
3.1. Выявление латентной туберкулезной инфекции у вакцинированных против туберкулёза детей с положительной пробой Манту с 2 ТЕ.....	44
3.2. Выявление индивидуальных иммунологических параметров у детей с латентной туберкулезной инфекцией.....	48
Глава 4. ВЛИЯНИЕ ФАКТОРОВ РИСКА НА РАЗВИТИЕ ТУБЕРКУЛЕЗА У ДЕТЕЙ С ЛАТЕНТНОЙ ТУБЕРКУЛЕЗНОЙ ИНЕКЦИЕЙ.....	55

4.1. Выявление наиболее значимых факторов риска развития туберкулеза у детей с латентной туберкулезной инфекцией.....	55
4.2. Алгоритм выявления и наблюдения детей с ЛТИ в условиях общей лечебной сети и противотуберкулезных учреждений	63
4.3. Результаты дискриминантного анализа усовершенствованного алгоритма диагностики латентной туберкулезной инфекции.....	75
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	79
ВЫВОДЫ.....	88
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	89
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	90
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	91

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность исследования. Показатель заболеваемости туберкулезом у детей является важным прогностическим фактором, отражающим общую эпидемическую ситуацию по туберкулезу в регионе и чутко реагирующим на ее изменение [2, 5, 13, 29].

Заболеваемость туберкулезом детского населения в России стала расти с 1989 года, когда показатель составлял 7,5 на 100 тысяч детского населения [43, 64]. К 2014 году показатель заболеваемости достиг 13,2 на 100 тысяч детского населения и имеет тенденцию к стабилизации [29].

Выявление специфического процесса у детей в фазе кальцинации и обратного развития (58%) свидетельствует о поздней диагностике туберкулеза и о низкой информативности пробы Манту с 2 ТЕ как основного метода раннего выявления туберкулеза [34], что особенно важно на этапе диспансерного обследования и наблюдения [59, 72].

Традиционно для скринингового обследования детского населения на туберкулез в Российской Федерации используется кожный туберкулиновый тест, который в современных условиях массовой вакцинации БЦЖ, при повышенной аллергизации детей, при распространенности сопутствующей патологии не позволяет дать оценку истинной активности туберкулезной инфекции и качественно провести дифференциальную диагностику характера аллергии [4, 11, 53, 88]. Доказано, что информативность туберкулинодиагностики как метода раннего выявления и определения активности туберкулезной инфекции не превышает 19%-24%, по данным разных авторов [13, 19, 22, 40, 47]. Применение пробы Манту с 2 ТЕ в диагностике туберкулеза у детей позволяет выявить заболевание только в 48,1% случаев [51, 55, 58, 60].

Исследования последних лет свидетельствуют о высокой информативности иммунологических тестов (пробы с аллергеном

туберкулезным рекомбинантным, ELISPOTa, QuantiFERON®-TB Gold) в диагностике туберкулеза, а также в дифференциальной диагностике поствакциной и инфекционной аллергий, что особенно важно в условиях проведения вакцинопрофилактики [19, 78, 90, 114, 115].

В настоящее время требуется широкое внедрение современных методов иммунологической диагностики в общей лечебной сети и их дальнейшее изучение для определения показаний к применению у детей с латентной туберкулезной инфекцией и с сопутствующей патологией. Сохраняющаяся высокая распространенность туберкулезной инфекции в стране требует изменения подхода в наблюдении и обследовании детей как в общей лечебной сети, так и в противотуберкулезных учреждениях с возможностью применения надежных методов ранней диагностики туберкулезной инфекции, своевременного назначения комплексного обследования и адекватного профилактического лечения с учетом всех факторов риска, что и определило актуальность проведения данного исследования.

Степень разработанности темы исследования. В последние годы в мире были приняты рекомендации по диагностике и лечению латентной туберкулезной инфекции (ЛТИ), где выявление состояния латентного микробизма после встречи человека с туберкулезной инфекцией в странах с высоким и средне уровнем достатка базируется на применении IGRA-тестов (QuantiFERON®-TB Gold, ELISPOTa), обладающих высокой диагностической чувствительностью и специфичностью в сравнении с пробой Манту с 2 ТЕ (ВОЗ, 2014). В Российской Федерации с 2009 года внедрен аллерген туберкулезный рекомбинантный (АТР) (Овсянкина Е.С., 2013; Довгалоук И.Ф., 2015; Барышникова Л.А., 2016), изучение информативности которого проводится в том числе в сравнении с QuantiFERON®-TB Gold, который зарегистрирован в РФ только в 2012 году (Слогоцкая Л.В., 2014).

Полученные результаты исследований позволяют предположить, что внедрение пробы с АТР и IGRA-тестов в общей лечебной сети для выявления ЛТИ у детей в условиях массовой противотуберкулезной вакцинации, позволят сформировать четкое представление об уровне распространения туберкулезной инфекции у детей. В настоящее время подобных исследований не проводилось.

Актуальным вопросом для научного поиска является выявление дополнительных прогностических критериев развития туберкулеза у детей с ЛТИ. Исследования в данном направлении только начинаются.

Цель исследования - совершенствование диагностики латентной туберкулезной инфекции у детей с применением иммунологических тестов нового поколения.

Задачи исследования:

- 1) определить частоту выявления латентной туберкулезной инфекции (ЛТИ) с использованием иммунологических тестов нового поколения в условиях массовой вакцинации детей против туберкулеза.
- 2) выявить особенности иммунологических показателей у детей с латентной туберкулезной инфекцией и активным туберкулезом.
- 3) провести анализ факторов риска и определить наиболее значимые из них при развитии активного туберкулеза у детей с латентной туберкулезной инфекцией.
- 4) усовершенствовать алгоритм диагностики латентной туберкулезной инфекции у детей с применением иммунологических тестов нового поколения и с учетом факторов риска в условиях общей лечебной сети и на этапе диспансерного наблюдения.

Научная новизна исследования. Впервые на статистически значимом материале установлено, что в условиях массовой вакцинации против туберкулеза и при низкой специфичности пробы Манту с 2 ТЕ латентная туберкулезная инфекция (ЛТИ) выявляется при применении пробы с аллергеном туберкулезным рекомбинантным (АТР) при слабовыраженной, средней интенсивности и выраженной реакциях на туберкулин в 14,3%, в 21,4% и в 25,0% случаев соответственно. Определена группа детей с ожирением и аллергической патологией, у которых в 50-60% случаев по пробе с АТР могут быть получены ложноположительные результаты, что требует применения у них альтернативных методов - IGRA – тестов (QFT и ELISPOTa). Наиболее значимыми факторами риска по развитию туберкулеза у детей с латентной туберкулезной инфекцией являются контакт с больным туберкулезом (ratio risk (RR) = 1,55), наличие сопутствующей патологии (RR = 1,36) и отсутствие курса превентивной терапии (RR = 1,45). Латентная туберкулезная инфекция и активный туберкулез органов дыхания у детей сопровождаются снижением функции нейтрофилов, при этом у детей с ЛТИ отмечается повышение уровня цитокинов (IL-2, IL-4, TNF- α ; IFN- γ), стимулированных специфическим антигеном, и относительного количества CD 25⁺ лимфоцитов.

Теоретическая и практическая значимость. На основании полученных данных и результатов проведенного статистического анализа материала исследования доказана необходимость применения пробы с АТР в качестве скринингового метода для выявления латентной туберкулёзной инфекции в условиях массовой вакцинации детей против туберкулеза. У детей с ожирением и аллергологической патологией при диагностике ЛТИ необходимо применение IGRA-тестов (QFT и ELISPOTa) ввиду высокого риска получения ложноположительных результатов по пробе с АТР. Дети из контакта с больным туберкулезом, имеющие сопутствующую патологию на

фоне ЛТИ, являются группой высокого риска по развитию туберкулезной инфекции, что требует назначения им превентивного курса терапии двумя препаратами на 6 месяцев. Изменение показателей иммунного ответа, характеризующееся повышением уровня цитокинов (IL-2, IL-4, TNF- α ; IFN- γ), стимулированных специфическим антигеном, и субпопуляций CD 95+ лимфоцитов на фоне незавершенного фагоцитоза, может служить дополнительным критерием для назначения превентивного курса терапии у детей с ЛТИ.

Методология и методы исследования. При подготовке и проведении исследования была использована стандартная для диссертационного исследования методология, была обоснована актуальность темы, определены цели и задачи исследования. С целью решения поставленных задач проведен анализ данных анамнеза, сопутствующей патологии, клинических, иммунологических и рентгенологических методов. Полученные данные были подвергнуты статистической обработке. Исследование является ретроспективно-проспективным. Результаты исследования основаны на данных, полученных при обследовании 654 вакцинированных против туберкулеза детей с положительными результатами пробы Манту с 2 ТЕ.

Основные положения, выносимые на защиту.

1. Применение пробы Манту с 2ТЕ в условиях массовой вакцинации против туберкулеза приводит к гиподиагностике латентной туберкулезной инфекции при слабовыраженной (7,9%) и средней (40,1%) интенсивности реакций на туберкулин, а также к гипердиагностике - при выраженной реакции на туберкулин (48,0%), а также к позднему выявлению туберкулеза в 87,4% случаев, что требует внедрения пробы с АТР в качестве скринингового метода для раннего выявления ЛТИ.

2. Положительные результаты пробы с АТР подтверждаются результатами ELISPOTа и QFT в 73,5% и в 84,7% случаев соответственно. Наличие сопутствующей аллергологической патологии и ожирения является причиной ложноположительных результатов по пробе с АТР в 50-60% случаев, что требует применения IGRA-тестов (ELISPOT и QFT) у данной группы детей.
3. Латентная туберкулезная инфекция сопровождается снижением показателей фагоцитарной активности нейтрофилов на фоне повышения уровня продукции цитокинов (IL-2, TNF- α , IFN- γ), стимулированных специфическим антигеном, и относительного количества субпопуляций CD 95+ лимфоцитов, что может служить дополнительными критериями при назначении превентивного курса терапии.
4. Дети с латентной туберкулезной инфекцией, которые имеют контакт с больным туберкулезом и сопутствующую патологию, а также не получают превентивный курс терапии, составляют группу высокого риска развития туберкулеза.

Внедрение результатов работы в практику. Основные положения диссертации внедрены в практику работы поликлинического отделения ФГБУ «СПб НИИФ» Минздрава России, противотуберкулезные диспансеры Комитета по здравоохранению Администрации г. Санкт-Петербурга (№12, №17 и №5), ГБУЗ «Противотуберкулезный диспансер Калининградской области», ГОБУЗ «Мурманский областной противотуберкулезный диспансер», а также учебный процесс кафедры педиатрии и неонатологии ФГБОУВО «СЗ ГМУ им. И.И. Мечникова» Минздрава России.

Апробация работы. По результатам исследования опубликована 21 научная работа (11 публикаций - в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки России, 3 - в международных изданиях).

Основные положения диссертации доложены и обсуждены на на II, III, IV и V конгрессах «Национальной Ассоциации Фтизиатров» (г. Санкт-Петербург, 2013, 2014, 2015, 2016), на научно-практической конференции «От эпидемиологии к диагностике инфекционных заболеваний: подходы, традиции, инновации» (г. Москва, 2014); на Всероссийском конгрессе по детским инфекциям (г. Санкт-Петербург, 2014), на международном конгрессе союза по борьбе с туберкулезом и заболеваниями легких (Барселона, Испания, 2014); на XVIII международной медико-биологической конференции молодых исследователей «Фундаментальная наука и клиническая медицина - человек и его здоровье» (г. Санкт-Петербург, 2015); на Днях иммунологии в Санкт-Петербурге (г. Санкт-Петербург, 2015), на VIII съезде фтизиатров и пульмонологов Узбекистана (г. Ташкент, 2015), на VII Ежегодном Всероссийском конгрессе по инфекционным болезням с международным участием (г. Москва, 2015), на X Российском съезде фтизиатров «Туберкулез в России: год 2015» (г. Воронеж, 2015), на Европейском респираторном конгрессе (Амстердам, Нидерланды, 2015); на IV Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Актуальные вопросы профилактики, диагностики и лечения туберкулеза у детей и подростков» (г. Ялта, 2016), на 7-ой конференции Union Europe Region (г. Братислава, 2016).

Личный вклад автора. Автор лично выполнил набор, обследование и наблюдение всех детей, включенных в исследование, принимал непосредственное участие в проведении иммунологических и рентгенологических исследований. Лично автором проведена статистическая обработка, анализ и интерпретация материала, представленного в диссертации. При непосредственном участии автора подготовлены основные публикации и сделаны доклады на научно-практических мероприятиях.

Объем и структура диссертации. Диссертационная работа состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов, собственных результатов исследования, заключения, выводов и практических рекомендаций, а также списка литературы. Работа изложена на 112 страницах, содержит 17 таблиц, иллюстрирована 11 рисунками и клиническими примерами. Список литературы включает 79 отечественных источников и 101 зарубежный.

ГЛАВА 1

Обзор литературы

1.1 Туберкулез у детей: изменение эпидемических показателей за последние годы

В XXI веке туберкулез по-прежнему остается важной международной и национальной проблемой и, представляя серьезную угрозу для общества, наносит колоссальный урон человечеству. Туберкулез является одной из ведущих причин смертности от инфекционных заболеваний [73, 91, 173].

По данным ВОЗ, туберкулезом болеет более миллиона человек в год, так в 2014 году впервые заболевание было диагностировано у 9,6 миллионов человек, а 1,5 миллиона умерло от туберкулезной инфекции. Плотность ежегодных выявлений новых случаев туберкулеза - 22 страны, что, согласно ВОЗ, составляет 80 % всех новых случаев заболевания туберкулезом [92, 170].

Туберкулез остается сложной медико-экономической и медико-биологической проблемой во всех странах мира, в том числе и в России. Это связано с ростом заболеваемости туберкулезом не только в развивающихся странах, но и в экономически развитых. В настоящее время туберкулез является недооцененной проблемой здравоохранения [32, 39, 61, 66, 160, 161].

По данным ВОЗ, туберкулез - заболевание, которое было почти ликвидировано в Западной Европе и США, в настоящее время находится на подъеме. Ежегодно в индустриально развитых странах регистрируется около 400 тысяч новых случаев заболевания и 40 тысяч смертей от него. В 45 странах ежегодно выявляется до 8 миллионов человек, заболевших туберкулезом [91, 150].

Рост смертности от туберкулеза связан с распространением ВИЧ-инфекции. Так у ВИЧ - позитивных лиц в 2013 году показатель заболеваемости туберкулезом любой формы составил 7,5 миллионов (от 7,4 до 7,7 миллионов) человек, распространенность заболевания составила 11,9 миллионов случаев (от 11,6 до 12,2 миллионов), а количество смертей - 1,4 миллиона человек (от 1,3 до 1,5 миллионов). Число смертей от туберкулеза является недопустимо большим, учитывая, что большинство из них возможно было предотвратить [179].]

Сложившаяся эпидемиологическая ситуация обусловлена следующими факторами: ростом числа заболевших туберкулезом, вызванным микобактериями, устойчивыми к противотуберкулезным препаратам, увеличением количества среди заболевших ВИЧ-инфицированных индивидов, социально-экономической нестабильностью, ростом социально-незащищенных групп населения (беженцев, вынужденных переселенцев, лиц, прибывших из мест лишения свободы, и без определенного места жительства, неработающего населения); ростом среди населения сопутствующих патологий (сахарного диабета, язвенной болезни желудка, наркомании), недостаточной настороженностью в отношении туберкулеза медицинских работников общей лечебной сети и низким охватом населения флюорографией [43, 48, 66, 152].

Особенное значение имеет заболеваемость туберкулезом детей, которая в настоящее время имеет тенденцию к стабилизации [20, 29, 64, 65, 69].

Показатель заболеваемости туберкулезом детей в возрасте от 0 до 14 лет уменьшился на 7,7% (2013 год – 14,3; 2014 год – 13,2 на 100 000 детей). Среди заболевших детей от 0 до 14 лет преобладают лица в возрасте 7-14 лет (49,0%) и 3-6 лет (37,6%). Показатель заболеваемости туберкулезом детей

раннего возраста (от 0 до 2 лет) составил 13,4% на 100 000 тысяч населения. Таким образом, заболеваемость детей в возрасте до 1 года составила 4,1 на 100 000 детей, от 1-2 лет – 9,2; от 3-4 лет – 19,3; от 5-6 лет – 16,2; от 7-14 лет – 13,5 на 100 000 детей соответствующего возраста. Показатель заболеваемости туберкулезом у детей в возрасте 15-17 лет также уменьшился (на 12,6%) в 2014 году по сравнению с 2013 годом (с 31,8 до 27,8 на 100 000 детей) [64].

За последние 5 лет изменилась возрастная структура заболевших туберкулезом детей: увеличилось число детей раннего и дошкольного возраста, уменьшилось число детей старше школьного возраста. В структуре клинических форм по-прежнему преобладает туберкулез внутригрудных лимфатических узлов, однако растет число осложнённых форм заболевания с бактериовыделением, в половине случаев с лекарственной устойчивостью возбудителя, что свидетельствует о наличии скрытого бациллярного ядра и о низком уровне раннего выявления заболевания [5, 8, 21, 27, 35, 37, 45, 49, 57, 76, 77]. Улучшение мероприятий по раннему выявлению туберкулезной инфекции является мощным средством профилактики осложненных и прогрессирующих форм туберкулеза у детей, которые необходимо совершенствовать на этапе их наблюдения в общей лечебной сети и в противотуберкулезном диспансере [29, 44].

Многие авторы указывают на снижение первичного инфицирования МБТ детей в возрасте от 0 до 17 лет (2005 год – 1 065,7; 2013 год – 745,1; 2014 год – 627,2 на 100 000 детей). Существенно уменьшилось количество взятых на учет заболевших детей в возрасте от 0 до 17 лет с гиперергическими пробами Манту с 2 ТЕ (2005 год – 207,7; 2013 год – 137,3; 2014 год – 119,7 на 100 000 детей) [75].

Показатель инфицирования МБТ населения является важным при оценке уровня распространенности туберкулезной инфекции в регионе и в стране. Сегодня с внедрением новых иммунологических методов определения

активности туберкулезной инфекции возможно изменить представление о сроках развития поствакцинной аллергии у детей, а значит выявить и определить истинный уровень инфицированных МБТ детей при условии массовой вакцинации БЦЖ новорождённых, а также изменить подходы к наблюдению детского населения в условиях противотуберкулезного диспансера.

1.2 Иммунологические методы диагностики туберкулеза у детей

С момента открытия в 1882 г. Р. Кохом возбудителя туберкулеза началась эпоха поиска путей диагностики этой инфекции. Основным методом раннего выявления туберкулезной инфекции у детей является систематическая (ежегодная) туберкулинодиагностика. Особенностью туберкулеза является то, что заболевание может существовать на разных фазах развития: от момента инфицирования микобактериями туберкулеза до развития заболевания.

В 1907 году австрийский педиатр, получивший образование в ведущих университетах Европы, Клеменс Пирке разработал туберкулиновую пробу с внутрикожным введением туберкулина в различных разведениях и представил его как новый диагностический тест.

В 1908 году уже французский ученый Шарль Манту усовершенствовал тест, разработав внутрикожное введение туберкулина. До настоящего времени проба носит название в честь данного ученого и активно применяется для диагностики туберкулеза.

В 1932 году был произведен очищенный туберкулин, позволивший исключить реакции на другие компоненты данного раствора. С 1965 года проба Манту с 2 (ТЕ) PPD (purified protein derivative), то есть PPD-L - белковый

раствор для внутрикожного введения, с модификацией отечественного ученого М.А. Линниковой внедрен в СССР [53].

Туберкулин является белковым раствором, который не может вызвать инфекционного процесса, а только вызывает специфическую аллергическую реакцию замедленного типа, которая проявляется не ранее чем через 72 часа [28]. В препарате отсутствуют балластные примеси, однако он может содержать их в незначительно-минимальных количествах, что может влиять на результат реакции в первые и вторые сутки от момента введения.

С 1928 года указом советского правительства в рамках мероприятий по борьбе с туберкулезом внедрена вакцинация от туберкулеза новорожденных в качестве профилактики развития остро прогрессирующих форм туберкулеза и менингита у детей раннего возраста, что привело к значительному снижению летальных исходов среди вакцинированных. В 1939 году внедряется массовая туберкулинодиагностика, которая проводится до настоящего времени. Проведенными за последние годы многочисленными исследованиями доказано влияние поствакцинного иммунитета на результаты пробы Манту с 2 ТЕ и вследствие этого на снижение диагностической ценности туберкулиновых проб [23, 46, 55, 59, 87, 145, 175].

С одной стороны, на результаты пробы Манту с 2 ТЕ влияет развитие поствакцинной аллергии, с другой - на чувствительность к туберкулину оказывают влияние особенности иммунного ответа у ребенка, которые меняются в различные периоды развития детского организма, а также в зависимости от наличия сопутствующей патологии [3, 7, 23, 24, 30, 33, 42, 50, 55, 79, 95, 112, 163, 178].

Кожный тест с туберкулином до последних лет являлся единственным методом диагностики туберкулеза [123, 124, 135]. Он и в настоящее время рекомендован в странах с низким уровнем развития [171].

Туберкулиновый тест известен с конца 19 века. Основан на реакции гиперчувствительности замедленного типа в ответ на воздействие специфических белков возбудителя. Туберкулин был принят ВОЗ в 1958 году и содержит в своем составе более 200 антигенов, которые широко распространены среди туберкулезных и нетуберкулезных микобактерий [28]. В результате этого положительный иммунный ответ на введение туберкулина наблюдается у лиц, сенсibilизированных нетуберкулезными микобактериями (НТМ) или вакцинированных БЦЖ [41, 53, 75, 143, 144]. В странах, где проводится вакцинация БЦЖ, осуществить диагностику инфицирования МБТ на основании пробы Манту с 2 ТЕ крайне затруднительно. Применение туберкулина представляет значительные трудности, связанные с субъективным считыванием результатов теста [28, 81, 86, 125, 146, 147, 153, 154, 156].

Основной задачей туберкулинодиагностики является изучение важного показателя - инфицированности микробактериями туберкулеза населения, однако очевидно, что его адекватная оценка с применением пробы Манту с 2ТЕ, по полученным последним данным, является весьма затруднительной [26, 29].

Следующей важной задачей является проведение индивидуальной туберкулинодиагностики с целью ранней диагностики туберкулеза. Разнообразие различных модификаций туберкулиновых проб, применяемых в конце XX и в начале XXI века во фтизиопедиатрической практике (градуированная кожная проба (ГКП), проба Манту в различных разведениях (V (0,1), VI (0,01), VII (0,001), VIII (0,001), которые были разработаны и внедрены с участием сотрудников ФГБУ «СПб НИИФ» Минздрава России Е.А. Астровой и Довгальук И.Ф в середине 90-х годов, продолжили исследования в начале XX века М.Н. Кондакова, Ю.Э. Овчинникова и С.Н. Ефремова. Разработка новых методов туберкулинодиагностики подтверждает

постоянную необходимость поиска в детской фтизиатрии более эффективных методов определения активности туберкулезной инфекции.

Трудность диагностики туберкулеза у детей обусловлена отсутствием возможности верификации диагноза, то есть выявления возбудителя заболевания – микобактерий туберкулеза. Диагноз устанавливается исключительно на основании данных анамнеза, скудной клинической симптоматики, результатов иммунологической диагностики и достаточно спорных рентгенологических изменений во внутригрудных лимфатических узлах, за исключением отложения извести и изменений в легочной ткани [8, 12, 13, 19, 177, 159].

При наличии бактериовыделения диагностика туберкулеза не вызывает трудностей, но это свидетельствует уже о поздней диагностике заболевания [1, 62, 68, 84, 105, 133]. В детской практике выявление микобактерий туберкулеза с внедрением молекулярно-генетических методов стало возможным в 10-12% случаев, что существенно выше по сравнению со стандартными бактериологическими исследованиями [15, 16, 17, 131].

На ранних этапах развития туберкулезной инфекции клинических и рентгенологических проявлений заболевания в организме еще не наблюдается. Отмечается только реакция иммунологических тестов [3, 9, 10, 23, 81, 82, 94]. После попадания микобактерий в организм они распространяются гематогенным путем, что особенно опасно в раннем детском возрасте, так как есть высокий риск развития генерализованных форм заболевания [85, 89, 126, 168].

Иммунодиагностика туберкулеза переживает важный этап: закончился практически безальтернативный столетний период применения туберкулиновых проб для диагностики туберкулеза [53].

За последние годы внедрены в практику новые иммунологические тесты (проба с ATP, QuantiFERON®-TB Gold и ELISPOT), информативность которых при диагностике туберкулеза достаточно высока [18, 31, 148, 149, 157, 174]. Внедрение данных методов в общую лечебную сеть позволит повысить диагностику латентной туберкулезной инфекции с целью своевременного выявления туберкулеза у детей, а также определения групп высокого риска.

Новые методы раннего выявления туберкулезной инфекции разработаны с учетом современных технологий и уже широко применяются за рубежом [97, 98, 99, 104, 107]. Особую популярность получили «QuantiFERON-TB», который определяет уровень интерферона IFN- γ , и T-spot test, определяющий количество сенсibilизированных T-лимфоцитов, способных к продукции IFN- γ . Оба теста проводятся *in vitro* и были зарегистрированы в Российской Федерации только в 2012 году [73, 92].

В многочисленных зарубежных исследованиях сопоставляется эффективность данных тестов по отношению друг к другу, а также проводятся сравнения кожного туберкулинового теста (пробы Манту с 2ТЕ) и иммунологических тестов (QuantiFERON-TB и T-spot тест) по отдельности. В данных исследованиях была доказана высокая информативность IGRA-тестов [132, 139, 141, 143, 144, 148, 149, 157, 174].

В Российской Федерации популярность получил разработанный отечественными учеными, группой специалистов НИИ молекулярной медицины Московской Медицинской Академии им. И.М. Сеченова под руководством академика РАМН и РАН Пальцева М.А. и член-корреспондента РАН профессора Киселева В.И., тест с аллергеном туберкулезным рекомбинантным, проводимый *in vivo*, который был зарегистрирован в 2008 году и стал применяться с 2009 года. В качестве антигена в тесте используются белки ESAT-6 и CFP-10, отсутствующие у *M.bovis BCG*, что в 100% случаев помогает отличить поствакцинальную аллергию от инфекционной [74].

В основе данного теста, как и при пробе Манту с 2 ТЕ, лежит реакция гиперчувствительности замедленного типа. Однако если на чувствительность к туберкулину влияет иммунный ответ на смесь более 200 антигенов *M. tuberculosis*, в том числе и на нетуберкулезные микобактерии, то при проведении пробы с АТР реакция развивается преимущественно на наличие именно *M. tuberculosis complex* [28, 53].

Исследований, где доказана высокая диагностическая значимость пробы с АТР, связанных с изучением информативности иммунологических тестов в диагностике туберкулезной инфекции, а также по сравнению их с кожной туберкулиновой пробой, достаточное количество [4, 14, 20, 56, 63].

Подчеркнута важность дифференцированного подхода к работе фтизиопедиатрической и общей лечебной служб в вопросах профилактики и раннего выявления заболевания [6, 29].

Волчкова И.Л. с соавторами показали необходимость применения пробы с Диаскинтест® при отборе детей и подростков с латентной туберкулезной инфекцией для проведения превентивной терапии [10, 11].

В литературе представлены результаты немногочисленных исследований по сравнению информативности Диаскинтеста® и QuantiFERON-TBGold теста (QFT) в определении активности туберкулезной инфекции у детей. К примеру, Старшиновой А.А. и соавт. (2012) доказано, что диагностическая значимость данных тестов сопоставима между собой. В 95% случаев в диагностике туберкулеза у детей значения пробы с АТР подтверждаются положительными результатами QFT [13, 59].

Таким образом, проведенные исследования позволяют сделать выводы о высокой информативности современных иммунологических тестов (пробы с АТР и QuantiFERON-TBGold) в диагностике туберкулезной инфекции. О высокой диагностической значимости ELISPOT можно судить только по результатам международных исследований. Работ по изучению

информативности данного теста в диагностике туберкулезной инфекции у детей в российской практике нет.

1.3 Диагностика латентной туберкулезной инфекции у детей

Ранняя диагностика туберкулезной инфекции подразумевает прежде всего выявление латентной туберкулезной инфекции (ЛТИ), интерес исследователей к которой возрос в конце XX века. Это объясняется пониманием того, что ЛТИ – резервуар будущего туберкулеза (ТБ). При отсутствии контроля за ЛТИ все усилия по борьбе с туберкулезом становятся бессмысленными [71].

В 2014 году в документе ВОЗ «Руководство по ведению пациентов с ЛТИ» дано определение ЛТИ (latent tuberculosis infection (LTBI)) как состояния иммунного ответа, развивающегося в ответ на стимуляцию *M. tuberculosis* при отсутствии признаков активного туберкулеза.

В настоящее время нет прямого метода измерения *M.tuberculosis* в организме человека. Подавляющее большинство лиц с ЛТИ не имеют никаких признаков или симптомов заболевания, но подвержены риску развития активного туберкулеза (ТБ), что может быть предотвращено путем своевременного выявления заболевания и его профилактического лечения [92, 169, 170, 171, 172, 176].

Риск развития заболевания туберкулезом в течение жизни для лиц с ЛТИ составляет от 5 до 10%, причем у большинства из них туберкулез развивается в течение первых пяти лет с момента инфицирования МБТ. Ежегодное соотношение активного ТБ/ ЛТИ составляет примерно 1:1000. Тем не менее риск развития туберкулеза после инфицирования МБТ зависит от нескольких факторов, наиболее важным из которых является иммунный статус организма [71, 106, 123].

Латентной туберкулезной инфекции (ЛТИ) посвящено достаточное число исследований. Интерес к латентной туберкулезной инфекции объясняется нарастающим пониманием того, что ЛТИ — резервуар будущего туберкулеза, а без контроля над ним все усилия по борьбе с данным заболеванием будут сведены к минимуму [71, 127, 128, 129, 130, 135, 136, 166, 167]. Первые исследования доказали высокий риск возникновения заболевания у контактных лиц взрослого населения, в том числе и среди медицинских работников.

У взрослого населения были выделены группы особого риска, которым необходимо проведение обследования на ЛТИ и которым данное обследование рекомендовано. Так, например, лица с ВИЧ-инфекцией, сотрудники медицинских организаций, лица, получающие заместительную терапию, имеющие иммуносупрессию, контактные лица относятся к группе высокого риска по заболеванию туберкулезом и его развитию [73, 92].

Предложены варианты превентивного лечения ЛТИ, однако споры о наиболее эффективной схеме терапии и сроках ее проведения продолжаются до настоящего времени [96, 100, 102, 122]. Однозначного мнения экспертов по данному вопросу нет. Открытым остается вопрос о ведении детей из контакта с больным туберкулезом с лекарственной устойчивостью возбудителя [79, 162].

Термин "латентная туберкулезная инфекция" в Российской Федерации является новым и рассматривается как инфицирование МБТ, что является дискуссионным, так как встреча с инфекционным агентом может состояться в любой период времени, а проба с АРТ и положительный IGRA –тест показывают положительный результат значительно позже и не у всех пациентов.

Некоторые отечественные фтизиатры являются приверженцами устаревшего термина «туберкулезная интоксикация». В нашей стране в 1987 году, еще при существовании СССР, Янченко Г.Н. и Греймер М.С. диагностировали туберкулезную интоксикацию у детей и подростков, т.е. по классификации безлокальную форму туберкулеза, описали начало заболевания и методы его лечения.

Безлокальная форма туберкулеза у детей и подростков характеризуется отсутствием рентгенологических изменений у ребенка с положительным иммунологическим тестом при наличии симптомов интоксикации, т.е. практически повторяет определение латентной туберкулезной инфекции, за исключением симптомов интоксикации. Следует отметить, что наличие интоксикационного синдрома у детей с туберкулезом встречается достаточно редко. По данным ряда авторов, симптомы интоксикации зарегистрированы в 15,2-36,0% случаев, кроме того, они могут быть обусловлены проявлением часто встречающейся в детском возрасте сопутствующей патологией [19, 59, 166].

Клинически данная форма туберкулёза характеризуется ухудшением общего состояния ребенка (подростка) и выражается в периодическом повышении температуры тела до субфебрильных цифр, в снижении аппетита, появлении нейровегетативных расстройств (повышенной нервной возбудимости или заторможенности, головной боли, тахикардии). Также может снизиться физиологическое нарастание массы тела или возникает ее дефицит. Часто развиваются интеркуррентные заболевания. Характерно наличие микро- и полиадений. Также может отмечаться увеличение печени, значительно реже наблюдается увеличение селезенки. Иногда имеют место изменения со стороны клинического анализа крови в виде лейкоцитоза и повышения СОЭ, сдвига формулы крови влево, эозинофилии, лимфопении, что характерно для острого воспалительного процесса. Перечисленные

признаки могли применяться для диагностики туберкулезной инфекции в эру отсутствия высокоинформативных технологий, к которым относится мультиспиральная компьютерная томография (МСКТ). С введением МСКТ и УЗИ - диагностики стало возможным с высокой степенью достоверности выявить очаг инфекционного процесса [60].

В последних нормативных документах «туберкулезная интоксикация» исключена из классификации туберкулеза [73].

Анализ зарубежной литературы показал, что в мировой практике выявление латентной туберкулезной инфекции базируется на иммунологическом обследовании пациентов из групп риска по развитию туберкулеза с применением IGRA-тестов (QuantiFERON-TB, ELISPOTa), обладающих как более высокой стоимостью, так и более высокой диагностической чувствительностью и специфичностью в сравнении с пробой Манту 2 ТЕ [117, 118, 119, 134, 135].

На сегодняшний день имеется тенденция к переходу на современные технологии раннего выявления туберкулезной инфекции у детей и подростков. С 2014 года ВОЗ [92] рекомендует применение IGRA-тестов в диагностике латентной туберкулезной инфекции (ЛТИ), в США применение IGRA-тестов регламентировано Центром по контролю за качеством [155, 165]. В Российской Федерации подобного опыта еще накоплено недостаточно.

Представляет особый интерес сопоставление полученных результатов новых иммунологических тестов с традиционными методами (пробой Манту 2ТЕ) с целью формирования новых подходов выявления ЛТИ на ранних этапах, а также сравнение достоверности результатов всех иммунологических тестов и оценка динамики IGRA-тестов после проведенного и непроведенного курса превентивной терапии.

Необходимо осуществлять поиск факторов, предрасполагающих к развитию активного туберкулеза у лиц с ЛТИ. Поиск данных маркеров проводится как у взрослых, так и у детей [53, 54, 70, 83, 101, 108, 109, 158].

В детской практике в начале XXI века Н.В. Ставицкая начала поиск иммуногенетических маркеров, предрасполагающих к развитию туберкулеза у детей с ЛТИ. Были выявлены предрасполагающие аллели гена HLA-DRB1 и локуса INT4 NRAMP1. Также доказано, что наиболее неблагоприятным является сочетание варианта G / G в локусе INT4 гена NRAMP1 и аллельных специфичностей *04 и *16 в локусе DRB1 гена HLA.

Многие исследователи проводят поиск иммунологических критериев, позволяющих предсказать переход от ЛТИ к заболеванию туберкулезом, что является важным фактором наблюдения больных и назначения профилактических противотуберкулезных мероприятий [137, 138, 140, 142].

Так, например, в исследовании V. Armand (2014) доказана значимость повышения уровня IP-10, IL-2, IL-5 и IL-13, которые могут служить прогностическими критериями развития туберкулеза у детей [93].

Другая группа исследователей подтверждает прогностическую значимость IL-5 и IL-13, а также указывает на значение ИЛ-9 и ИЛ-17 в диагностике туберкулезной инфекции у детей [109, 113, 106, 120].

В Российской Федерации подобных исследований проводится крайне мало. Однако рядом авторов установлено, что положительные результаты тестов свидетельствуют об активности туберкулезной инфекции, ассоциированы с высокой чувствительностью к туберкулину по пробе Манту с 2ТЕ и сопровождаются повышением определенного уровня индуцированных цитокинов, что можно использовать в качестве дополнительных критериев диагностики туберкулеза [26].

Таким образом, проблема диагностики ЛТИ, поиска наиболее информативных методов диагностики данного состояния, выявление факторов, предрасполагающих к развитию туберкулезной инфекции у определенного контингента пациентов, формирование группы высокого риска является особо актуальной при назначении адекватных профилактических мероприятий и при изменении подходов в работе фтизиатра в общей лечебной сети и в противотуберкулезном диспансере. Данные вопросы послужили поводом для проведения настоящего исследования.

ГЛАВА 2

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

За период с 2013 по 2015 годы было проведено когортное ретроспективно-проспективное исследование с набором клинического материала в детском отделении ГБУЗ «Противотуберкулезный диспансер №5» и в поликлиническом отделении и отделении детской фтизиатрии ФГБУ «СПб НИИФ» Минздрава России. В исследовании проведен анализ клинических, рентгенологических, иммунологических данных 654 детей. Согласно критериям включения, все пациенты в возрасте от 0 до 14 лет были вакцинированы БЦЖ или БЦЖ-М, а также имели положительный результат по пробе Манту с 2 ТЕ. Из анализа исключались дети с отсутствием вакцинации БЦЖ/БЦЖ-М и с доказанным первичным/вторичным иммунодефицитным состоянием.

2.1. Общая характеристика обследованных детей

Распределение обследованных детей по полу и возрасту представлено в таблице 1.

Таблица 1 - Распределение детей по возрасту и полу

Возраст/пол	Мужской (% , n)	Женский (% , n)	Всего (% , n)
0 до 2 лет	51,8(10)	48,2 (28)	5,8 (38)
3 до 6 лет	54,2(117)	45,8 (82)	30,5 (199)
7 до 11 лет	54,3(138)	45,7(150)	44,0 (288)
12 до 14 лет	79,3(61)	20,7 (68)	19,7 (129)
Итого:	49,8 (326)	50,2 (328)	100 (654)

Как видно из таблицы 1, удельный вес обследованных мальчиков и девочек был приблизительно одинаков, в том числе в каждой из возрастных групп. Преобладали пациенты в возрасте от 3 до 6 лет - 199 детей (30,5%) и от 7 до 11 лет – 288 детей (44,0%).

Методы выявления туберкулезной инфекции представлены в таблице 2.

Таблица 2 - Методы выявления туберкулезной инфекции

Методы выявления (% , n)			
туберкулино- диагностика	контакт	жалобы	всего
414 (63,3)	149 (22,8)	91 (13,9)	654 (100)

Согласно данным, представленным в таблице 2, поводом для направления детей к фтизиатру в большинстве случаев являлись результаты туберкулинодиагностики (63,3%), каждый четвертый пациент был обследован в условиях ПТД по контакту с больным туберкулезом (22,8%) и каждый седьмой – обратился к фтизиатру с жалобами (13,9%).

По данным анамнеза сопутствующая патология была у половины детей (359; 54,9%). Спектр сопутствующей патологии представлен на рисунке 1.



Рисунок 1 Сопутствующая патология у детей

У каждого четвертого ребенка отмечался отягощенный аллергологический анамнез (150; 24,0%), и в 23,0% случаев (144) дети часто переносили инфекционные заболевания. Несколько реже встречалась ЛОР-

патология (85; 13,0%), а 85 (13,0%) детей наблюдались у нефролога с патологией мочеполовой системы. В 10,0% (65) случаев отмечались изменения со стороны эндокринной системы и желудочно-кишечного тракта (ЖКТ).

Дети, направленные в противотуберкулезный диспансер (ПТД) и в поликлиническое отделение института, имели различную чувствительность к туберкулину. Анализ результатов чувствительности к туберкулину по пробе Манту с 2 ТЕ представлен в таблице 3.

Таблица 3 - Чувствительность к туберкулину по пробе Манту с 2 ТЕ у детей в разных возрастных группах

Возрастные группы	Чувствительность к туберкулину по пробе Манту 2ТЕ при направлении (n; %)			
	Ранний период инфицирования «вираж»	нарастание	гиперергическая	всего
0 до 2 лет	6 (15,7)	14 (36,8)	18 (47,3)	38 (5,8)
3 до 6 лет	30 (15,0)	80(40,3)	89 (44,7)	199(30,5)
7 до 11 лет	50 (17,4)	158 (54,9)	80 (27,7)	288 (44,0)
12 до 14 лет	30 (23,2)	60 (46,5)	39 (30,3)	129(19,7)
Итого:	116 (17,7)	312 (47,8)	226 (34,5)	654 (100)

Основная часть пациентов была направлена на обследование в противотуберкулезные учреждения с нарастанием чувствительности к туберкулину по пробе Манту с 2ТЕ (47,8%; 312), в возрастной группе от 7 до 11 лет – 158 человек и 226 детей с гиперчувствительностью к туберкулину по

пробе Манту с 2ТЕ (34,5%), в возрастной группе от 3 до 6 лет - 89 (44,7%) пациентов.

Оценка результатов эффективности вакцинации против туберкулеза у детей проводилась по размеру поствакцинального рубца и представлена в таблице 4.

Таблица 4 - Оценка результатов эффективности вакцинации против туберкулеза у детей

Тип вакцины	Эффективная	Неэффективная	Всего
	(n; %)		
БЦЖ-1	387 (59,6%)	55 (8,5%)	442(100%)
БЦЖ-М	129 (19,9%)	78 (12%)	207(100%)
Всего	516 (79,5%)	133 (20,5%)	649(100%)

У пяти направленных в противотуберкулезный диспансер пациентов сведений о вакцинации не было. По результатам проведенного исследования БЦЖ-1 вакцинировано 442 (68,1%) ребенка, БЦЖ-М - 207 (31,9%) детей. Эффективно привито 516 (75,5%) человек, из них 387 (59,6%) - вакциной БЦЖ-1 и 129 (19,9%) - вакциной БЦЖ-М.

Большинство обследованных пациентов было вакцинировано в родильном доме (таблица 5).

Таблица 5 - Проведение вакцинации БЦЖ/БЦЖ-М

Тип вакцины	В родильном доме (n; %)	В поликлинике (n; %)	Всего (n; %)
-------------	-------------------------	----------------------	--------------

БЦЖ-1	394 (60,7%)	48 (7,4%)	442 (68,1%)
БЦЖ-М	185 (28,5%)	22 (3,4%)	207 (31,9%)
Всего	579 (89,2%)	70 (10,9%)	649 (100%)

Из представленной выше таблицы 5 видно, что в поликлиниках вакцинация была проведена у 70 (10,9%) детей, из которых 48 (7,4%) сделана прививка БЦЖ-1, а остальным 22(3,4%) - проведена вакцинация БЦЖ-М.

Оценка соматического статуса физического развития пациентов представлена в таблице 6.

Таблица 6 - Оценка физического развития детей в различных возрастных группах

Возрастные группы	Физическое развитие по соматотипу (n; %)			Всего
	Микро-	Мезо-	Макро-	
0 до 2 лет	8 (21,6)	18 (5,3)	12 (4,3)	38 (5,8)
3 до 6 лет	17 (46)	101 (29,7)	81 (29,2)	199(30,5)
7 до 11 лет	2 (5,4)	146 (43,0)	140 (50,5)	288(44,0)
12 до 14 лет	10 (27,0)	75 (22,0)	44 (16,0)	129(19,7)
Итого	37 (5,6)	340 (52,0)	277 (42,4)	654(100)

Как видно из таблицы 6, у детей во всех возрастных группах преобладал мезосоматический тип. В возрасте от 7 до 11 лет в 50,5% случаев (140) имел место макросоматический тип развития. Значительно реже отмечался микросоматический тип - у 37 детей (5,6% от общего числа).

При осмотре пациентов проведена оценка симптомов интоксикации по

наличию и степени его выраженности (таблица 7).

Таблица 7 - Степень выраженности симптомов интоксикации

Возрастные	Симптомы интоксикации (n; %)			Всего
группы	отсутствуют	умеренно выражены	выражены	n (%)
0 до 2 лет	32 (4,9%)	3 (0,4%)	3 (0,4%)	38 (5,8%)
3 до 6 лет	157 (24%)	15 (2,4%)	27 (4,1%)	199 (30,5%)
7 до 11 лет	143 (21,9%)	76 (11,6%)	69 (10,5%)	288 (44,0%)
12 до 14 лет	75 (11,5%)	38 (5,8%)	16 (2,4%)	129 (19,7%)
Итого:	407 (62,2%)	132 (20,2%)	115 (17,6%)	654 (100%)

По итогам проведенного осмотра в 62,2% (402) случаев симптомы интоксикации отсутствовали, а в дошкольном и школьном возрасте данные симптомы отмечались в 30,5% и 44,0% случаев соответственно. Умеренно выраженные симптомы интоксикации отмечались в 20,2% (132) случаев, чаще всего в возрасте от 7 до 11 лет (11,6%).

Таким образом, туберкулинодиагностика остается ведущим методом раннего выявления туберкулеза (63,9%). В 47,8% случаев дети были направлены на обследование в противотуберкулезный диспансер (ПТД) по поводу нарастания чувствительности к туберкулину. Сопутствующую патологию имела половина детей. Практически все дети вакцинированы БЦЖ в роддоме (89,2%). Мезосоматический тип развития преобладал в половине случаев.

В первой части исследования проводился анализ результатов пробы с аллергеном туберкулёзным рекомбинантным у детей, вакцинированных

против туберкулеза и с положительной пробой Манту с 2 ТЕ. Результаты обследования детей позволили выявить истинный уровень латентной туберкулезной инфекции в общей лечебной сети. Далее проведено сравнение результатов различных иммунологических тестов нового поколения (аллергеном туберкулезным рекомбинантным, QRT и ELISPOT), анализ ложноположительных результатов по пробе с АТР у детей с различной сопутствующей патологией. Также у детей с ЛТИ и с туберкулезом органов дыхания и у здоровых детей были изучены индивидуальные иммунологические параметры и влияние сопутствующей патологии на результаты пробы с АТР.

Во второй части исследования проведено наблюдение детей с латентной туберкулезной инфекцией в течение 12 месяцев, а также анализ факторов риска развития активного туберкулеза. В дальнейшем выделены наиболее значимые факторы риска при развитии туберкулеза у детей с ЛТИ. На основании полученных данных был разработан алгоритм выявления ЛТИ в общей лечебной сети, а также алгоритм наблюдения детей в условиях противотуберкулезного диспансера.

Критерием включения в исследование явилось наличие вакцинации против туберкулеза, положительная реакция на пробу Манту с 2 ТЕ, возраст от 1 до 14 лет. Критериями невключения – наличие первичного или вторичного иммунодефицита.

Далее всем детям было проведено комплексное углубленное лучевое и лабораторное обследование с включением дополнительных иммунологических методов.

По результатам комплексного обследования дети были распределены на три группы сравнения: I группа - 269 здоровых детей (41,1%) с положительными результатами пробы Манту с 2 ТЕ, отрицательными результатами иммунологических тестов нового поколения (IGRA – тестами и

пробы с АТИ) с отсутствием клинических и рентгенологических изменений; II группа – 127 (19,4%) пациентов с латентной туберкулезной инфекцией (ЛТИ) с положительными результатами пробы Манту с 2 ТЕ, положительными результатами иммунологических тестов нового поколения (IGRA – тестами и пробы с АТИ) с отсутствием клинических и рентгенологических изменений; III группа - 258 детей с туберкулезом органов дыхания (37,2%).

2.2 Методы исследования

Все дети прошли унифицированное фтизиатрическое обследование с оценкой клинической симптоматики, иммунологических и лабораторных параметров, рентгенологических изменений. При постановке диагноза учитывались данные анамнеза, общее состояние ребенка, наличие или отсутствие жалоб, контакт с больным туберкулезом (наличие контакта, длительность, бактериовыделение и чувствительность МБТ), а также результаты клинических, лабораторных, бактериологических и рентгенологических методов обследования.

2.2.1 Сбор анамнеза и оценка клинической симптоматики

Сбор анамнестических данных включал следующие учетные признаки:

- пол, возрастная группа, диагноз, давность наблюдения до постановки диагноза;
- данные об эпидемических (наличие и характер контакта с больным туберкулезом), социальных (условия жизни, социальный статус семьи), соматических (сопутствующие заболевания, наличие и характер хронической патологии, аллергологический анамнез) факторах риска;
- данные о профилактических мероприятиях: об иммунизации вакциной

БЦЖ/БЦЖ-М, о результатах массовой туберкулинодиагностики; давность инфицирования МБТ, назначение и проведение превентивной химиотерапии;

- данные о методах раннего выявления туберкулезной инфекции и о диагностике туберкулеза.

Объективные методы обследования включали в себя: проведение анализа антропометрических параметров, оценку физического развития, оценку соматического статуса, проведение пальпации и перкуссии с целью выявления симптомов внутригрудного туберкулеза (Корани, чаши Философова и т.п.), аускультацию. Характер поствакцинных рубцов оценивался как выраженный или мало выраженный. Выраженным считался поствакцинный рубец при его размере свыше 4 мм. Рубцы менее 5 мм оценивались как мало выраженные. Об эффективности вакцинации БЦЖ говорили при наличии выраженных поствакцинных рубцов и при положительной чувствительности к туберкулину в течение первых трех лет жизни.

Особое внимание уделялось симптомам, указывающим на наличие интоксикационного синдрома (бледности, сухости кожных покровов, снижению тургора тканей, периорбитальному цианозу, цианозу носогубного треугольника). Симптомы интоксикации оценивали как выраженные (манифестные) при наличии полного симптомокомплекса интоксикации: нарушения общего состояния ребенка, выраженной слабости, при потере аппетита, потливости, дефиците массы тела, субфебрильной температуре. При наличии отдельных жалоб, проявляющихся в сухости кожных покровов, снижении тургора мягких тканей, эмоциональной лабильности, снижении аппетита, говорили об умеренной выраженности интоксикационного синдрома.

2.2.2 Иммунологический комплекс обследования

Оценка уровня специфической сенсибилизации проводилась с помощью

постановки кожных тестов - пробы Манту с 2 ТЕ и пробы с аллергеном туберкулезным рекомбинантным в стандартном разведении (АТР), а также тестов *in vitro*, основанных на определении выработки гамма интерферона в ответ на стимуляцию специфическими рекомбинантными белками (IGRA-тесты). Также проводилась оценка иммунологического статуса пациентов.

Проба Манту с 2 ТЕ

Проба Манту с 2 ТЕ проводилась с применением аллергена туберкулезного очищенного жидкого; применялся раствор очищенного туберкулина в стандартном разведении. Препарат выпускается в ампулах в виде раствора, который содержит 2 ТЕ ППД-Л в 0,1 мл. Оценка результатов теста проводилась через 72 часа согласно инструкции.

Проба с аллергеном туберкулезным рекомбинантным в стандартном разведении (АТР)

Аллерген туберкулезный рекомбинантный утвержден инструкцией по применению препарата 19.06.2008. Регистрационный номер: ЛСР–006435/08 от 11.08.2008 (Приказ Министерства здравоохранения и социального развития РФ № 855 от 29 октября 2009 г. «О внесении изменений в приложение № 4 к приказу Минздрава России от 21 марта 2003 г. № 109»; Приказ МЗ РФ от 29.12.2014 № 951 «Об утверждении методических рекомендаций по совершенствованию диагностики и лечения туберкулеза органов дыхания»).

Препарат является рекомбинантным белком, продуцируемым генетически модифицированной культурой бактерии *Escherichia coli* BL21(DE3)/pCFP-ESAT, и содержит два антигена – CFP10 и ESAT6, связанных между собой. Указанные антигены присутствуют в вирулентных штаммах туберкулезных микобактерий, включая *M. tuberculosis* и *M. bovis*, и

отсутствуют в штаммах БЦЖ *M. bovis*, из которых готовятся отечественные и зарубежные туберкулезные вакцины.

Суть метода заключается в выявлении клеточного иммунного ответа на специфические антигены *M. tuberculosis*. При внутрикожном введении препарата у пациентов с туберкулезной инфекцией развивается аллергическая реакция гиперчувствительности замедленного типа.

Результат пробы оценивали через 72 часа с момента ее постановки. Папулы размером от 5 мм включительно и более расценивались как положительные реакции на пробу в соответствии с Приказом Минздрава России №109 от 21.03.2003, а результаты пробы с аллергеном туберкулезным рекомбинантным - в соответствии с инструкцией (таблица 8).

Таблица 8 - Оценка результатов пробы Манту с 2ТЕ и АТР

Результаты	Проба Манту с 2ТЕ	Проба с препаратом ДСТ (0,2 мкг в 0,1 мл)
Отрицательный	Отсутствие инфильтрата и (или) гиперемии	
Сомнительный	Гиперемия (любого размера) без инфильтрата	
Положительный	Наличие инфильтрата любого размера	
Гиперергический	Размер инфильтрата ≥ 17 мм ; везикуло-некротические изменения и (или) лимфангоит, лимфаденит независимо от размера инфильтрата	Размер инфильтрата ≥ 15 мм; везикуло-некротические изменения и (или) лимфангоит, лимфаденит независимо от размера инфильтрата

Постановка АТР и п. Манту с 2 ТЕ проводилась одновременно на двух руках внутрикожно одноразовыми туберкулиновыми шприцами, если с момента последней постановки п. Манту с 2 ТЕ прошло более трех месяцев

(если менее трех месяцев, учитывался предыдущий результат пробы). Для проведения внутрикожной пробы с препаратом АТР применяли однограммовые шприцы разового использования с тонкими иглами с коротким косым срезом. Препарат АТР вводили в кожу левого предплечья в дозе 0,1 мл (0,2 мкг), а туберкулин в стандартном разведении 2 ТЕ в дозе 0,1 мл – в кожу правого предплечья.

О наличии активности туберкулезной инфекции свидетельствовали также положительные результаты IGRA-тестов («QuantiFERON® Gold ELISA» и ELISPOT).

QuantiFERON® GoldELISA

При помощи QuantiFERON® Gold ELISA оценивали способность клеток гепаринизированной цельной крови вырабатывать гамма интерферон в ответ на стимуляцию рекомбинантными белками ESAT-6, CFP-10 и TB7.7. При этом методом иммуноферментного анализа (ELISA, ИФА) *in-vitro* определяли количество интерферона гамма (IFN γ), вырабатываемое этими пептидными антигенами после стимуляции клеточного ответа. Тест был зарегистрирован в 2010 году (КРД № 5393 от 02.02.10 Приказом Росздравнадзора от 04.03.10 № 1682-Пр/10).

ELISPOT

Тест **ELISPOT** для диагностики ТБ инфекции *in vitro* зарегистрирован в РФ в 2012 году (рег. УД № ФСЗ 2012/648).

Тест основан на количественной оценке сенсibilизированных Т-лимфоцитов в ответ на стимуляцию пептидными антигенами (ESAT-9 (earlysecreted antigenic target), CFP-10 (culture filtrate protein)), которые присутствуют в нуклеотидной последовательности *M. tuberculosis*. Тест

выполняется на стандартном для всех пациентов количестве клеток (1 млн), что делает его более достоверным и не зависящим от иммунного статуса пациента.

Оценка индивидуальных иммунологических показателей

Изучение особенностей иммунологических показателей у здоровых детей с латентной туберкулезной инфекцией и у больных туберкулезом выполнен на базе лаборатории иммунологии федерального государственного бюджетного учреждения «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации совместно с заведующей лабораторией, к.м.н. Якуновой О.А. Проводилась оценка субпопуляционного состава лимфоцитов в венозной крови при применении панели моноклональных антител (ИКО, НПЦ «Медбиоспектр» (г. Москва). Проводился расчет относительного и абсолютного содержания субпопуляций лимфоцитов, экспрессирующих отдельные маркеры: CD3+, CD4+, CD8+, CD16+, CD20+, CD25+, CD95+, HLAII.

Также проводилось измерение уровня продукции специфических цитокинов IL-2, IL-4, IFN- γ , TNF- α методом твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА).

Периферическую кровь с гепарином (2,5 ЕД/мл) 1 мл крови вносили во флакон, содержащий 4 мл поддерживающей среды (RPMI), гентамицин (100 мкг/мл) и L-глутамин (0,6 мг/мл). Для проведения исследований по спонтанной продукции цитокинов 2 мл полученной разбавленной крови в стерильных условиях переносили во флакон, который инкубировали в течение суток при 37°C, клетки крови осаждали на микроцентрифуге при 3000 G в течение 10 мин., супернатант после отделения осадка замораживали и хранили при 80°C до проведения количественного анализа цитокинов. Оценку уровней цитокинов проводили по нормам С.А. Кетлинского и Н.М. Калининой.

2.2.3 Методы этиологической диагностики

Люминесцентная микроскопия

Флюорохромные красители 0,1% аурамин О и 0,01% родамин С готовили в бактериологической лаборатории ФГБУ «СПб НИИФ» МЗ РФ. Методика приготовления мазка из осадка и красителей соответствовала инструкции № 10 Приказа № 109. Положительным считали результат, при котором обнаруживали не менее 3 кислотоустойчивых бактерий в 300 полях зрения.

Культивирование микобактерий

Посев проводили в соответствии с Инструкцией № 11 Приказа № 109 (посев на плотные среды) и с «Руководством к работе на автоматизированной системе для детекции роста и определения чувствительности микобактерий к противотуберкулезным препаратам ВАСТЕС™MGIT™ 960» (BectonDickinson, США) (Siddiqi, S.H., 2006). Для культивирования *M. tuberculosis* использовали плотные яичные питательные среды Левенштейна-Йенсена и Финн-II, приготовленные в бактериологической лаборатории в соответствии с Инструкцией № 11 Приказа №109, а также применяли сертифицированные наборы реагентов для работы с автоматизированной системой ВАСТЕС™MGIT™ 960 (Becton Dickinson, США).

Молекулярно-генетические методы

Исследование промывных вод бронхов проводили после фибробронхоскопии. Материал собирался в специальный контейнер, и необходимый объем материала (5 мл) исследовался с выделением тотальной ДНК. Проводилась подготовка материала: заливка двумя объемами приготовленного раствора (4% NaOH, 1.45%Na-citrate, 0.5% N-acetyl-L-

cysteine), далее - 10 объемами 6,7 ммоль/л фосфатного буфера (pH 7,4) и центрифугирование в течение 15 минут при скорости 4000 об/мин. Надосадочная жидкость сливалась. Выделение ДНК проводилось с помощью набора для выделения «Проба НК» компании «ДНК-технология» (г. Москва). Далее ДНК тестировали. Амплификацию нуклеотидной последовательности IS6110 – маркера микобактерий туберкулезного комплекса (*Mycobacterium tuberculosis complex*) - проводили с использованием тест-системы НПО «ДНК-технология» (Россия) методом ПЦР в режиме реального времени (РТ-ПЦР) на анализаторе iCycler Q, Bio-Rad (США).

2.2.4 Комплекс лучевого обследования

Рентгенологический комплекс обследования: обзорная рентгенография органов грудной клетки, многосрезовая компьютерная томография (МСКТ) органов грудной клетки.

Для выполнения многосрезовой компьютерной томографии органов грудной клетки применяли томограф фирмы Toshiba «Aquilion-32», толщина среза составляла 0,5-1,0 мм.

Детям от 7 до 14 лет исследование проводилось с задержкой дыхания на максимальном вдохе для достижения неподвижности грудной стенки и увеличения контрастности изображения с целью улучшения визуализации структуры легочной ткани.

Детям в возрасте до 7 лет исследование проводилось при введении в медикаментозный сон, чем достигалось спокойное, неглубокое дыхание, в режиме скоростного спирального сканирования.

2.2.5 Методы статистического анализа

Статистическая обработка материала была проведена с выполнением анализа абсолютных и относительных величин, также применялись методы

вариационной статистики. Количественные данные рассчитывались в виде $M \pm SD$, где M -среднее арифметическое, а SD - стандартное отклонение. Также проводился расчет показателей относительного риска (ratio risk (RR), отношения шансов (odds ratio (OR)), доверительного интервала (95%CI).

Степень связи между изучаемыми признаками определяли с помощью коэффициента корреляции по формуле Пирсона (r) для количественных данных. Степени ассоциаций между пропорциями оценивались с помощью доверительных интервалов, а также критерия χ^2 с коррекцией Йейтса. При значениях переменных меньше 5 применяли точный тест Фишера. Различия или показатели связи считались значимыми при уровне $p < 0,05$.

Обработка материала проводилась с использованием пакета прикладных программ Statistica 6.0 фирмы StatSoft Inc. (США), демо-версии программ Graph Pad Prizm 6 и Graph Pad Prizm 7.0.

ГЛАВА 3

Иммунологические особенности у детей с латентной туберкулезной инфекцией

У всех обследованных детей были проанализированы результаты пробы Манту с 2 ТЕ, проведено их сопоставление с результатами современных иммунологических тестов, а также был проведен анализ результатов тестов у детей с сопутствующей патологией.

Дети находились на обследовании и лечении в отделении детской фтизиатрии ФГБУ «СПб НИИ фтизиопульмонологии» Минздрава России в

период с 2013-2015 гг. Согласно результатам обследования 269 детей (41,1%) были здоровыми и составили I группу сравнения, у 127 (19,4%) детей была выявлена латентная туберкулезная инфекция (II группа), которая характеризовалась положительным результатом иммунологических тестов (проба с АТР, QuantiFERON® Gold ELISA и ELISPOT) без клинических и рентгенологических проявлений туберкулеза [72]. У 258 (37,2%) детей, которые включены в III группу, диагностирован туберкулез органов дыхания.

Для сравнительной оценки параметров клеточного и гуморального иммунного ответа пациентам был проведен комплекс иммунологических методов исследования, результаты которых сравнивались между группами.

3.1 Выявление латентной туберкулезной инфекции у вакцинированных против туберкулёза детей с положительной пробой Манту с 2 ТЕ

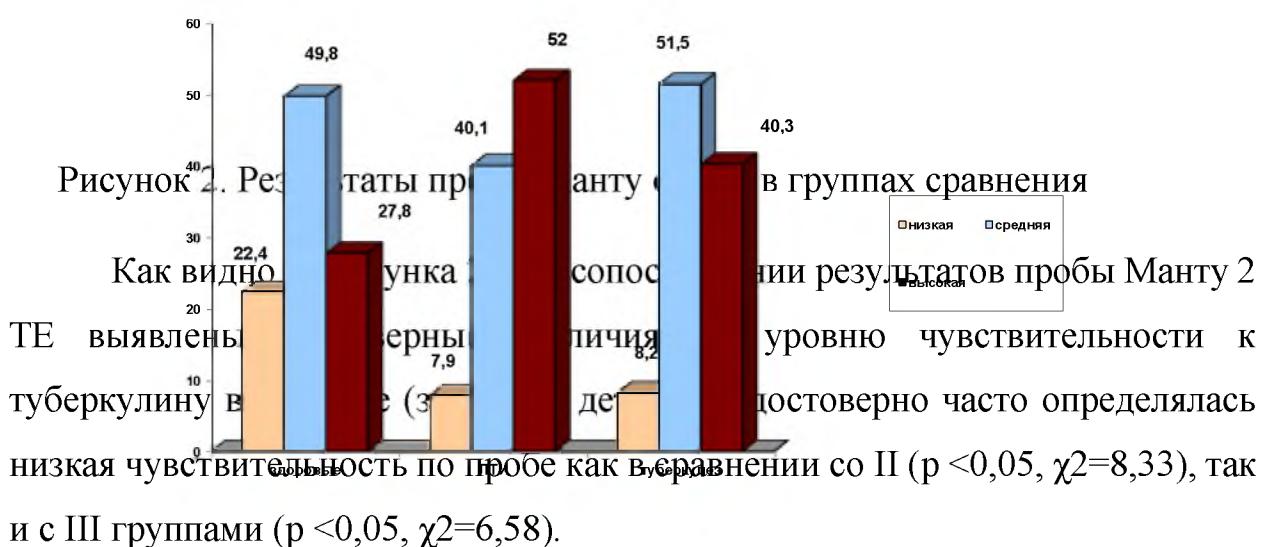
На амбулаторном этапе всем 654 детям, направленным в противотуберкулезные учреждения, была выполнена проба Манту с 2 ТЕ. Всем детям с положительными результатами АТР и IGRA-тестов была проведена компьютерная томография органов грудной клетки. У 127 детей специфические изменения во внутригрудных лимфатических узлах и легочной ткани не были выявлены, что на фоне отсутствия клинической симптоматики позволило трактовать их состояние как латентную туберкулезную инфекцию. У 258 детей диагностировали локальные формы туберкулеза.

В 95,3% случаев в структуре клинических форм туберкулеза у детей преобладал туберкулез внутригрудных лимфатических узлов (ТВГЛУ), который был диагностирован у 251 ребенка, у 5 (1,9%) детей установлен диагноз "первичный туберкулезный комплекс", у 3 (1,2%) – "инфильтративный туберкулез легких", у 2 (0,8%) – "туберкулезный плеврит", у 2 детей (0,8%) – "туберкулема".

В 87,4% случаев (226) диагностирован специфический процесс в фазе кальцинации, однако фаза инфильтрации была выявлена только в 12,6% (32) случаев.

Осложненное течение туберкулеза отмечалось у каждого второго ребенка (54,3%; 140), из них в 50,5% (131) случаев выявлены очаги отсевов в легочную ткань. Туберкулез бронхов диагностировали у 40 детей (15,5%), в единичных случаях специфический процесс осложнился ателектазом сегмента легкого, а также туберкулезом плевры.

Анализ результатов чувствительности к туберкулину в группах наблюдения представлен на рисунке 2.



В I группе преобладали дети со средней интенсивностью реакций на туберкулин (49,8%, 160), что достоверно не отличалось от результатов II (19,7%, 25) и III (15,9%, 41) групп.

Низкие результаты п. Манту с 2 ТЕ у здоровых детей (I группа) регистрировались в каждом 4 случае (22,4%), в то же время слабовыраженные реакции на туберкулин регистрировали как у детей с ЛТИ (7,9%), так и у

больных туберкулезом (8,2%), что приводит к низкому уровню выявления туберкулеза по результатам массовой туберкулинодиагностики.

Высокая чувствительность к туберкулину определялась преимущественно во II (52%) и III (40,3%) группах, при этом результаты не имели достоверных различий между этими группами. Нужно отметить, что и среди здоровых детей в каждом третьем случае выявлялись высокие результаты по п. Манту с 2 ТЕ. Следовательно, результаты пр. Манту с 2 ТЕ не позволяют дифференцировать латентную туберкулезную инфекцию и заболевание туберкулезом у детей. Кроме того, среди здоровых детей в 27,8% случаев регистрировали высокую чувствительность к туберкулину, в то время как в 40,1% случаев в III и в 51,5% - II группах (с ЛТИ) определяли средние результаты чувствительности по пробе Манту с 2 ТЕ.

При сопоставлении результатов обследования детей с положительными результатами пробы с АТР были проведены параллельно IGRA-тесты (у 70 детей проведен QFT и у 109 – ELISPOT). У 21 пациента (5,9%) с положительными результатами АТР и отрицательными данными IGRA-тестов был проведен анализ сопутствующей патологии.

Согласно проведенному анализу каждый третий ребенок с положительной пробой по АТР и отрицательным IGRA-тестом имел сочетание ЛОР-патологии с нарушениями других систем. Учитывая высокую распространенность среди детей сопутствующей соматической патологии и возможность ее влияния на результаты кожных проб, был проанализирован спектр имеющейся сопутствующей патологии у детей с расхождением результатов иммунологических методов (пробы с АТР, QFT и ELISPOT) исследования (таблица 9).

Таблица 9 - Структура сопутствующей патологии у детей с положительной пробой АТР и отрицательными IGRA -тестами

Сопутствующая патология	АТР (+) QFT (-) (n=11)		АТР (+) ELISPOT (-) (n=10)		Всего (n=21)	
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
Всего	10	90,9	8	80,0	18	85,7
- отягощен аллергологический анамнез	6	54,5	5	50,0	11*	52,4
- заболевания ЛОР - органов	2	18,2	1		3	14,3
- заболевания сердечно-сосудистой системы	-	-	-	-	-	-
- заболевания ЦНС	1	9,1	1	10,0	2	9,5
- ЖКТ	-	-	1	10,0	1	4,8
- мочевыделительной системы	-	-	-	-	-	-
- эндокринной системы(ожирение)	7	63,6	8	80,0	15*	71,4
Часто болеющие дети	2	20,9	2	14,6	15	17,9

Примечание - * $p < 0,01$ - при сравнении детей с АТР (+) QFT (-) и с АТР (+) ELISPOT (-)

Как представлено в таблице 9, у детей с расхождением результатов иммунологических тестов достоверно чаще выявлялась сопутствующая аллергологическая патология, а также ожирение. Наличие данной патологии влияет на результаты пробы с АТР и определяет риск получения ложноположительных результатов.

Таким образом, проведенное исследование позволило установить факт выявления положительных результатов пробы с АТР у детей независимо от уровня сенсibilизации по данным пробы Манту с 2 ТЕ. При

сравнении результатов АТР и IGRA-тестов можно говорить об их сопоставимости, за исключением детей, имеющих сопутствующую аллергологическую патологию и ожирение, у которых возможен ложноположительный результат АТР.

3.2 Выявление индивидуальных иммунологических параметров у детей с латентной туберкулезной инфекцией

В исследовании представлен сравнительный анализ результатов комплекса иммунологических методов, характеризующих клеточный и гуморальный иммунитет: анализ относительного количества лимфоцитов следующих субпопуляций: CD3+ (Т-лимфоциты), CD4+ (Т-хелперы), CD8+ (Т-киллеры), соотношение CD4+/CD8+, CD16+ (NK-клетки), CD20+ (В-лимфоциты), CD25+ (Рецептор к IL-2), HLA DR+ (активированные Т-клетки), CD95+, индуцированной туберкулином продукции цитокинов (IL-2, IL-4, интерферон- γ), количества специфических иммуноглобулинов классов Ig A, Ig G, Ig M в крови методом иммуноферментного анализа.

Установлены статистически значимые различия в титрах специфических иммуноглобулинов классов G и M. В I группе достоверно выше был уровень Ig G, в то время как во II группе определялся высокий уровень Ig M (таблица 10).

Таблица 10 - Уровень иммуноглобулинов классов Ig A, Ig G, Ig M в крови в группах сравнения

	Ig A ед/мл		Ig G ед/мл		Ig M ед/мл	
	M±SD	ДИ 95%	M±SD	ДИ 95%	M±SD	ДИ 95%
I группа n=52	64,6±4,9	59,3-67,9	68,9±4,8	65,0-72,7	0,91±0,30	0,7-1,0
II группа n=29	49,4±7,14	43,5-52,0	58,8±3,46	55,1-59,3	1,06±0,09	0,99-1,1
р между I и II группами	-		-		-	
III группа n=126	53,2±3,65	51,1-54,2	80,4±2,34	78,8-81,9	0,84±0,03	0,8-0,92
р между II и III группами	-		p<0,01	-	p<0,05	-

Как видно из таблицы 10, достоверных различий уровня иммуноглобулина Ig A в группах сравнения не выявлено, однако отмечена тенденция повышения уровня Ig A у здоровых детей.

Также выявлены статистически значимые различия (непарный t-критерий) титров антимикобактериальных антител Ig G и Ig M классов. У детей с заболеванием туберкулезом отмечалось достоверное повышение уровня Ig G, в то время как у детей с латентной туберкулезной инфекцией определялся достоверно высокий уровень Ig M.

Относительное количество лимфоцитов, изучаемых субпопуляций, было проанализировано у 110 детей (таблица 11).

Таблица 11 - Субпопуляционный состав лимфоцитов в периферической крови у пациентов в группах

Показатели клеточного иммунитета (%)	I группа (n=38)			II группа (n=15)			р между I и II группами	III группа (n=95)			р между II и III группами
	М	SD	ДИ95%	М	SD	ДИ95%		М	SD	ДИ95%	
CD3+	52,0	8,77	49,2-54,8	49,6	2,26	44,8-54,5		59,3*	1,21	56,9-61,7	<0,05
CD4+	33,2	6,0	31,3-35,1	31,7	1,17	28,7-34,6		35,9*	2,05	34,5-37,3	<0,05
CD8+	22,3	6,9	20,1-24,5	24,0	7,7	21,0-25,3		24,9	10	23,0-26,9	
CD4+/ CD8+	1,6	0,5	1,4-1,8	1,7	0,4	1,6-1,8		1,6	0,5	1,5-1,7	
CD16+	16	5,2	14,3-17,7	17,0	3,2	16,8-17,8		17,6	4,1	16,8-18,4	
CD20+	17,6	4,1	16,3-18,9	17,7	4,7	14,5-19,5		16,7	4,7	13,9-19,5	
CD25+	15,7	5,9	13,8-17,6	17,1*	1,64	13,6-20,7		12,7	0,63	11,4-13,9	<0,01
HLA-DR+	23,7	6,2	21,7-25,7	24,2*	2,43	21,3-27,1		19,5	1,34	17,1-21,9	<0,01
CD95+	18,4	6,4	16,4-20,4	19,1	1,25	16,6-21,6		22,0*	0,77	20,0-24,1	<0,01

Как видно из таблицы 11, для детей с латентной туберкулезной инфекцией (II группа) были характерны достоверно высокие величины (непарный t-критерий) относительного содержания CD25+ и HLA-DR+, тогда как у больных туберкулезом детей регистрировали достоверное повышение субпопуляций CD3+, CD4+ и CD95+ лимфоцитов.

Показатели фагоцитарной активности нейтрофилов были исследованы у 64 детей. В результате проведенного исследования было установлено, что у пациентов с латентной туберкулезной инфекцией индекс завершенности фагоцитоза достоверно не отличался от данного показателя у детей, больных туберкулезом - $0,94 \pm 0,05$ (ЛТИ) против $0,89 \pm 0,04$ (туберкулез), что указывает на его незавершенный характер. В то же время в группе здоровых детей показатель превышал единицу ($1,1 \pm 0,07$) и фагоцитоз был завершенным.

При изучении поглотительной функции нейтрофилов было выявлено достоверное повышение фагоцитарного числа у пациентов с ЛТИ ($7,34 \pm 1,23$) в сравнении с больными туберкулезом ($4,85 \pm 0,49$), $p=0,03$, а также фагоцитарного индекса в данных группах: ЛТИ - $71,1 \pm 3,05$ против $66,88 \pm 3,36$ у больных туберкулезом, $p=0,04$.

Также у 110 пациентов была изучена концентрация в крови специфических цитокинов, индуцированных туберкулином (табл.3.2.3). Концентрация цитокинов IL-2 и IFN- γ была достоверно выше у пациентов с латентной туберкулезной инфекцией в сравнении со здоровыми детьми. При сравнении II и III групп достоверных различий получено не было, однако отмечался высокий уровень всех исследуемых цитокинов у пациентов с латентной туберкулезной инфекцией.

Таким образом, нарастание уровня цитокинов, стимулированных специфическим антигеном, можно рассматривать в качестве благоприятного прогностического признака при течении латентной туберкулезной инфекции.

Таблица 12 - Концентрация цитокинов, индуцированных туберкулином, в группах сравнения

Показатель	I группа (n=36)			II группа (n=11)			р между	III группа (n=62)			р между
	пг/мл			пг/мл			I и II группами	пг/мл			II и III группами
	М	SD	ДИ 95%	М	SD	ДИ 95%		М	SD	ДИ 95%	
IL-2	138,8	120,9	100,8-176,8	323*	244,9	250,8-376,8	<0,001	274,5	203,6	233,1-340,7	>0,05
IL-4	1,6	1,1	1,2-2,0	2,30	1,05	1,8-2,5	>0,05	1,65	1,02	1,4-2,1	>0,05
IFN-γ	17453,4	8902,8	14657-20249,8	22856*	10800	18657-25249,8	<0,001	20800±	11055	18610,3-24149,7	>0,05

Проведенное исследование иммунологических показателей выявило ряд особенностей иммунного ответа у детей с латентной туберкулезной инфекцией как в сравнении со здоровыми детьми, так и с больными туберкулезом, что может служить дополнительными диагностическими критериями при дифференциальной диагностике этих состояний у детей. Для детей с латентной туберкулезной инфекцией характерны нарастание уровня цитокинов IL-2, IL-4, IFN- γ ; повышение уровня IgM, а также относительного количества субпопуляций лимфоцитов CD25⁺ и HLA-DR⁺, незавершенный характер фагоцитоза при активации поглотительной функции нейтрофилов.

Таким образом, полученные данные позволяют говорить о низком выявлении детей с ЛТИ в процессе наблюдения их в общей лечебной сети, так как отмечается низкая и средняя чувствительность к туберкулину. Поскольку в половине случаев пациенты имеют сопутствующую патологию, необходимо понимать: влияет ли она на результаты различных иммунологических тестов. Проведенный анализ позволил выявить влияние отягощенного аллергологического анамнеза и ожирения на результаты пробы с АТР. Сопоставление данных пробы Манту 2 ТЕ у детей с различными проявлениями туберкулезной инфекции не выявило существенных различий при наличии ЛТИ и заболевания туберкулезом. Различить данные состояния по иммунологическому тесту не представляется возможным. Анализ индивидуальных иммунологических показателей позволил выявить статистически значимые различия титров антимикобактериальных антител Ig G и Ig M классов. У детей с заболеванием туберкулезом отмечалось достоверное повышение уровня Ig G, в то время как у детей с латентной туберкулезной инфекцией определялся достоверно высокий уровень Ig M. Для детей с латентной туберкулезной инфекцией было характерно нарастание уровня цитокинов IL-2, IL-4, IFN- γ ; повышение уровня IgM, а также относительного количества субпопуляций лимфоцитов CD25⁺ и HLA-DR⁺.

ГЛАВА 4

Влияние факторов риска на развитие туберкулеза у детей с латентной туберкулезной инфекцией

С целью решения поставленных в исследовании задач был проведен анализ факторов риска по развитию туберкулеза у детей с ЛТИ (n=127) и обследование пациентов в динамике.

4.1 Выявление наиболее значимых факторов риска у детей с латентной туберкулезной инфекцией

После проведения комплексного обследования и выявления положительного иммунологического теста (пробы с АТР) 127 пациентам проводилось обследование через 6 и 12 месяцев. По окончании периода наблюдения заболевание туберкулезом установлено у 76 (59,1%) детей (рисунок 3), показатели относительного риска и шанса развития заболевания составили $RR=0,6$ и $OR=1,5$.

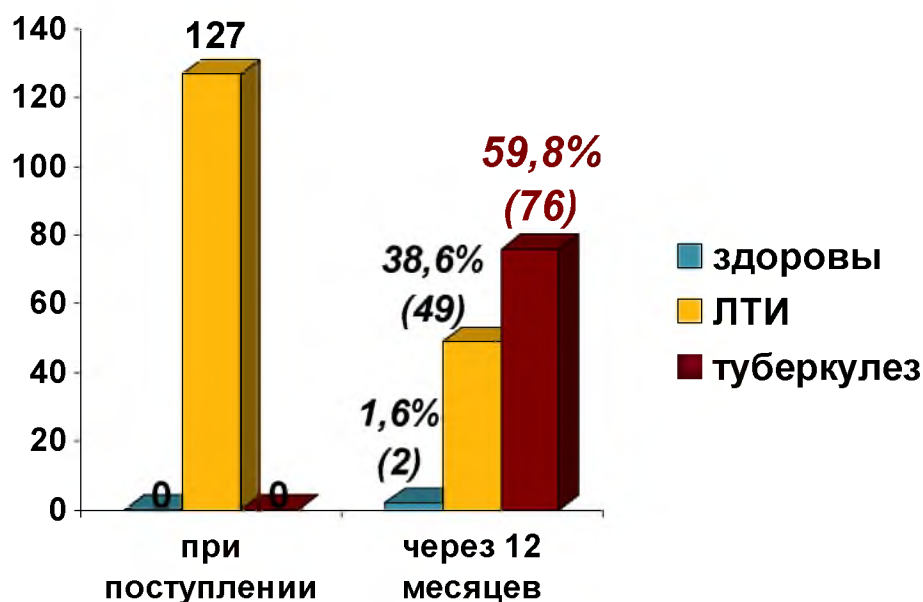


Рисунок 3 Диагностика туберкулёза у детей с ЛТИ через 12 месяцев после выявления ЛТИ

Как представлено на рисунке 3, у 49 пациентов (38,6%) с ЛТИ заболевание туберкулезом (ТБ) не развилось. У 2 детей тест стал отрицательным через 12 месяцев, что в практике встречается редко.

У всех обследуемых детей диагностирован туберкулез внутригрудных лимфатических узлов (ТВГЛУ). Только в 12,1% (9) случаев процесс диагностирован в фазе инфильтрации, в 6,8% (5) - в фазе рассасывания и уплотнения, а у подавляющего большинства (81,1%; 60) - в фазе кальцинации. У каждого третьего ребенка (32,4%; 24) процесс имел осложненное течение. Полученные данные свидетельствуют о высоком риске развития специфического процесса у детей с ЛТИ, а также о недооценке изменений рентгенологического обследования при проведении диагностики туберкулеза на этапе обследования в условиях ПТД.

Анализ результатов пробы с АТР при поступлении в ПТД и после окончания периода наблюдения представлен на рисунке 4.



Рисунок 4 Результаты пробы с АТР при поступлении в ПТД и после 12 месяцев наблюдения

Размер папулы у детей с туберкулезом в динамике был достоверно больше через 12 месяцев, чем на момент выявления. У пациентов с ЛТИ размер папул при поступлении регистрировался достоверно больше, чем при

контрольном обследовании. Таким образом, можно сделать вывод об отрицательной прогностической значимости нарастания размера папулы у детей с ЛТИ.

Был проведен анализ факторов риска, которые могут способствовать развитию ТБ у детей с ЛТИ (таблица 13).

Таблица 13 - Факторы риска развития туберкулеза у детей с латентной туберкулезной инфекцией

Признак	OR	RR	95% CI	PV ⁺	PV ⁻
Низкий индекс массы тела	0,31	1,009	0,682-1,491	53,7	46,8
Неэффективность вакцинации	0,63	0,793	0,502-1,292	43,2	45,5
Наличие сопутствующей патологии	1,95	1,364*	1,044-1,781	71,4	54,4
Ранний период инфицирования МБТ	0,87	0,326	0,115-0,992	48,8	43,8
Низкий социально-бытовой статус	1,23	1,121	0,640-1,234	63,0	60,9
Контакт с больным туберкулезом	3,40	1,553*	1,191-2,023	78,6	59,4
Отсутствие химиопрофилактики	2, 53	1,458*	1,090-1,949	71,7	60

Примечание - * $p < 0,01$ - при сравнении с другими признаками

Как видно из таблицы 13, наиболее существенными факторами, влияющими на развитие туберкулеза, явились контакт с больным туберкулезом, наличие сопутствующей патологии и отсутствие курса превентивной терапии.

Встречаемость данных факторов у детей с ЛТИ представлена в таблице 14.

Таблица 14 - Выявление факторов риска у детей с латентной туберкулезной инфекцией

Фактор риска	Выявление фактора риска (n/%)	RR	OR
Контакт с больным туберкулезом (КБТ)	42 (33,1%)	0,6	1,5
Сопутствующая патология (СП)	35(27,5%)	0,3	0,4
Курс превентивной терапии (КПТ)	66 (51,9%)	0,5	0,4

Как представлено в таблице 14, чаще всего детям не проводится курс превентивной терапии. У каждого четвертого ребенка имеет место контакт с больным туберкулезом, при этом риск наличия данного фактора самый высокий из всех представленных. Несколько реже встречается сопутствующая патология, риск возникновения которой менее значим.

Далее был проведен анализ влияния этих факторов риска на развитие туберкулёза на фоне ЛТИ. Данные представлены в таблице 15.

Таблица 15 - Оценка значимости факторов риска в развитии туберкулеза у детей с латентной туберкулезной инфекцией

Фактор риска	Выявление фактора риска (n/%)	RR	OR
Контакт с больным туберкулезом (КБТ) (n=42)	32 (76,2)	0,7	3,2
Сопутствующая патология (СП)(n=35)	26 (74,3)	0,7	2,8
Курс превентивной терапии (КПТ) (n=66)	31(46,9)	0,5	0,9

Как видно из таблицы 15, контакт с больным туберкулезом и наличие сопутствующей патологии являются наиболее значимыми факторами риска (ФР). Риск развития туберкулеза при наличии данных факторов очень высокий (3,2 и 2,8 соответственно). При этом проведение превентивного курса терапии является менее значимым ФР.

Было проведено сравнение риска развития туберкулеза при наличии контакта с больным туберкулезом и без него (рисунок 5).

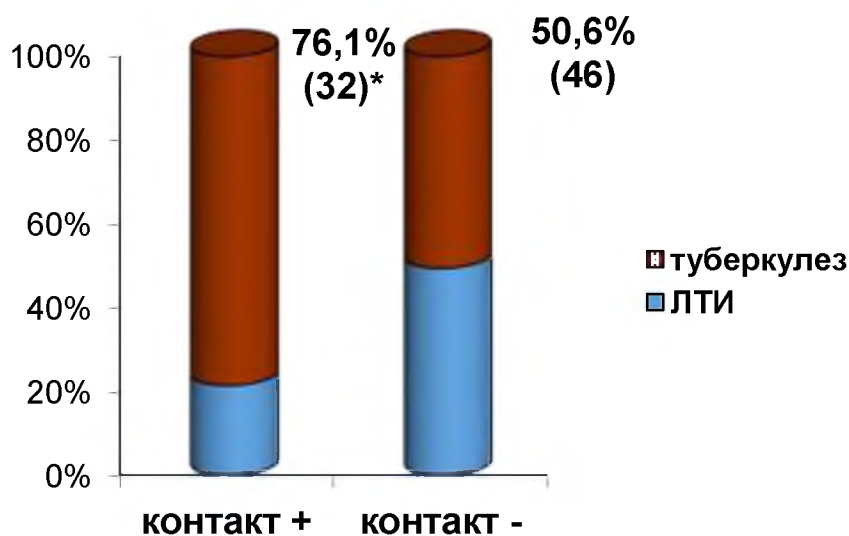


Рисунок 5 Развитие туберкулеза у детей из контакта с больным туберкулезом

По представленным на рисунке 5 данным, дети с ЛТИ из контакта с больным туберкулезом заболевали туберкулезом достоверно чаще, чем при отсутствии данного фактора (76,1% против 50,6%, где $\chi^2=5,77$, $p<0,05$).

Сравнительный анализ развития ТБ при наличии и отсутствии сопутствующей патологии на рисунке 6.

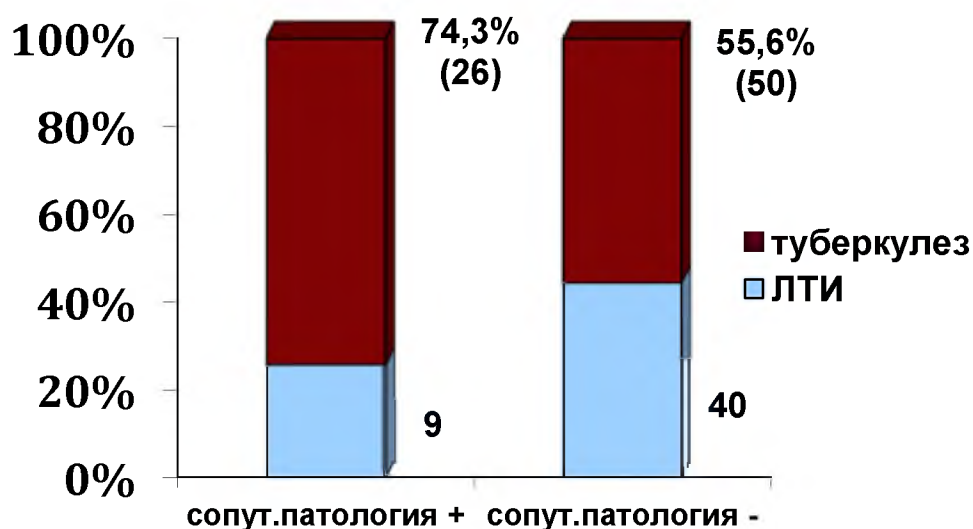


Рисунок 6 Развитие туберкулеза у детей с наличием и отсутствием сопутствующей патологии

На рисунке 6 видно, что у пациентов с сопутствующей патологией туберкулез развивался чаще, чем у здоровых детей (74,3% против 55,6%, где $\chi^2=3,5$ $p<0,1$), однако достоверной разницы между показателями получено не было.

Далее проводился анализ развития ТБ у детей с сочетанием контакта с больным туберкулезом и сопутствующей патологии, а также без сочетания указанных факторов. Данные представлены на рисунке 7.

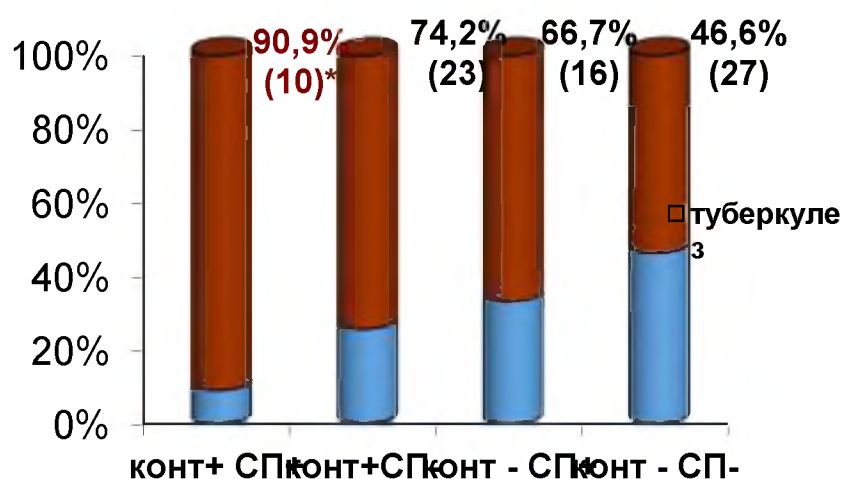


Рисунок 7 Риск развития активного туберкулеза у детей с ЛТИ при наличии сочетания и без сочетания контакта (конт.) с больным туберкулезом и сопутствующей патологии (СП)

Согласно представленным на рисунке 7 данным, туберкулез у детей из контакта и с сопутствующей патологией развился в 90,9% (10) ((RR=0,9; OR=10,0), что достоверно выше, чем у пациентов без контакта и сопутствующей патологии (90,9% против 46,6% где $\chi^2=8,15$ $p<0,01$, RR=0,4, OR=0,8). Риск развития ТБ при наличии сочетания факторов риска (контакта и СП) в 10 раз выше.

Проведение превентивного курса терапии (ПКТ) является также фактором риска. Существуют различные схемы превентивной терапии (ПТ), которые различаются по длительности (3 и 6 месяцев), а также по комбинации противотуберкулезных препаратов (изониазид (H), изониазид и пиразинамид (H+Z), изониазид и рифампицин (H+R)). Однако в 48,1% (61) случаев родители детей с ЛТИ от терапии отказались.

До настоящего времени не проводился анализ эффективности различных схем ПТ. В настоящем исследовании было выполнено сравнение курсов превентивной терапии у детей с ЛТИ, различных по срокам проведения (рисунок 8).

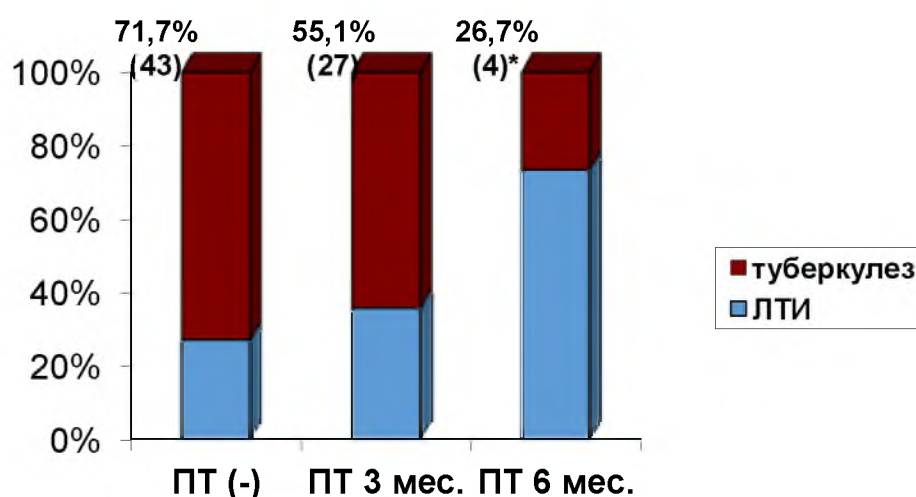


Рисунок 8 Развитие туберкулеза у детей после проведения превентивной терапии в течение 3 –х и 6-ти месяцев

По представленным на рисунке 8 данным видно, что достоверных различий показателей между детьми, у которых превентивный курс терапии (ПТ) проводился в течение 3 месяцев и у которых он не проводился, получено не было, т.е. проведение ПТ в течение 3 месяцев существенного влияния на развитие ТБ не оказывает. В то же время у пациентов, которым был проведен 6 месячный курс превентивной терапии, туберкулез развивался достоверно реже, чем у детей, не получавших данную терапию (71,7% против 26,7%, где $\chi^2=11,02$, $p<0,001$), так же как при сравнении эффективности курса терапии, проведенного в течение 3 –х и 6-ти месяцев (55,1% против 26,7%, где $\chi^2=6,31$, $p<0,05$). Таким образом, можно сделать вывод о большей эффективности курса терапии в течение 6 месяцев 2-мя препаратами, так как в данном случае туберкулез у детей с ЛТИ развивался достоверно реже.

Итак, по окончании периода наблюдения было установлено, что заболевание туберкулезом у детей с ЛТИ развивается в половине случаев (59,1%). Наиболее существенными факторами риска в развитии туберкулеза являются контакт с больным туберкулеза (76,2%), наличие сопутствующей патологии (74,3%) и несколько менее значимым фактором является отсутствие проведения химиопрофилактики (46,9%). Группу риска, наиболее подверженную развитию заболевания туберкулезом, составляют дети с сочетанием таких факторов риска, как контакт с больным туберкулезом и сопутствующей патологии, так как у них заболевание развилось в 90,9% случаев, что в 10 раз выше, чем при наличии одного из факторов риска. В то же время проведение химиопрофилактики или превентивного курса терапии 2-мя препаратами (изониазидом и пиразинамидом) в течение 3 месяцев не оказывает существенного влияния на развитие заболевания, тогда как назначение двух препаратов на 6 месяцев предотвратило развитие активного туберкулеза в 73,3% случаев.

Полученные данные позволили разработать алгоритм, который может быть применен в условиях общей лечебной сети и в противотуберкулезном диспансере с целью улучшения выявления ЛТИ и назначения адекватного курса превентивной терапии.

4.2 Алгоритм выявления и наблюдения детей с ЛТИ в условиях общей лечебной сети и в противотуберкулезных учреждениях

В настоящее время с целью раннего выявления туберкулеза проводится массовая туберкулинодиагностика с проведением пробы Манту с 2 ТЕ (рисунок 9). Многочисленными исследованиями доказана низкая, которая не превышает 48% [13; 24; 53; 60], информативность пробы Манту с 2 ТЕ. Применение данного метода приводит к выявлению туберкулеза у детей уже в фазе кальцинации специфического процесса, что свидетельствует о дефектах раннего выявления заболевания. Одной из причин отсутствия возможности эффективного раннего выявления туберкулеза на этапе обследования детей в общей лечебной сети (ОЛС) является проведение массовой вакцинации БЦЖ/БЦЖ-М в 99,2% случаев.

Стандартный алгоритм ранней диагностики туберкулеза



Рисунок 9 Стандартный алгоритм раннего выявления туберкулеза в общей лечебной сети и в ПТД

Ребенок направляется в противотуберкулезный диспансер уже с наличием заболевания, которое не было своевременно выявлено на этапе его обследования и наблюдения у педиатра. В последнее время было проведено много исследований, доказывающих необходимость применения иммунологических тестов нового поколения (пробы с АТР и IGRA-тестов) с целью раннего выявления заболевания в условиях массовой вакцинопрофилактики, так как информативность данных методов в дифференциальной диагностике поствакциной и инфекционной аллергии составляет 98%-100% [28; 44]. Однако до настоящего времени АТР проводится только в условиях ПТД, а применение IGRA- тестов ограничено.

Кроме того, не происходит дифференцированного подхода в проведении превентивного курса терапии. Согласно рекомендациям и нормативным документам, терапия должна быть назначена без учета факторов риска при получении положительного результата на пробу с АТР или IGRA-

тест при отсутствии изменений на МСКТ. Однако не всем детям необходимо проведение превентивного курса терапии. В данном вопросе необходим дифференцированный подход и поиск дополнительных критериев оценки состояния ребенка с ЛТИ. Кроме того, за последние годы отмечается рост сопутствующей патологии, которая по данным настоящего исследования определяется у каждого второго ребенка (54,9%), что также требует индивидуального подхода в определении тактики ведения пациента и в выборе иммунологического теста.

Полученные в ходе исследования данные позволили разработать предложения, направленные на усовершенствование мероприятий по раннему выявлению туберкулеза с учетом практически тотальной вакцинации БЦЖ\БЦЖ-М, роста сопутствующей патологии, наличия у ребенка факторов риска, оценки индивидуальных иммунологических показателей. Алгоритм подразумевает применение пробы с АТР в качестве скринингового метода выявления латентной туберкулезной инфекции у вакцинированных против туберкулеза детей. В исследовании доказано, что у детей с сопутствующей аллергической патологией и с ожирением возможно получение ложноположительных результатов по пробе с АТР, что требует дифференцированного подхода с целью раннего выявления ЛТИ в выборе иммунологического теста и в применении IGRA-тестов (QFT и ELISPOT). Предложен также новый подход в назначении превентивного курса терапии у детей с учетом факторов риска развития туберкулеза и индивидуальных иммунологических показателей.

Усовершенствованный алгоритм диагностики ЛТИ в условиях ОЛС представлен на рисунке 10.

Алгоритм ранней диагностики туберкулеза в условиях ОЛС (1 этап)

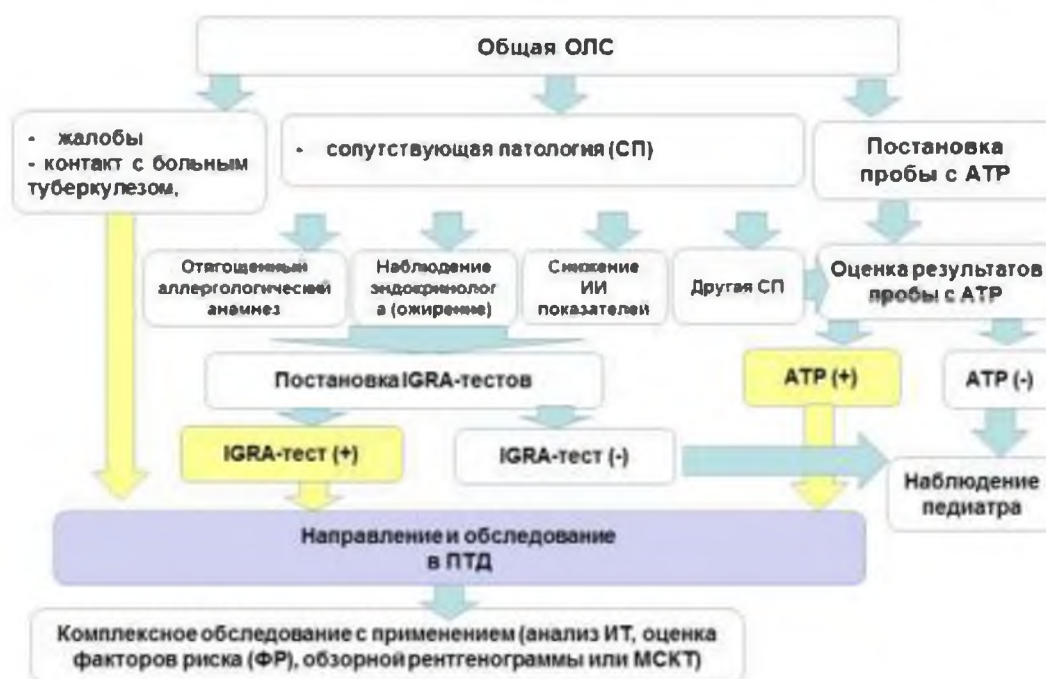


Рисунок 10 этап выявления ЛТИ в условиях общей лечебной сети (ОЛС)

В условиях ОЛС особое внимание следует уделять детям, имеющим жалобы, а также контакт с больным туберкулезом. Они должны сразу направляться в противотуберкулезный диспансер (ПТД) и обследоваться с применением всех необходимых методов. Пациенты с сопутствующей патологией требуют дифференцированного подхода в выборе иммунологического теста. Наличие отягощенного аллергологического анамнеза, ожирения и снижения индивидуальных иммунологических показателей требует проведения ИГРА-тестов с целью предотвращения получения ложноположительных и ложноотрицательных показателей по данным пробы с АТР.

При других сопутствующих заболеваниях изменений показателей пробы с АТР получено не было, что делает возможным ее применение у детей без сопутствующей патологии.

Далее должна проводиться оценка результатов иммунологических тестов (пробы с АТР и IGRA-тестов). Положительные результаты тестов требуют направления ребенка для обследования в ПТД, отрицательные результаты этих тестов не требуют углубленного обследования, т.к. свидетельствуют об отсутствии активности туберкулезной инфекции. Дети могут наблюдаться педиатром в условиях поликлиники.

На следующем этапе необходимо наблюдение и обследование детей в условиях ПТД с целью предотвращения развития заболевания туберкулезом (рисунок 11).



Рисунок 11 Второй этап наблюдения детей с ЛТИ в условиях противотуберкулезного диспансера (ПТД)

После проведения комплексного обследования в ПТД необходимо оценить результаты обзорной рентгенограммы и МСКТ - грудной клетки пациентов, а также данные иммунологических тестов (пробы с АТР и IGRA-тестов) и сопоставить их с наличием факторов риска.

Отрицательный результат пробы с АТР и/или IGRA-тестов при наличии контакта с больным туберкулезом, а также при наличии сопутствующей патологии, факторов риска дает возможность наблюдения ребенка в динамике без назначения превентивного курса терапии. Сохраняющийся отрицательный тест (проба с АТР или IGRA-тест) позволяет не проводить курс терапии и далее, так как активность туберкулезной инфекции не нарастает.

Ребенку с ЛТИ, т.е. только с положительным результатом иммунологического теста (пробы с АТР или IGRA-теста) и наличием факторов риска (контакта с больным туберкулезом и сопутствующей патологии) необходимо назначение курса превентивной терапии, который должен быть не менее 6-ти месяцев.

Отсутствие факторов риска у пациента с ЛТИ позволяет решить вопрос о дальнейшей тактике ведения ребенка с учетом индивидуальных иммунологических показателей и оценки пробы с АТР в динамике. Снижение уровня цитокинов (IL-2, IL-4, TNF- α ; IFN- γ), стимулированных специфическим антигеном, так же как снижение относительного количества CD 25+ и показателей фагоцитарной активности нейтрофилов (ФЧ и ФИ) на фоне незавершенного фагоцитоза, является прогностически неблагоприятным фактором в отношении развития туберкулеза, что может служить дополнительным критерием для назначения превентивного курса терапии (ПТ). Отсутствие изменений индивидуальных иммунологических показателей на фоне низких значений пробы с АТР позволяет при отсутствии факторов риска оставить ребенка под наблюдением фтизиатра без проведения превентивной терапии с последующим контрольным обследованием в динамике. Нарастание чувствительности по пробе с АТР свидетельствует о нарастании активности туберкулезной инфекции и требует назначения превентивной терапии на 6 месяцев.

Клинический пример №1

Девочка К.А., 11 лет, 11.09.12., госпитализирована в отделение детской фтизиатрии СПб НИИФ. Ребенок из неустановленного контакта с больным туберкулезом. Вакцинирована БЦЖ при рождении эффективно. В связи с нарастанием чувствительности к туберкулину в марте 2011 года была направлена для обследования в противотуберкулезный диспансер. По динамике пробы Манту с 2ТЕ на момент обследования ребенок был инфицирован МБТ в течение 2-х лет. В 2009 году по «виражу» пробы Манту с 2 ТЕ не наблюдалась. При постановке на диспансерный учет по результатам пробы Манту с 2ТЕ отмечалась высокая чувствительность к туберкулину (р 15 мм), а также гиперергическая реакция на пробу с аллергеном туберкулезным рекомбинантным (р 18 мм). Была проведена компьютерная томография органов грудной клетки, которая не выявила изменений со стороны легочной ткани и внутригрудных лимфатических узлов (рисунок 12).

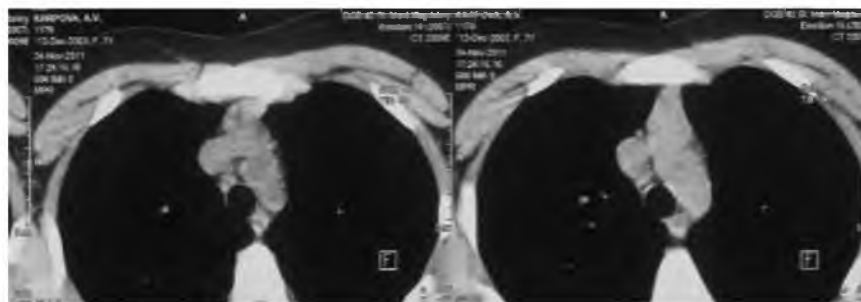


Рисунок 12 МСКТ органов грудной клетки, март 2011 г.

С апреля по июль 2011 года (3 месяца) получала курс химиопрофилактики изониазидом в дозе 0,3 г, на фоне которого сохранялась высокая чувствительность по данным кожных проб (проба Манту с 2 ТЕ – р 17 мм, проба с АТР – р 20 мм). От контрольного лучевого обследования родители отказывались до июня 2012 года.

В июле 2012 года при проведении рентген - томографического обследования было заподозрено отложение извести во внутригрудных

лимфатических узлах справа, что стало поводом для направления в СПб НИИФ.

При поступлении состояние относительно удовлетворительное. Симптомы внешней интоксикации выражены умеренно: бледность кожных покровов, периорбитальный цианоз, периферическая полиаденопатия. Положительные симптомы медиастенита - справа. В общеклинических анализах крови и мочи патологии выявлено не было.

По результатам кожных проб – сохранение высокого уровня сенсибилизации (проба Манту с 2 ТЕ – р 14 мм, проба с АТР – р 20 мм). Титры противотуберкулезных антител - ниже диагностических значений по всему спектру серологических реакций.

Поиск МБТ (материал - смывы из зева, промывные воды бронхов, моча) - МБТ и ДНК МБТ методом бактериоскопии, посева и ПЦР – не обнаружены.

МСКТ (27.02.09) – справа в верхнем паратрахеальном узле мелкое включение извести, ниже сохраняется обызвествление лимфатического узла над развилкой трахеи. Верхние паратрахеальные узлы до 5мм, плотностью от +48 до +64 ед. В аортопульмональном окне - неоднородное обызвествление связки артериального протока (КАС) (рисунок 13).



Рисунок 13 МСКТ органов грудной клетки, июль 2012 года

Бронхоскопия (03.10.11) - без патологии. Был установлен диагноз «Туберкулез внутригрудных лимфатических узлов паратрахеальной группы справа в фазе кальцинации».

Клинический пример демонстрирует неэффективность проведенного краткосрочного курса превентивной терапии одним препаратом (изониазидом).

Несвоевременная диагностика специфического процесса в фазе кальцинации связана с отказом родителей от лучевого обследования. Нарастание чувствительности по пробе с аллергеном туберкулезным рекомбинантным является неблагоприятным прогностическим признаком.

Клинический пример №2

Девочка О.В., 11 лет. Вакцинирована БЦЖ при рождении эффективно, поствакцинный рубец 5 мм. 21.03.13. госпитализирована в отделение детской фтизиатрии СПб НИИФ. Ребенок из производственного контакта, учитель физкультуры в школе была выявлена в апреле 2012 года с диагнозом "инфильтративный туберкулез легких в фазе распада и обсеменения", МБТ (+).

Из анамнеза известно: ребенок с 5 лет наблюдается ЛОР - врачом в связи с хроническим тонзиллитом и аденоидами, часто болеет ОРВИ.

В связи с установленным контактом по туберкулезу в мае 2012 года девочка была направлена в противотуберкулезный диспансер, где по результатам обследования была установлена нормергическая чувствительность к туберкулину по пробе Манту 2 ТЕ (р 13 мм) и положительный результат пробы с АТР (р 13 мм). По динамике пробы Манту с 2ТЕ на момент обследования девочка была инфицирована МБТ с нарастанием чувствительности к туберкулину в 2012 году.

При проведении обзорной рентгенографии и компьютерной томографии органов грудной клетки патологии выявлено не было.

Химиопрофилактику по контакту с больным туберкулезом не получала (отказ родителей). При контрольном обследовании в феврале 2013 года отмечалось сохранение активности туберкулезной инфекции по результатам пробы с АТР, при проведении компьютерной томографии были выявлено отложение извести во внутригрудных лимфатических узлах бронхопульмональной группы слева и кальцинированный очаг в S1-2 левого легкого (рисунок 14), что стало поводом для настоящей госпитализации.

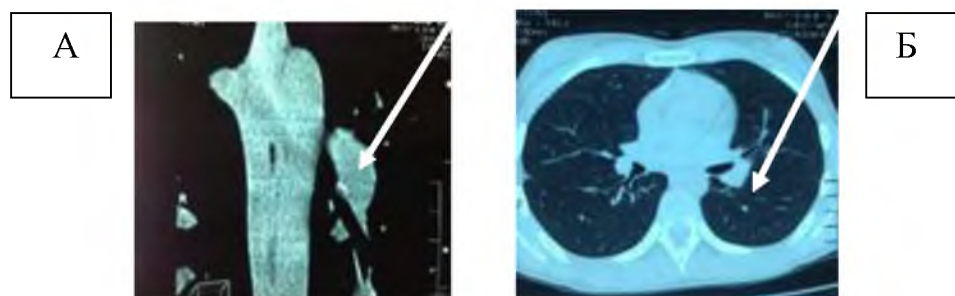


Рисунок 14 А. Кальцинат в бронхопульмональной группе слева, Б. Очаг отсева в С 1-2 левого легкого

При поступлении в отделение состояние относительно удовлетворительное. Симптомы внешней интоксикации выражены умеренно: бледность кожных покровов, периорбитальный цианоз, периферическая полиаденопатия. Положительные симптомы медиастенита - слева, плевромышечный – положительный - слева. В общеклинических анализах крови и мочи патологии выявлено не было.

По результатам кожных проб – сохранение высокого уровня сенсибилизации (проба Манту 2 ТЕ – р 14 мм, проба с АТР – р 20 мм). Положительный титр противотуберкулезных антител по результатам реакции потребления комплемента (РПК – 12,0 ед.). Бронхоскопия: два посттуберкулезных рубца в левом главном бронхе.

Поиск МБТ (материал - смывы из зева, промывные воды бронхов, моча) - МБТ и ДНК МБТ методом бактериоскопии, посева и ПЦР – не обнаружены.

Был установлен диагноз «Туберкулез внутригрудных лимфатических узлов бронхопульмональной группы слева в фазе кальцинации, осложненный очагом отсева в С 1-2 левого легкого. Туберкулез левого главного бронха в фазе рубцевания». Сопутствующий диагноз «Хронический тонзиллит, аденоиды».

Клинический пример демонстрирует развитие осложненного специфического процесса на фоне отсутствия превентивной терапии у ребенка с сопутствующей соматической патологией из контакта с больным туберкулезом.

Клинический пример №3

Мальчик А.И., 8 лет, госпитализирован в отделение детской фтизиатрии СПб НИИФ 25.02.13. Вакцинирован БЦЖ при рождении эффективно, поствакцинный рубец 7 мм. Контакт с больным туберкулезом не установлен. В связи с нарастанием чувствительности к туберкулину до гиперпробы в феврале 2012 года был направлен в противотуберкулезный диспансер. По динамике пробы Манту с 2ТЕ на момент обследования ребенок был инфицирован МБТ с прошлых лет с гиперергической чувствительностью (р 17 мм). По результатам пробы с АТР также выявлена гиперпроба (р 18 мм). По результатам обзорной рентгенографии органов грудной клетки патологических изменений выявлено не было. По результатам обследования был установлен диагноз "латентная туберкулезная инфекция". Мальчику проведен курс превентивной терапии 2 противотуберкулезными препаратами (изониазидом 0,3 + пиразинамидом 0,75) в течение 6 месяцев (с июня по декабрь 2012 года) в санатории «Петродворец». При выполнении контрольного рентген-томографического обследования заподозрено

отложение извести во внутригрудных лимфатических узлах корней легких, что стало поводом для направления в ФГБУ «СПб НИИФ» Минздрава России.

При поступлении: ребенок достаточного питания, физическое развитие соответствует возрасту, симптомы интоксикации не выражены.

Из анамнеза известно: на диспансерном учете у узких специалистов не состоит, ОРВИ переносит редко (2-3 раза в год). Результаты обследования: проба Манту 2 ТЕ – р 10 мм, проба с АТР – р 12 мм. QuantiFERON®-TB Gold – положительный результат. Серологические реакции – титры противотуберкулезных антител ниже диагностических значений по всему спектру серологических реакций. Поиск МБТ (материал - смывы из зева, моча) - МБТ методом бактериоскопии, посева и ДНК МБТ методом ПЦР – не обнаружены. Проведена компьютерная томография органов грудной клетки, которая не выявила изменений со стороны легочной ткани и внутригрудных лимфатических узлов.

Была установлена латентная туберкулезная инфекция.

Клинический пример демонстрирует отсутствие развития локальной формы туберкулеза у ребенка с латентной туберкулезной инфекцией и неотягощенным преморбидным фоном в течение года наблюдения на фоне проведенного курса превентивной терапии.

Таким образом, представленный двухэтапный алгоритм дает возможность дифференцированного подхода в выборе иммунологического теста при различной сопутствующей патологии, рекомендует обратить особое внимание на детей, требующих углубленного обследования по жалобам и из контакта с больным туберкулезом, а также позволяет получить истинные данные о наличии латентной туберкулезной инфекции на этапе обследования в ОЛС, что улучшит раннюю диагностику туберкулезной инфекции.

На втором этапе наблюдения детей с ЛТИ в условиях ПТД представленный алгоритм дает возможность выбрать тактику ведения детей с учетом наиболее значимых факторов риска (сопутствующей патологии и контакта с больным туберкулезом), а также индивидуальных иммунологических показателей, что снизит необходимость назначения превентивной терапии.

4.3 Результаты дискриминантного анализа усовершенствованного алгоритма диагностики латентной туберкулезной инфекции

Согласно полученным в результате исследования данным был усовершенствован алгоритм диагностики латентной туберкулезной инфекции в условиях общей лечебной сети и дальнейшего наблюдения детей в противотуберкулезном диспансере с учетом факторов риска при развитии туберкулеза (рисунок 15).



Рисунок 15 Усовершенствованный алгоритм диагностики латентной туберкулезной инфекции у детей

На первом этапе были выделены наиболее информативные показатели, влияющие на развитие туберкулеза у детей с ЛТИ, которые представлены в таблице 16. Математическое моделирование проводилось с использованием дискриминантного анализа. Показатели считались значимыми при F-remove более 1,0.

Таблица 16 - Наиболее значимые показатели в диагностике латентной туберкулезной инфекции и активного туберкулёза

	Wilks'	Partial	F-remove	p-value	Toler.	1-Toler.
Проба с АТР	0,532309	0,664873	124,2473	0,000000	0,904134	0,095866
Контакт	0,446073	0,793408	64,1851	0,000000	0,854413	0,145587
Симптомы интоксикации	0,360561	0,981575	4,6269	0,010213	0,642049	0,357951
Лор-патология	0,360203	0,982552	4,3773	0,013051	0,821789	0,178211
Частые ОРВИ	0,367658	0,962628	9,5700	0,000084	0,341986	0,658014
Периферическая полиадения	0,355338	0,996005	0,9886	0,372822	0,312414	0,687586
Ожирение	0,355608	0,995247	1,1772	0,309006	0,802263	0,197737
Патология ЖКТ	0,357006	0,991352	2,1504	0,117525	0,803861	0,196139
Длительность инфицирования МБТ	0,359077	0,985633	3,5932	0,028233	0,695190	0,304810
Проба Манту с 2 ТЕ	0,356601	0,992478	1,8683	0,155481	0,896442	0,103558

Как представлено в таблице 16, наиболее высокую диагностическую и прогностическую значимость в развитии туберкулеза у детей с латентной

туберкулезной инфекцией имеет положительный результат пробы с АТР ($F=124,24$), контакт с больным туберкулезом ($F=64,24$), частые респираторные заболевания (ОРВИ) ($F=9,57$), длительность инфицирования ($F=3,59$), ЛОР - патология ($F=4,37$) и симптомы интоксикации ($F=4,62$).

В результате анализа была построена модель, обладающая следующими характеристиками: Wilks' Lambda = 35392 approx. $F(28,986) = 23,978$, $p < 0,0001$ - что говорит о ее достаточно высокой достоверности и прогностической значимости. Графическое изображение полученного результата представлено на рисунке 16, где G1- здоровые дети, G2- дети с латентной туберкулезной инфекцией и G3- пациенты с туберкулезом органов дыхания.

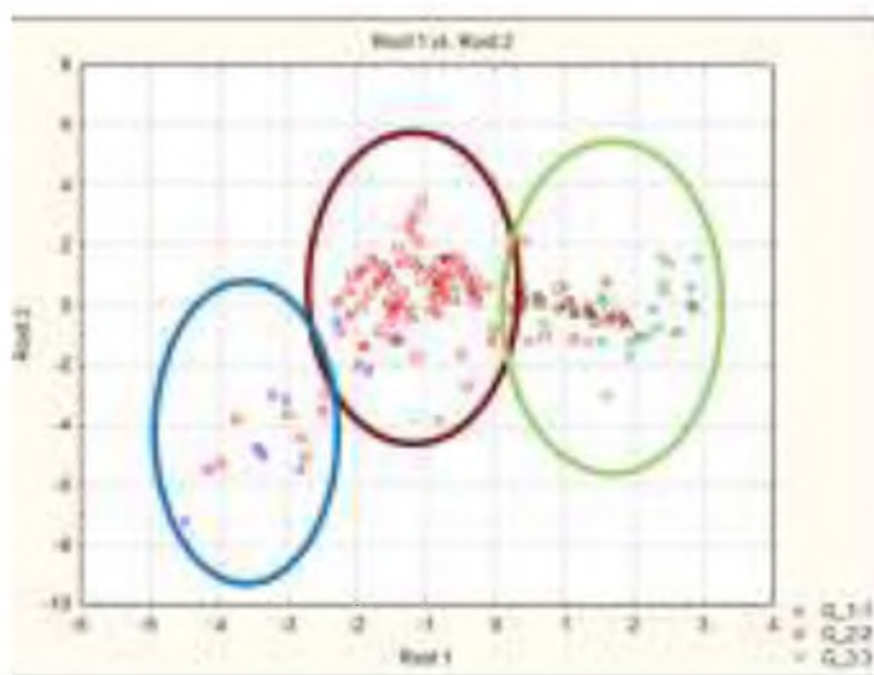


Рисунок 16 Результаты дискриминантного анализа алгоритма диагностики активного туберкулеза у детей с ЛТИ

Согласно представленным на рисунке 16 данным, облака групп распределены на графике достаточно равномерно. Диагностическая информативность представленного алгоритма составила 81,72. Таким

образом, полученные в исследовании данные позволили не только выявить наиболее значимые факторы риска в развитии туберкулезной инфекции у детей с ЛТИ, на основании которых был усовершенствован алгоритм диагностики и дальнейшего наблюдения пациентов, но и помогли рассчитать его информативность. Применение данного алгоритма позволит усовершенствовать раннюю диагностику туберкулеза, изменить подход к наблюдению детей с ЛТИ в условиях противотуберкулезного диспансера и, как следствие, снизить заболеваемость туберкулезом у детей.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Традиционно для скринингового обследования на туберкулез детского населения в Российской Федерации используется кожный туберкулиновый тест, который в современных условиях массовой вакцинации БЦЖ, при повышенной аллергизации детей, в условиях распространенности сопутствующей патологии не позволяет качественно проводить раннее выявление туберкулезной инфекции, что приводит к выявлению практически у каждого второго ребенка заболевания туберкулеза уже на фазе обратного развития специфического процесса [4; 11; 53; 88]. Во многочисленных зарубежных и отечественных исследованиях, проведенных за последние годы, доказана низкая информативность пробы Манту с 2 ТЕ, в особенности ее низкая специфичность [13; 19; 22; 40; 47]. Применение данного метода в диагностике туберкулеза у детей позволяет выявить заболевание только в 48,1% случаев [51; 55; 58; 60].

В последние годы в клиническую практику были внедрены новые иммунологические тесты (проба с аллергеном туберкулезным рекомбинантным, ELISPOT, QuantiFERON®-TB Gold), которые зарекомендовали себя высокоинформативными в диагностике туберкулеза [19; 78; 90; 114; 115]. Однако исследований, посвященных возможности применения данных тестов как методов ранней диагностики туберкулеза у детей, крайне мало. Особо актуальным вопросом является выявление у лиц с латентной туберкулезной инфекцией факторов риска развития туберкулеза, которые позволят дифференцированно подойти к назначению превентивной терапии и перестроить работу врача-педиатра и фтизиопедиатра с массового подхода на индивидуальный как в общей лечебной сети, так и условиях противотуберкулезного диспансера.

В настоящем ретроспективно-проспективном исследовании был проведен анализ клинического материала (654 детей) за период с 2013 по 2015 годы. Пациенты в возрасте от 0 до 14 лет практически все были привиты

вакциной БЦЖ или БЦЖ-М и имели положительную реакцию на пробу Манту с 2 ТЕ (папулу размером более 5 мм). Из анализа исключались дети с отсутствием вакцинации БЦЖ/БЦЖ-М, с доказанным первичным/вторичным иммунодефицитным состоянием, пациенты с ВИЧ-инфекцией.

Несмотря на массовую вакцинацию и доказанную низкую эффективность пробы Манту с 2 ТЕ в вопросах дифференциальной диагностики поствакциной и инфекционной аллергии, туберкулинодиагностика остается ведущим методом ранней диагностики туберкулеза (63,3%). Особое внимание заслуживает тот факт, что только каждый четвертый ребенок направлен на обследование в ПТД по контакту с больным туберкулезом (22,8%), что крайне мало с учетом настоящей эпидемической ситуации, и каждый седьмой - с наличием жалоб (13,9%).

Каждый второй обследованный ребенок имеет сопутствующую патологию (54,9%). У каждого четвертого ребенка отмечалсяотягощенный аллергологический анамнез (150; 24,0%), а в 23,0% случаев (144) - часто болеющие дети.

Только в 17,7% случаев был установлен период раннего инфицирования МБТ, в 47,8% - имело место нарастание чувствительности к туберкулину на фоне нормергической реакции, что не позволило ранее направить ребенка к фтизиатру для обследования.

Согласно результатам комплексного обследования, в 41,1% случаев (269) дети были здоровы (I группа). Во вторую (II) группу (n=127) определены пациенты с латентной туберкулезной инфекцией, т.е. наличием положительного результата по пробе с АТР без клинических и рентгенологических проявлений туберкулеза [72], III группу (n=258) составили дети, больные туберкулезом органов дыхания.

Проведенный анализ выявления латентной туберкулезной инфекции (ЛТИ) у детей с различной чувствительностью к туберкулину по пробе Манту

с 2 ТЕ показал, что при низких показателях по пробе Манту с 2 ТЕ (ПМ с 2ТЕ) в 10% случаев уже имела место ЛТИ, при средней чувствительности - в 50%, однако дети не направлялись к фтизиатру, и это привело к позднему выявлению заболевания, что подтверждается выявлением туберкулеза на фазе обратного развития и кальцинации в 87,4% случаев у детей из III группы.

В то же время гиперергический характер чувствительности не является истинным в 59,7% случаев и не требует наблюдения и лечения в условиях противотуберкулезного диспансера.

Проведенный дальнейший анализ результатов туберкулинодиагностики с применением ПМ с 2 ТЕ показал отсутствие возможности по чувствительности к туберкулину дифференцировать ЛТИ и заболевание туберкулезом (высокая чувствительность отмечалась в 75,9% и 84,1% случаев соответственно).

Полученные данные свидетельствуют о необходимости применения пробы с АТР в качестве скринингового метода, что позволит улучшить раннюю диагностику туберкулеза.

В исследовании доказано, что положительные данные по пробе с АТР и положительные результаты IGRA - тестов совпадали в 73,5% случаев по ELISPOT и в 84,2% - по QFT. Однако у 21 пациента (5,9%) с положительными результатами АТР были выявлены отрицательные результаты IGRA-тестов. Учитывая высокую распространенность среди детей сопутствующей соматической патологии и возможность ее влияния на результаты кожных проб, был проанализирован спектр имеющейся сопутствующей патологии у детей с расхождением результатов иммунологических тестов (пробы с АТР, QFT и ELISPOTa) исследования. У детей с расхождением результатов иммунологических тестов достоверно чаще выявлялось ожирение и аллергическая патология. Известно, что данная патология влияет на результаты гиперчувствительности замедленного типа. Таким образом, у

детей с данной сопутствующей патологией целесообразно применение IGRA –тестов для предотвращения возможности получения ложноположительных результатов по пробе с АТР.

Далее был проведен анализ индивидуальных иммунологических показателей клеточного и гуморального звена иммунитета у детей с различными проявлениями туберкулезной инфекции. Важным результатом проведенного углубленного иммунологического обследования явилось выявление особенностей иммунного ответа у детей с ЛТИ, которые могут служить дополнительными критериями при оценке риска развития туберкулеза и при необходимости назначения превентивного курса терапии. Доказано, что у детей с ЛТИ и больных туберкулезом имеет место нарушение фагоцитарной активности нейтрофилов. Однако на фоне латентной инфекции повышается уровень цитокинов (IL-2, IL-4, TNF- α ; IFN- γ), стимулированных специфическим антигеном, и относительного количества CD 25+ на фоне незавершенного фагоцитоза. Полученные данные свидетельствуют о наличии напряженного гуморального иммунного ответа, который не сопровождается адекватной реакцией со стороны фагоцитарного звена иммунитета, что может служить неблагоприятным прогностическим фактором для развития туберкулеза у детей с ЛТИ, так как у больных туберкулезом имеет место снижение гуморального ответа, в том числе на фоне снижения активности нейтрофилов. Таким образом, попадание инфекционного агента, в данном случае микобактерий туберкулеза, в организм ребенка сопровождается реакцией цитокинового звена, но не поддерживается клеточным иммунным ответом, что может служить причиной развития туберкулеза даже на фоне проведения превентивных курсов терапии. Полученные данные требуют дальнейшего изучения, но в настоящее время могут служить дополнительными критериями при оценке необходимости проведения превентивного курса терапии и сроков наблюдения ребенка.

С целью выявления наиболее значимых факторов риска в развитии туберкулезной инфекции у детей с ЛТИ в четвертой главе данного исследования представлен результат наблюдения в динамике 127 детей с ЛТИ. Пациентам проводилось обследование через 6 и 12 месяцев. По окончании периода наблюдения заболевание туберкулезом было установлено у 76 (59,1%) детей, таким образом, показатель риска развития заболевания составил $RR = 0,6$ и шанса - $OR=1,5$).

Анализ факторов риска развития активного туберкулеза в группе детей с ЛТИ показал, что наиболее существенными факторами, влияющими на развитие туберкулеза, явились контакт с больным туберкулезом ($RR = 1,553$), наличие сопутствующей патологии ($RR = 1,364$) и отсутствие курса превентивной терапии ($RR = 1,458$). Туберкулез у детей из контакта и с сопутствующей патологией развился в 90,9% (10) ($RR=0,9$; $OR=10,0$), что достоверно выше, чем у пациентов без контакта и без сопутствующей патологии (90,9% против 46,6% где $\chi^2=8,15$, $p<0,01$, $RR=0,4$, $OR=0,8$). Риск развития ТБ при наличии сочетания факторов риска (контакта и СП) в 10 раз выше.

В настоящее время нет единого мнения относительно выбора схемы превентивной терапии. В этом исследовании был проведен анализ данных детей без терапии, а также при назначении превентивного курса терапии в течение 3-х и 6-ти месяцев. У пациентов, которым был проведен шестимесячный курс терапии, туберкулез развивался достоверно реже, чем у детей без лечения (71,7% против 26,7%, где $\chi^2=11,02$, $p<0,001$), так же как при сравнении трехмесячного курса терапии с шестимесячным (55,1% против 26,7%, где $\chi^2=6,31$, $p<0,05$), где эффективность шестимесячного курса достоверно выше.

Дополнительным критерием, кроме изменения показателей иммунного ответа, для назначения превентивной терапии у детей с ЛТИ, не имеющих факторов риска, может служить нарастание чувствительности по пробе с АТР.

Показатели пробы достоверно часто увеличивались у детей с ЛТИ, заболевших туберкулезом, по сравнению со здоровыми.

Полученные данные позволили разработать алгоритм, который может быть применен в условиях общей лечебной сети для выявления ЛТИ и в противотуберкулезном диспансере при наблюдении детей.

Разработанные предложения направлены на усовершенствование мероприятий по раннему выявлению туберкулеза с учетом практически тотальной вакцинации БЦЖ, роста сопутствующей патологии, факторов риска, оценки индивидуальных иммунологических показателей (ИИ) и возможности применения различных иммунологических тестов (пробы с АТР и IGRA-тестов), а также с учетом дифференцированной тактики при назначении превентивного курса терапии.

В условиях ОЛС особое внимание следует уделять детям, имеющим жалобы, а также контакт с больным туберкулезом. Они должны сразу направляться в противотуберкулезный диспансер (ПТД) и обследоваться с применением всех необходимых методов. Пациенты с сопутствующей патологией требуют дифференцированного подхода в выборе иммунологического теста. Наличие отягощенного аллергологического анамнеза, ожирения и снижения индивидуальных иммунологических показателей требует проведения IGRA-тестов с целью предотвращения получения ложноположительных и ложноотрицательных показателей по данным пробы с АТР.

При других сопутствующих заболеваниях изменений показателей пробы с АТР получено не было, что делает возможным ее применение у детей без сопутствующей патологии.

Далее должна проводиться оценка результатов иммунологических тестов (пробы с АТР и IGRA-тестов). Положительные результаты тестов требуют направления ребенка для обследования в ПТД, отрицательные

результаты данных тестов не требуют углубленного обследования, т.к. свидетельствуют об отсутствии активности туберкулезной инфекции. Такие дети могут наблюдаться педиатром в условиях поликлиники.

На следующем этапе необходимо наблюдение и обследование детей с ЛТИ в условиях ПТД с целью предотвращения развития заболевания туберкулезом. Отрицательный результат пробы с АТР и/или IGRA-тестов при наличии контакта с больным ТБ, а также при наличии сопутствующей патологии, факторов риска дает возможность наблюдения ребенка в динамике без назначения превентивного курса терапии. Сохраняющийся отрицательный тест (проба с АТР или IGRA-тест) позволяет не проводить курс терапии и далее.

Выявление ЛТИ у ребенка с факторами риска требует назначения превентивного курса терапии, который должен быть не менее 6-ти месяцев.

Наличие положительного результата теста (пробы с АТР или IGRA-теста) у ребенка без факторов риска позволяет провести оценку индивидуальных иммунологических показателей, которые смогут помочь в выборе тактики назначения терапии. Повышение уровня цитокинов (IL-2, IL-4, TNF- α ; IFN- γ), стимулированных специфическим антигеном, и относительного количества CD 25+ на фоне незавершенного фагоцитоза является дополнительным критерием для назначения превентивного курса терапии (ПТ).

Разработанный и представленный двухэтапный алгоритм дает возможность дифференцированного подхода в выборе иммунологического теста при различной сопутствующей патологии и рекомендует обратить особое внимание на детей, требующих углубленного обследования по жалобам и из контакта с больным туберкулезом, а также позволяет получить истинные данные о наличии латентной туберкулезной инфекции на этапе

обследования в ОЛС, что улучшит раннюю диагностику туберкулезной инфекции.

На втором этапе наблюдения детей с ЛТИ в условиях ПТД представленный алгоритм дает возможность выбрать тактику ведения детей с учетом наиболее значимых факторов риска (сопутствующей патологии и контакта с больным туберкулезом), а также с учетом индивидуальных иммунологических показателей, что снизит необходимость назначения превентивной терапии, а значит предотвратит формирование в последующем лекарственной устойчивости.

Полученные в исследовании данные позволили не только выявить наиболее значимые факторы риска в развитии туберкулезной инфекции у детей с ЛТИ, на основании которых был усовершенствован алгоритм диагностики и дальнейшего наблюдения пациентов, но и рассчитать его информативность при проведении дискриминантного анализа. Диагностическая информативность разработанного алгоритма составила 81,9%. Применение данного алгоритма позволит усовершенствовать раннюю диагностику туберкулеза, изменить подход к наблюдению детей с ЛТИ в условиях противотуберкулезного диспансера и, как следствие, снизить заболеваемость туберкулезом у детей.

Таким образом, полученные в ходе исследования данные доказывают необходимость применения пробы с АТР при проведении массового скрининга детского населения в условиях тотальной вакцинации БЦЖ/БЦЖ-М с целью повышения эффективности раннего выявления туберкулезной инфекции в условиях ОЛС.

Пробу с АТР необходимо с осторожностью применять у детей с отягощённым аллергическим анамнезом и ожирением, так как есть вероятность получения ложноположительного результата. Данной категории детского населения могут быть рекомендованы IGRA-тесты (QFT и ELISPOT),

которые позволяют избежать получения ложноположительных результатов по пробе с АТР в 50-60% случаев.

Изменения индивидуальных иммунологических показателей гуморального и клеточного иммунитета у детей с ЛТИ могут служить дополнительными критериями в определении необходимости назначения превентивной терапии при отсутствии факторов риска, так же как нарастание в динамике чувствительности по пробе с АТР.

Однозначно превентивный курс терапии на 6 месяцев должен быть назначен у детей с ЛТИ при сочетании неблагоприятных факторов риска, таких как контакт с больным туберкулезом и наличие сопутствующей патологии. Риск развития туберкулеза у данной категории детей возрастает в 10 раз. Наиболее эффективным у детей с ЛТИ и с наличием факторов риска может считаться курс терапии, проведенный двумя противотуберкулезными препаратами в течение шести месяцев.

Полученные данные позволили разработать двухэтапный алгоритм выявления и наблюдения детей с ЛТИ с индивидуальным подходом в выборе иммунологического метода диагностики ЛТИ, а также дальнейшего наблюдением в условиях противотуберкулезного диспансера с учетом факторов риска.

ВЫВОДЫ

1. Применение пробы с аллергеном туберкулезным рекомбинантным (АТР) у вакцинированных против туберкулеза детей позволяет в 19,4% случаев выявить латентную туберкулезную инфекцию и в 39,4% - активный туберкулез. У детей с сопутствующей аллергической патологией и с ожирением применение данного метода сопровождается риском получения ложноположительных результатов в 50-60% случаев.
2. Латентная туберкулезная инфекция сопровождается повышением относительного количества CD 25+ лимфоцитов и уровня цитокинов (IL-2, IL-4, TNF- α ; IFN- γ), стимулированных специфическим антигеном, на фоне незавершенного фагоцитоза.
3. У детей с ЛТИ риск развития активного туберкулеза составляет 59,8%, который повышается при контакте с больным туберкулезом, при наличии сопутствующей патологии и при отсутствии превентивной химиотерапии до 80,0%, 74,3% и 71,1% случаев соответственно.
4. Внедрение в алгоритм диагностики ЛТИ иммунологических тестов нового поколения в условиях массовой вакцинации в общей лечебной сети и учет факторов риска в условиях противотуберкулезного диспансера повышает эффективность раннего выявления туберкулеза до 81,9%.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Применение пробы с аллергеном туберкулезным рекомбинантным в качестве скринингового метода в условиях массовой вакцинации БЦЖ необходимо для раннего выявления туберкулезной инфекции. Детям с сопутствующей аллергической патологией и с ожирением рекомендовано применение IGRA – тестов (ELISPOT и QFT).
2. Наличие контакта с больным туберкулезом и сопутствующей патологии у детей с латентной туберкулезной инфекцией требует назначения превентивного курса терапии двумя противотуберкулезными препаратами в течение 6 месяцев.
3. Изменение иммунологических показателей на фоне ЛТИ, сопровождающееся снижением функции нейтрофилов на фоне повышения уровня относительного количества CD 25+лимфоцитов и уровня цитокинов (IL-2, IL-4, TNF- α ; IFN- γ), стимулированных специфическим антигеном, может служить дополнительным критерием для назначения превентивной терапии.
4. Выявление ЛТИ в условиях общей лечебной сети и противотуберкулезного диспансера необходимо проводить с применением иммунологических тестов нового поколения и с учетом факторов риска по развитию туберкулеза.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АТР	аллерген туберкулезный рекомбинантный
ВОЗ	Всемирная Организация Здравоохранения
ДСТ	проба с препаратом ДИАСКИНТЕСТ [®]
ДС	диагностическая специфичность
ДЧ	диагностическая чувствительность
ДЭ	диагностическая эффективность
КФ	квантифероновый тест
ELISPOT	иммуноферментный СПОТ-метод
МБТ	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>
МСКТ	многосрезовая компьютерная томография
ПЗОР	прогностическая значимость отрицательного результата
ПЗПР	прогностическая значимость положительного результата
ПТД	противотуберкулезный диспансер
СКТ	спиральная компьютерная томография
ТОД	туберкулёз органов дыхания
ТЛ	туберкулез легких
БЦЖ	Вакцинация Bacillus Calmette Guerin
CFP10	culture filtered protein (белок культурального фильтрата)
ESAT6	Early secreted antigenic target (ранний секретируемый белок) <i>M. tuberculosis</i>
IGRA	Interferon-Gamma Release Assays (иммуноферментный метод определения антиген-стимулированной индукции гамма- интерферона)
PPD	purified protein derivative (препарат очищенного туберкулина)

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Аджаблаева, Д.Н. Динамика качества жизни подростков как показатель эффективности лечения / Д.Н. Аджаблаева // Казан. мед. журн. – 2014. – Т. 95, № 6. – С. 866-869.
2. Аксенова, В.А. Туберкулез у детей и подростков в России к началу XXI в // В.А. Аксенова, Т.А. Севастьянова, Н.И. Клевно / Вестник Росздравнадзора. - 2013. - №3. - С.19-23.
3. Александрова, Е.Н. Особенности течения туберкулеза в раннем детском возрасте / Е.Н. Александрова, Т.И. Морозова // Туберкулез и болезни легких. – 2013. – № 6. – С. 8-9.
4. Анализ заболеваемости туберкулезом детей и подростков среди контактных и результаты использования препарата диаскинотест в группах риска по туберкулезу в Карелии / В.С. Федоровых [и др.] // Туберкулез и болезни легких. – 2014. – № 8. – С. 108-109.
5. Анализ причин развития туберкулеза у детей из группы риска по туберкулезу / Р.Ш. Валиев [и др.] // Туберкулез и болезни легких. – 2015. – № 5. – С. 56-57.
6. Аксенова, В.А. Эффективность аллергена туберкулезного рекомбинантного при раннем выявлении туберкулезной инфекции у детей и подростков в условиях общей лечебной сети / В.А. Аксенова, Л.А. Барышникова // Вопросы современной педиатрии. - 2015. - Т.14. - №3. - С.358-362.
7. Белова, Е.В. Оценка ряда показателей иммунитета у часто и длительно болеющих детей с определением иммунологической реактивности на чувствительность к туберкулину в условиях поликлинических педиатрических отделений общей лечебной сети / Е.В. Белова, В.А. Стаханов // Туберкулез и болезни легких. – 2014. – № 8. – С. 19-20.

8. Барышникова, Л.А. Туберкулёз у детей младшего возраста в Самарской области / Л.А. Барышникова // Туберкулез и болезни легких. – 2013. – № 6. – С. 15-16.
9. Возможности диагностики латентной туберкулезной инфекции у детей в условиях противотуберкулезного диспансера / С.М. Ананьев [и др.] // Туберкулез и болезни легких. – 2014. – № 8. – С. 12-13.
10. Волчкова, И.Л. Использование пробы с диаскинтестом для отбора на превентивную терапию детей и подростков с латентной туберкулезной инфекцией / И.Л. Волчкова, Н.Е. Казимирова, Л.Э. Панкратова // Туберкулез и болезни легких. - 2015. – № 5. - С. 64-65.
11. Волчкова, И.Л. Особенности диспансерного наблюдения детей с латентной туберкулезной инфекцией при наличии сопутствующих заболеваний / И.Л. Волчкова, Н.Е. Казимирова, Л.Э. Панкратова // Туберкулез и болезни легких. – 2014. – № 8. – С. 30-31.
12. Ганза, В.Н. Внелегочный туберкулез у детей и подростков в Хабаровском крае / В.Н. Ганза, В.П. Свистунова, М.А. Кравченко // Актуальные проблемы педиатрии и хирургии детского возраста. – Хабаровск, 2013. – С. 56-61.
13. Диагностические возможности современных иммунологических тестов при определении активности туберкулезной инфекции у детей / А.А. Старшинова [и др.] // Туберкулез и болезни легких. – 2012. – № 8. – С. 40-43.
14. Дьяченко, О.А. Влияние туберкулезной инфекции на качество жизни детей / О.А. Дьяченко, В.П. Свистунова // Актуальные проблемы педиатрии и хирургии детского возраста. – Хабаровск, 2013. – С. 61-67.
15. Емельянова, Н.А. Сравнительная характеристика туберкулеза органов дыхания у подростков в Республике Беларусь за десятилетний период / Н.А. Емельянова, Н.С. Морозкина, Ж.И. Кривошеева // Туберкулез и болезни легких. – 2014. – № 8. – С. 35-36.

16. Ефимова, И.В. Анализ заболеваемости туберкулезом детей в г. Кемерово / И.В. Ефимова, И.Ф. Копылова, М.И. Гальмина // Туберкулез и болезни легких. – 2014. – № 8. – С. 36-37.
17. Заболеваемость туберкулёзом детей в Саратовской области: вчера и сегодня / Е.Н. Александрова [и др.] // Туберкулез и болезни легких. – 2013. – № 1. – С. 16-20.
18. Значение диаскинтеста и квантиферонового теста в диагностике туберкулеза у детей / В.В. Белушков [и др.] // Фунд. исслед. – 2012, № 7, ч. 1. – С. 34-39.
19. Значение современных иммунологических тестов в диагностике туберкулеза у детей / П.К. Яблонский [и др.] // Мед. иммунол. – 2013. – Т. 15, № 1. – С. 37-44.
20. Зоркальцева, Е.Ю. Имитационная модель эпидемического процесса туберкулеза среди детского населения Иркутской области / Е.Ю. Зоркальцева, В.И. Зоркальцев, С.Н. Шугаева // Туберкулез и болезни легких. – 2015. – № 3. – С. 24-28.
21. Зоркальцева, Е.Ю. Эпидемическая ситуация по туберкулезу среди детей в Иркутской области в 2000-2011 гг. / Е.Ю. Зоркальцева, И.Ю. Горшкова, С.В. Пугачева // Туберкулез и болезни легких. – 2014. – № 8. – С. 40-41.
22. Иммунологические особенности при локальных формах туберкулеза у детей / Т.Е. Ахмерова [и др.] // Туберкулез и болезни легких. – 2014. – № 8. – С. 14-15.
23. Иммунологические особенности раннего периода первичной туберкулезной инфекции у детей, проживающих в сельской местности / Т.Г. Подкопаева [и др.] // XXIII Национальный конгресс по болезням органов дыхания, Казань, 22-25 октября 2013 г.: сб. тр. конгр. – М., 2013. – С. 290-291.

24. Иммунологические показатели при различной активности туберкулезной инфекции у детей / Н.В. Корнева [и др.] // Мед. иммунол. – 2014. – Т. 16, № 5. – С. 425-430.
25. Иммунологические показатели у детей с различными проявлениями туберкулезной инфекции / Н.В. Корнева [и др.] // Рос. иммунол. журн. – 2013. - Т.7, № 2-3. – С. 250.
26. Иммунологические показатели при различной активности туберкулезной инфекции у детей / Н.В. Корнева [и др.] // Медицинская иммунология. – 2014. –Т. 16, №5. – С. 425-430.
27. Камаева, Н.Г. Заболеваемость туберкулёзом детей в Уральском федеральном округе / Н.Г. Камаева, Ю.П. Чугаев, В.А. Подгаева // Туберкулез и болезни легких. – 2013. – Т.90, № 6. – С. 039-040.
28. Кисличкин, Н.Н. Диагностика туберкулеза. Туберкулин и группа препаратов на основе белков ESAT-6/CFP-10 / Н.Н. Кисличкин, Т.В. Ленхерр-Ильина, И.В.Красильников // Инфекционные болезни. - 2016. - Т.14, №1. - С.48-54.
29. Клинико-эпидемиологические особенности туберкулеза у детей на территориях Северо-Западного региона России при внедрении в диагностику туберкулеза кожной пробы с диаскинтестом и компьютерной томографии / И.Ф. Довгальок [и др.]// Туберкулез и болезни легких. – 2015. – № 1. – С. 4-9.
30. Клинико-эпидемиологические особенности туберкулеза у детей первого года жизни / В.А. Болотникова [и др.] // Туберкулез и болезни легких. – 2013. – № 6. – С. 18-19.
31. Козлова, О.Ф. Информативность современных лучевых и иммунологических методов диагностики туберкулеза у детей и подростков / О.Ф. Козлова, Е.В. Черепанова // Туберкулез и болезни легких. – 2015. – № 5. – С. 80-81.
32. Колесник, Н.С. Проблемы и пути выявления туберкулеза у детей из очагов туберкулезной инфекции / Н.С. Колесник // XXII

- Национальный конгресс по болезням органов дыхания, Москва, 23-26 октября 2012 г.: сб. тр. конгр. – М., 2012. – С. 262.
33. Комбинированное определение спонтанной и антигениндуцированной продукции цитокинов для дифференциальной диагностики активного туберкулеза легких и латентной туберкулезной инфекции / Е.В. Васильева [и др.] // Журн. микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2013. – № 4. – С. 77-85.
 34. Копылова, И.Ф. Структура клинических форм активного туберкулеза у детей и подростков в динамике за 20 лет / И.Ф. Копылова, Е.Н. Лукашова, Т.В. Пьянзова // Туберкулез и болезни легких. – 2014. – № 8. – С. 57-58.
 35. Корецкая, Н.М. Заболеваемость туберкулезом и динамика ее структуры у детей Красноярского края / Н.М. Корецкая // Сиб. мед. обозрение. – 2013. – № 3. – С. 63-67.
 36. Корецкая, Н.М. Диаскинтест: новые возможности в диагностике туберкулеза / Н.М. Корецкая // Медицина в Кузбассе. – 2013. - №4. - С.3-8.
 37. Корецкая, Н.М. Диаскинтест - инновационный метод диагностики туберкулеза у студентов медицинского ВУЗа / Н.М. Корецкая [и др.] // Инновации в общественном здоровье и здравоохранении: экономика, менеджмент, право. – Новосибирск: Сибмедиздат НГМУ, 2012. - С.97-101.
 38. Комбинированное определение спонтанной и антигениндуцированной продукции цитокинов для дифференциальной диагностики активного туберкулеза легких и латентной туберкулезной инфекции / Е.В. Васильева [и др.] // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2013. – № 4. – С. 77-85.
 39. Моисеева, О.В. Оценка долгосрочной динамики эпидемической ситуации по туберкулезу у детей Российской Федерации и Удмуртской

- Республики / О.В. Моисеева // Туберкулез и болезни легких. – 2015. – № 5. – С. 120-121.
40. Мордовская, Л.И. Использование иммунологических проб в диагностике туберкулезной инфекции у детей и подростков / Л.И. Мордовская, Н.М. Ощепкова, О.И. Гурьева // Туберкулез и болезни легких. – 2015. – № 6. – С. 101.
41. Мотанова, Л.Н. Значение массовой туберкулинодиагностики в выявлении туберкулеза органов дыхания у детей различных возрастных групп / Л.Н. Мотанова, Е.Д. Зубова // Тихоокеан. мед. журн. – 2012. – № 4. – С. 54-56.
42. Мякишева, Т.В. Дети с ревматоидным артритом как иммунокомпрометированная группа риска по туберкулезу / Т.В. Мякишева, Т.Г. Авдеева, Е.Е. Рашкевич // Туберкулез и болезни легких. – 2015. – № 6. – С. 103-104.
43. Нечаева, О.Б. Эпидемическая ситуация по туберкулезу среди детей России / О.Б. Нечаева // Туберкулез и болезни легких. – 2013. – № 6. – С. 62- 63.
44. Новые возможности организации раннего выявления туберкулеза у подростков / Л.А. Барышникова [и др.] // Туберкулез и болезни легких. – 2014. – № 8. – С. 19.
45. Овчинникова, О.А. Эпидемиологические аспекты заболевания туберкулезом детей и подростков в Липецкой области за период с 1992 по 2013 г. / О.А. Овчинникова, Г.Н. Хоружая // Туберкулез и болезни легких. – 2014. – № 8. – С. 80-81.
46. Определение активности туберкулезной инфекции у подростков с применением иммунологических методов / М.В. Павлова [и др.] // Туберкулез и болезни легких. – 2014. – № 8. – С. 81-82.
47. Особенности диагностики туберкулеза у детей при применении пробы Диаскинтест / Е.А. Бородулина [и др.]// Эпидемиол. и вакцинопрофилактика. – 2014. – № 6. – С. 51-55.

48. Оценка эпидемиологической опасности очагов туберкулезной инфекции для проживающих в них детей по результатам внутрикожных проб / Н.М. Корецкая [и др.] // Сиб. мед. обозрение. – 2014. – № 1. – С. 52-57.
49. Ощепкова, Н.М. Особенности очагов туберкулеза в сельской местности в условиях региона Крайнего Севера / Н.М. Ощепкова, М.К. Винокурова // Якут. мед. журн. – 2013. – № 1. – С. 85-87.
50. Панова, О.В. Состояние клеточного иммунитета у детей раннего и дошкольного возраста, больных туберкулезом, с хронической герпесвирусной инфекцией / О.В. Панова, В.А. Стаханов // XXIII Национальный конгресс по болезням органов дыхания, Казань, 22-25 октября 2013 г.: сб. тр. конгр. – М., 2013. – С. 260.
51. Плеханова, М.А. Состояние вопроса о туберкулезной инфекции у детей и подростков на фоне изменения эпидемической ситуации / М.А. Плеханова // Туберкулез и болезни легких. – 2014. – № 8. – С. 83-85.
52. Результаты специфических внутрикожных тестов у детей с ранним периодом первичной туберкулезной инфекции и здоровых детей / Е.Г. Андреева [и др.] // Туберкулез и болезни легких. – 2014. – № 8. – С. 13-14.
53. Романюха, А.А. Математические модели в иммунологии и эпидемиологии инфекционных заболеваний / А.А. Романюха; под общ. ред. Г.И. Марчука. – М. : БИНОМ. Лаборатория знаний, 2012. – 293 с.
54. Салина, Т.Ю. Состояние гуморального иммунного ответа у детей и подростков с разными клиническими формами туберкулеза / Т.Ю. Салина, Т.И. Морозова // Туберкулез и болезни легких. – 2014. – № 8. – С. 93-94.
53. Слогодская, Л.В. Кожные иммунологические пробы при туберкулезе – история и современность / Л.В. Слогодская // Туберкулез и болезни легких. – 2013. – № 5. – С. 39-47.

55. Сметанин, А.Г. Диагностическая ценность кожных иммунологических тестов у детей, больных туберкулезом / А.Г. Сметанин, Я.А. Даулетова, С.Л. Леонов // Туберкулез и болезни легких. – 2015. – № 1. – С. 25-28.
56. Сотнева, И.Б. Использование пробы с диаскинтестом для массового обследования детей и подростков Нижегородской области в 2013 г. / И.Б. Сотнева, А.В. Павлушин // Туберкулез и болезни легких. – 2015. – № 5. – С. 173.
57. Социально-эпидемиологическая характеристика туберкулезной инфекции у детей в Якутии. / Н.А. Гуляева [и др.] // Современные технологии диагностики, лечения и профилактики в педиатрии: сб. науч. тр. – Якутск, 2012. – С. 66-74.
58. Сравнительная характеристика реакций на пробу Манту и Диаскинтест у детей различных возрастных групп с латентной туберкулёзной инфекцией / Л.Н. Мотанова [и др.] // Туберкулез и болезни легких. – 2013. – № 6. – С. 56-58.
59. Старшинова, А.А. Диагностика туберкулеза у детей из семейного очага инфекции с применением современных иммунологических и лучевых методов / А.А. Старшинова, П.В. Гаврилов, И.Ф. Довгалюк // Практ. медицина. – 2012. – № 1. – С. 74-76.
60. Старшинова, А.А. Определение активности туберкулезной инфекции у детей из семейного очага с применением современных иммунологических методов / А.А. Старшинова, И.Ф. Довгалюк, М.В. Павлова // Туберкулез и болезни легких. – 2013. – № 6. – С. 86-87.
61. Тараненко, Е.Л. Эпидемиологическая характеристика туберкулезной инфекции у детей и подростков Хабаровского края / Е.Л. Тараненко, Н.В. Гевлич, В.П. Свистунова // Актуальные проблемы педиатрии и хирургии детского возраста. – Хабаровск, 2013. – С. 184-191.

62. Тарасова, Л.Г. Туберкулез у детей Астраханской области / Л.Г. Тарасова, Е.Н. Стрельцова // Астрахан. мед. журн. – 2012. – Т. 7, № 1. – С. 107-111.
63. Туберкулез у детей в Иркутской области / Е.Ю. Зоркальцева [и др.] // Бюл. сиб. мед. – 2013. – Т. 12, № 1. – С. 128-130.
64. Туберкулез у детей в России и задачи фтизиатрической и общей педиатрической службы по профилактике и раннему выявлению заболевания / В.А. Аксенова [и др.] // Туберкулез и болезни легких. – 2014. – № 3. – С. 40-46.
65. Туберкулез в Российской Федерации в 2011/ Аналитический обзор статистических показателей, используемых в Российской Федерации и в мире. – Москва, 2014. – 213с.
66. Туберкулез у детей и подростков в России к началу XXI в. / В.А. Аксенова [и др.] // Вестник Росздравнадзора. – 2013. – № 3. – С. 19-23.
67. Течение туберкулезного процесса у детей раннего возраста с ВИЧ-инфекцией, не вакцинированных вакциной БЦЖ-М/ Т.А. Севастьянова [и др.] // Туберкулез и болезни легких. - 2014. - №9. - С.66-67.
68. Туберкулез у детей на Украине / О.И. Белогорцева [и др.] // Туберкулез и болезни легких. – 2014. – № 8. – С. 20-21.
69. Туберкулез у детей Российской Федерации на современном этапе / А.В. Мордык [и др.] // Педиатр. фармакол. – 2014. – Т 11, № 3. – С. 27-30.
70. Тюлькова, Т.Е. Иммунологические показатели, характеризующие развитие латентной туберкулезной инфекции / Т.Е. Тюлькова, А.А. Шурыгин // Рос. иммунол. журн. – 2013. – Т.7, № 2-3. – С. 257.
71. Филимонов, П.Н. К дискуссии о латентной туберкулезной инфекции / П.Н. Филимонов // Туберкулез и болезни легких. – 2014. – № 5. – С. 69-73.

72. Федеральные клинические рекомендации по диагностике и лечению латентной туберкулезной инфекции у детей / В.А. Аксенова [и др.] – 2014. - 28 с. - Федеральная электронная медицинская библиотека.
73. Фтизиатрия. Национальные клинические рекомендации / под ред. П. К. Яблонского. — М. : ГЭОТАР - Медиа, 2015. — 240 с.
74. Шилова, М.В. Своевременное выявление больных туберкулезом органов дыхания в России – одно из главных направлений профилактической медицины / М.В. Шилова// Медицинский алфавит.- 2013. - Т.1, №5. - С.22-28.
75. Шилова, Е.П. Динамика чувствительности к аллергену туберкулезному рекомбинантному у детей с различными проявлениями туберкулезной инфекции / Е.П. Шилова, Л.В. Поддубная, И.М. Степченко // Туберкулез и болезни легких. – 2015. – № 5. – С. 193-194.
76. Эпидемиологическая ситуация по туберкулезу в г. Воронеже в настоящее время / В.Д. Леликова [и др.] // Систем. анализ и упр. в биомед. системах. – 2013. – Т.12, № 4. – С. 996-999.
77. Эпидемиологическая ситуация по туберкулезу среди детского и подросткового населения: обзор литературы / В.В. Долгих [и др.] // Бюл. Вост.-Сиб. науч. центра СО РАМН. – 2013. - № 2, ч. 1. – С. 159-164.
78. Эффективность нового препарата для диагностики туберкулеза у детей и подростков / Л.А. Барышникова [и др.] // Вопр. соврем. педиатрии. – 2012. - Т. 11, № 5.– С. 104-108.
79. Эффективность превентивной терапии при "пограничных состояниях" туберкулезной инфекции у детей / Ю.Э. Овчинникова [и др.] // Журнал инфектологии.– 2013. – Т. 5, №4. – С. 83.
80. A predictive signature gene set for discriminating active from latent tuberculosis in Warao Amerindian children / L.M. Verhagen [et al.] // BMC Genomics. - 2013. - Vol. 14, № 74. - DOI: 10.1186/1471-2164-14-74.

81. Acceptance of treatment for latent tuberculosis infection: prospective cohort study in the United States and Canada / P.W. Colson [et al.]; Tuberculosis Epidemiologic Studies Consortium // *Int. J. Tuberc. Lung Dis.* - 2013. - Vol. 17, № 4. - P. 473-479.
82. Assessment of the novel T-cell activation marker-tuberculosis assay for diagnosis of active tuberculosis in children: a prospective proof-of-concept study / D. Portevin [et al.] // *Lancet Infect. Dis.* - 2014. - Vol. 14, № 10. - P. 931-938.
83. Association of the level of IFN- γ produced by T cells in response to *Mycobacterium tuberculosis*-specific antigens with the size of skin test indurations among individuals with latent tuberculosis in a highly tuberculosis-endemic setting / M. Legesse [et al.] // *Int. Immunol.* - 2012. - Vol. 24, № 2. - P. 71-78.
84. Basu, Roy R. Current understanding of the immune response to tuberculosis in children / Roy R. Basu, E. Whittaker, B. Kampmann // *Curr. Opin. Infect. Dis.* - 2012. - Vol. 25, № 3. - P. 250-257
85. Burden of childhood tuberculosis in 22 high-burden countries: a mathematical modelling study / P.J. Dodd [et al.] // *Lancet Glob. Health.* - 2014. - Vol. 2, № 8. - P. e453-459.
86. CD8⁺ T cells provide an immunologic signature of tuberculosis in young children / C. Lancioni [et al.]; Tuberculosis Research Unit. // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* - 2012. - Vol. 185, № 2. - P. 206-212.
87. Chapman, H.J. Advances in diagnosis and treatment of latent tuberculosis infection / H.J. Chapman, M. Lauzardo // *J. Am. Board Fam. Med.* - 2014. - Vol. 27, № 5. - P. 704-712.
88. Chiang, S.S. New Diagnostics for Childhood Tuberculosis Review / S.S. Chiang, S.D. Swanson, R.S. Jeffrey // *Infect. Dis. Clin. North Am.* - 2015. - Vol. 29, Iss. 3. - P. 477-502.

89. Childhood tuberculosis: epidemiology, diagnosis, treatment, and vaccination / K.S. Tsai [et al.] // *Pediatr. Neonatol.* - 2013. - Vol. 54, № 5. - P. 295-302.
90. Circulating biomarkers of pulmonary and extrapulmonary tuberculosis in children / N. Pavan Kumar [et al.] // *Clin. Vaccine Immunol.* - 2013. - Vol. 20, № 5. - P. 704-711.
91. Comparison of IGRA tests and TST in the diagnosis of latent tuberculosis infection and predicting tuberculosis in risk groups in Krakow, Poland / K. Kruczak [et al.] // *Scand. J. Infect. Dis.* - 2014. - Vol. 46, № 9. - P. 649-655.
92. Companion handbook to the WHO guidelines for the programmatic management of drug-resistant tuberculosis. – Geneva: WHO, 2014. – 448 p.
93. Guidelines on the management of LTBI. WHO, 2014. - 38p.
94. Cytokine responses to quantiferon peptides in pediatric tuberculosis: a pilot study / M. Armand [et al.] // *J. Infect.* - 2014. - Vol. 68, № 1. - P. 62-70.
95. Diagnosis of active and latent tuberculosis: summary of NICE guidance / I. Abubakar [et al.]; Guideline Development Group // *BMJ.* - 2012. - Vol. 345. – P. e6828.
96. Early cellular immune response to a new candidate mycobacterial vaccine antigen in childhood tuberculosis / K. Schepers [et al.] // *Vaccine.* - 2015. - Vol. 33, № 8. - P. 1077-1083.
97. Effect of isoniazid on antigen-specific interferon- γ secretion in latent tuberculosis / M. Torres [et al.] // *Eur. Respir. J.* – 2015. – Vol. 45, № 2. - P. 473-482.
98. Epidemiologic Studies Consortium. Epidemiology of tuberculosis in young children in the United States / J. Pang [et al.] // *Pediatrics.* - 2014. - Vol. 133, № 3. - P. e494-504.

99. Epidemiology and clinical management of tuberculosis in children in Canada / S.K. Morris [et al.] // Paediatr. Child Health. - 2015. - Vol. 20, № 2. - P. 83-88.
100. Epidemiology of tuberculosis in young children in the United States / J. Pang [et al.]; Tuberculosis Epidemiologic Studies Consortium // Pediatrics. - 2014. - Vol. 133, № 11. - P. 889-896.
101. Esmail, H. Understanding latent tuberculosis: the key to improved diagnostic and novel treatment strategies / H. Esmail, C.E. Barry III, R.J. Wilkinson // Drug Discovery Today. - 2012. - Vol. 17, Iss. 9–10. - P. 514-521.
102. Ethnicity-tailored novel set of ESAT-6 peptides for differentiating active and latent tuberculosis / S.B. Singh [et al.] // Tuberculosis (Edinb). - 2013. - Vol. 93, № 6. - P. 618-624.
103. Factors associated with failure to complete isoniazid therapy for latent tuberculosis infection in children and adolescents / S.H. Chang, S.R. Eitzman, P. Nahid, M.L. Finelli // J. Infect. Public Health. - 2014. - Vol. 7, № 2. - P. 145-152.
104. Gaur, R.L. In vitro immunomodulation of a whole blood IFN- γ release assay enhances T cell responses in subjects with latent tuberculosis infection / R.L. Gaur, M.M. Suhosk, N. Banaei // PLoS One. - 2012. - Vol. 7, № 10. - P. e48027
105. Gwee, A. Question 1: what are the options for treating latent TB infection in children? / A. Gwee, B. Coghlan, N. Curtis // Arch. Dis. Child. - 2013. - Vol. 98, № 6. - P. 468-474.
106. Hamzaoui, A. [Childhood tuberculosis] / A. Hamzaoui // Rev. Pneumol .Clin. – 2015. – Vol. 71, № 2-3. - P. 168-180.
107. Hartman-Adams, H. Update on latent tuberculosis infection / H. Hartman-Adams, K. Clark, G. Juckett // Am. Fam. Physician. – 2014. – Vol. 89, № 11. - P. 889-896.

108. High utility of contact investigation for latent and active tuberculosis case detection among the contacts: a retrospective cohort study in Tbilisi, Georgia, 2010-2011 / T. Chakhaia [et al.] // PLoS One. - 2014. - Vol. 9, № 11. - P. e111773.
109. Identification of immunological biomarkers which may differentiate latent tuberculosis from exposure to environmental nontuberculous mycobacteria in children / Y.G. Hur [et al.] // Clin. Vaccine Immunol. - 2014. - Vol. 21, № 2. - P. 133-142.
110. Identifying predictors of interferon- γ release assay results in pediatric latent tuberculosis: a protective role of bacillus Calmette-Guerin?: a pTB-NET collaborative study / Roy R. Basu [et al.] // Am. J. Respir. Crit. Care Med. - 2012. - Vol. 186, № 4. - P. 378-384.
111. Immune responses to ESAT-6 and CFP-10 by FASCIA and multiplex technology for diagnosis of M. tuberculosis infection; IP-10 is a promising marker / E. Borgström [et al.] // PLoS One. - 2012. - Vol. 7, № 11. - P. e43438.
112. Impact of co-infections and BCG immunisation on immune responses among household contacts of tuberculosis patients in a Ugandan cohort / I.A. Biraro [et al.] // PLoS One. - 2014. - Vol. 9, № 11. - P. e111517.
113. In vitro immunomodulation for enhancing T cell-based diagnosis of Mycobacterium tuberculosis infection / Madeline Slater [et al.] // Diagn. Microbiol. Infect. Dis. - 2015. - Vol. 83, Iss. 1. - P. 41-45.
114. Increased IL-9 mRNA expression as a biomarker to diagnose childhood tuberculosis in a high burden settings / Q. Li, [et al.] // J. Infect. - 2015. - Vol. 71, № 2. - P. 273-276.
115. Interferon gamma mRNA quantitative real-time polymerase chain reaction for the diagnosis of latent tuberculosis: a novel interferon gamma release assay / S. Kim [et al.] // Diagn. Microbiol. Infect. Dis. - 2013. - Vol. 75, № 1. - P. 68-72.

116. Interferon Gamma Release Assay-Guided Latent Tuberculosis Prophylaxis in Israel / E. Fireman-Klein [et al.] // *Isr. Med. Assoc. J.* - 2015. - Vol. 17, № 7. - P. 405-409.
117. Interferon-gamma inducible protein 10 as a biomarker for active tuberculosis and latent tuberculosis infection in children: a case-control study / N. Alsleben [et al.] // *Scand. J. Infect. Dis.* - 2012. - Vol. 44, № 4. - P. 256-262.
118. Interferon-gamma release assays for hospital-based tuberculosis diagnostics in children and adolescents--a retrospective analysis / M. Knappik [et al.] // *Pneumologie.* - 2012. - Vol. 66, № 4. - P. 207-211.
119. Interferon- γ release assay for the diagnosis of latent *Mycobacterium tuberculosis* infection in children younger than 5 years: a meta-analysis / L. Ge [et al.] // *Clin. Pediatr. (Phila).* - 2014. - Vol. 53, № 13. - P. 1255-1263
120. Interferon- γ release assays for the diagnosis of *Mycobacterium tuberculosis* infection in children: a literature review / E. Chiappini [et al.] // *Int. J. Immunopathol. Pharmacol.* - 2012. - Vol. 25, № 2. - P. 335-343.
121. IP-10 is an accurate biomarker for the diagnosis of tuberculosis in children / I. Latorre [et al.] // *J Infect.* - 2014. - Vol. 69, № 6. - P. 590-599.
122. Isoniazid-resistant tuberculosis in children: a systematic review / C.M. Yuen [et al.] // *Pediatr. Infect. Dis. J.* - 2013. - Vol. 32, № 5. - P. e217-26.
123. Kumar, M.K. Recent advances in the diagnosis and treatment of childhood tuberculosis / M.K. Kumar, P. Kumar, A. Singh // *J. Nat. Sci. Biol. Med.* – 2015. – Vol. 6, № 2. - P. 314-320.
124. Latent tuberculosis infection – Revisiting and revising concepts / Padmini Salgame, Carolina Geadas, Lauren Collins, Edward Jones-López, Jerrold J. Ellner // *Tuberculosis.* - 2015. - Vol. 95, Iss. 4. - P. 373-384.
125. Latent Tuberculosis Infection Among Immigrant and Refugee Children Arriving in the United States: 2010 / EM. Taylor [et al.] // *J. Immigr. Minor. Health.* – 2015. - Sep 12. [Epub ahead of print].

126. Latent tuberculosis infection and associated risk factors among undergraduate healthcare students in Italy: a cross-sectional study / P. Durando [et al.] // BMC Infect. Dis. - 2013. - Vol. 13. - P. 443.
127. Latent tuberculosis infection in children: diagnostic approaches / V. Amanatidou [et al.] // Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. - 2012. - Vol. 31, № 7. - P. 1285-1294.
128. Latent tuberculosis infection in rural China: baseline results of a population-based, multicentre, prospective cohort study / L. Gao [et al.] // Lancet Infect. Dis. - 2015. - Vol. 15, № 3. - P. 310-319.
129. Latent tuberculous infection in the United States and Canada. - P. who completes treatment and why? / Y. Hirsch-Moverman [et al.] // Int. J. Tuberc. Lung Dis. - 2015. - Vol. 19, № 1. - P. 31-38.
130. Long, S.S. Interferon-gamma release assay for evaluation of latent tuberculosis infection / S.S. Long // J. Pediatr. - 2012. - Vol. 161, Iss. 4. - P. A3.
131. Long-incubation-time gamma interferon release assays in response to purified protein derivative, ESAT-6, and/or CFP-10 for the diagnosis of Mycobacterium tuberculosis infection in children / K. Schepers [et al.] // Clin. Vaccine Immunol. - 2014. - Vol. 21, № 2. - P. 111-118.
132. Molecular Genetic Methods in Diagnosis of Tuberculosis in Children/ A. Starshinova [et al.] // Online Int. Interdiscipl. Res. J. – 2014. – Vol. IV. – P.1-4.
133. Moon, H.W. Interferon-gamma release assays for the diagnosis of latent tuberculosis infection: an updated review / H.W. Moon, M. Hur // Ann. Clin. Lab. Sci. - 2013. - Vol. Spring; 43, № 2. - P. 221-9.
134. Mycobacterial dormancy regulon protein Rv2623 as a novel biomarker for the diagnosis of latent and active tuberculous meningitis / R.K. Jain [et al.] // Dis. Markers. - 2013. - Vol. 35, № 5. - P. 311-316.
135. Nicholson, E.G. Practice Guideline for Treatment of Latent Tuberculosis Infection in Children / Erin G. Nicholson, Abby M. Geltemeyer, Kim C. Smith // J. Pediatr. Health Care. - 2015. - Vol. 29, Iss. 3. - P. 302-307.

136. Old and new approaches to diagnosing and treating latent tuberculosis in children in low-incidence countries / A.T. Cruz [et al.] // Curr. Opin. Pediatr. - 2014. - Vol. 26, № 1. - P. 106-113.
137. Oliphant, C.M. Tuberculosis / C.M. Oliphant // J. Nurse Pract. - 2015. - Vol. 11, Iss. 1. - P. 87-94.
138. Performance of a rapid strip test for the serologic diagnosis of latent tuberculosis in children / S. Kasempimolporn [et al.] // J. Clin. Diagn. Res. - 2015. - Vol. 9, № 1. - P. DC11-14.
139. Performance of interferon- γ release assay for the diagnosis of active or latent tuberculosis in children in the first 2 years of age: a multicenter study of the Italian Society of Pediatric Infectious Diseases / S. Garazzino [et al.] // Pediatr. Infect. Dis. J. - 2014. - Vol. 33, № 9. - P. e226-231.
140. Potential role of M. tuberculosis specific IFN- γ and IL-2 ELISPOT assays in discriminating children with active or latent tuberculosis / E. Chiappini [et al.] // PLoS One. - 2012. - Vol. 7, № 9. - P. e46041.
141. Prabhavathi, M. IFN- γ /TNF- α ratio in response to immuno proteomically identified human T-cell antigens of Mycobacterium tuberculosis – the most suitable surrogate biomarker for latent TB infection / Maddineni Prabhavathi, Balaji Pathakumari, Alamelu Raja // J. Infection. - 2015. - Vol. 71, Iss. 2. - P. 238-249.
142. Prevalence and treatment of latent tuberculosis infection among newly arrived refugees in San Diego County, January 2010-October 2012 / R.J. Bennett [et al.] // Am. J. Public Health. - 2014. - Vol. 104, № 4. - P. e95-e102.
143. Prevalence of latent tuberculosis infection and its risk factors in schoolchildren and adolescents in Shanghai, China / Y. Hu [et al.] // Eur. J. Public Health. - 2013. - Vol. 23, № 6. - P. 1064-1069.
144. QuantiFERON-TB Gold and Tuberculin Skin Test for the Diagnosis of Latent Tuberculosis Infection in Children / Asl H. Masoumi [et al.] // Iran J. Med. Sci. - 2015. - Vol. 40, № 5. - P. 411-417.

145. QuantiFERON-TB Gold In-Tube test for diagnosis of latent tuberculosis (TB) infection in solid organ transplant candidates: a single-center study in an area endemic for TB / Z. Ahmadinejad [et al.] // *Transpl. Infect. Dis.* - 2013. - Vol. 15, № 1. - P. 90-95.
146. Rapid diagnosis of *Mycobacterium tuberculosis* infection in children using interferon-gamma release assays (IGRAs) / S. Riazi [et al.] // *Allergy Asthma Proc.* - 2012. - Vol. 33, № 3. - P. 217-226.
147. Rapid large-scale deployment of tuberculosis testing in a high school - Riverside County, California, 2013-2014 / C. Kaiser, B. Cole, K. Saruwatari, R. Leon; Centers for Disease Control and Prevention (CDC) // *MMWR Morb. Mortal Wkly Rep.* - 2015. - Vol. 64, № 21. - P. 574-577.
148. Rate of tuberculosis infection in children and adolescents with household contact with adults with active pulmonary tuberculosis as assessed by tuberculin skin test and interferon-gamma release assays / M.A. Ferrarini [et al.] // *Epidemiol. Infect.* - 2015 - Aug 3. - P. 1-12.
149. Relating Tuberculosis (TB) Contact Characteristics to QuantiFERON-TB-Gold and Tuberculin Skin Test Results in the Toronto Pediatric TB Clinic / W Rose. [et al.] // *J. Pediatric Infect. Dis. Soc.* - 2015. - Vol. 4, № 2. - P. 96-103.
150. Results of QuantiFERON-TB Gold in-tube and skin testing with recombinant proteins CFP-10-ESAT-6 in children and adolescents with TB or latent TB infection / L.V. Slogotskaya [et al.] // *Paediatric Respir. Reviews.* - 2013. - Vol. 14, Suppl. 2. - P. S65.
151. Rieder, H.L. The dynamics of tuberculosis epidemiology / H.L. Rieder // *Indian J. Tuberc.* - 2014. - Vol. 61, № 1. - P. 19-29.
152. Risk of tuberculosis after recent exposure. A 10-year follow-up study of contacts in Amsterdam / R. Sloot [et al.] // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* - 2014. - Vol. 190, № 9. - P. 1044-1052.
153. Ritz, N. Novel concepts in the epidemiology, diagnosis and prevention of childhood tuberculosis / N. Ritz, N. Curtis // *Swiss Med. Wkly.* - 2014. - Vol. 144. - P. w14000.

154. Screening contacts for latent tuberculosis infection (LTBI) using an interferon test in Paris in 2009 / A. Fournier [et al.] // *Rev. Mal. Respir.* - 2012. - Vol. 29, № 1. - P. 28-39.
155. Screening toll-like receptor markers to predict latent tuberculosis infection and subsequent tuberculosis disease in a Chinese population / L. Wu [et al.] // *BMC Med. Genet.* - 2015. - Vol. 16. – P. 19.
156. Seasonality of tuberculosis in the United States, 1993-2008 / M.D. Willis [et al.] // *Clin. Infect. Dis.* - 2012. - Vol. 54, № 11. - P. 1553-1560.
157. Serial interferon- γ release assay in children with latent tuberculosis infection and children with tuberculosis / N. Nenadić [et al.] // *Pediatr. Pulmonol.* - 2012. - Vol. 47, № 4. - P. 401-408
158. Serial T-SPOT.TB and quantiFERON-TB-Gold In-Tube assays to monitor response to antitubercular treatment in Italian children with active or latent tuberculosis infection / E. Chiappini [et al.] // *Pediatr. Infect. Dis. J.* - 2012. - Vol. 31, № 9. - P. 974-977.
159. Serum lipids as biomarkers for therapeutic monitoring of latent tuberculosis infection / A.S. Albanna [et al.] // *Eur. Respir. J.* - 2013. - Vol. 42, № 2. - P. 547-550.
160. Shimada, M. Evaluation of the characteristics of tuberculosis patients in Ashikaga Red Cross Hospital, Tochigi Prefecture, Japan (2007-2011) / M. Shimada, Y. Kameyama, S. Ikemura // *Kekkaku.* - 2013. - Vol. 88, № 7. - P. 589-93.
161. Singh, S. Immunogenic potential of latency associated antigens against *Mycobacterium tuberculosis* / S. Singh, I. Saraav, S. Sharma // *Vaccine.* - 2014. - Vol. 32, Iss. 6. - P. 712-716.
162. Starke, J.R. Interferon- γ release assays for diagnosis of tuberculosis infection and disease in children / J.R. Starke; Committee on Infectious Diseases // *Pediatrics.* - 2014. - Vol. 134, № 6. - P. e1763-1773.

163. Successful rifampin desensitization in a pediatric patient with latent tuberculosis / S. Logsdon [et al.] // *Pediatr. Allergy Immunol.* - 2014. - Vol. 25, № 4. - P. 404-405.
164. T cell response to alpha crystallin and Mycobacterium tuberculosis specific antigens using ex-vivo elispot assay for detecting latent tuberculosis infection in Addis Ababa, Ethiopia / G. Mamo [et al.] // *Ethiop. Med. J.* - 2014. – Jan., Suppl. 1. - P. 15-22.
165. The responses of multiple cytokines following incubation of whole blood from TB patients, latently infected individuals and controls with the TB antigens ESAT-6, CFP-10 and TB7.7. / S.Y. Kim [et al.] // *Scand. J. Immunol.* - 2012. - Vol. 76, № 6. - P. 580-586.
166. The Association between active and passive smoking and latent tuberculosis infection in adults and children in the United States: results from NHANES / R.P. Lindsay [et al.] // *PLoS One.* - 2014. - Vol. 9, № 3. - P. e93137.
167. The association between the ratio of monocytes: lymphocytes at age 3 months and risk of tuberculosis (TB) in the first two years of life / V. Naranbhai [et al.] // *BMC Med.* - 2014. - Vol. 12. - P. 12
168. The effect of age on whole blood interferon-gamma release assay response among children investigated for latent tuberculosis infection / E. Critselis [et al.] // *J. Pediatr.* - 2012. - Vol. 161, № 4. - P. 632-638.
169. The effect of maternal helminth infection on maternal and neonatal immune function and immunity to tuberculosis / D. Gebreegziabiher [et al.] // *PLoS One.* - 2014. - Vol. 9, № 4. - P. e93429
170. The effectiveness of primary care based risk stratification for targeted latent tuberculosis infection screening in recent immigrants to the UK: a retrospective cohort study / R.K. Panchal [et al.] // *Thorax.* – 2014. – Vol. 69, № 4. - P. 354-362.
171. Treatment of latent tuberculosis infection: a network meta-analysis / H.R. Stagg [et al.] // *Ann. Intern. Med.* – 2014. - Vol. 161, № 6. – P. 419-428.

172. The use of an interferon-gamma release assay to screen for pediatric latent tuberculosis infection in the eastern region of the Emirate of Abu Dhabi / A.L. Mekaini [et al.] // *Int. J. Infect. Dis.* - 2014. - Vol. 23. - P. 4-7.
173. The Diagnosis of latent of latent tuberculosis infection in children with new immunologic tests / A. Starshinova [et al.] // *Eur. Respir. J.* - 2013.-Vol.42, S57. – P.603.
174. Tuberculosis in Russia its history and its status today / P. Yablonskii [et al.] // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 2015. – Vol. 191, № 4. – P. 372–376.
175. Tu1946 Use of the QuantiFERON-TB Gold in-Tube Test for Latent Tuberculosis Screening in Children With Inflammatory Bowel Disease Treated With Infliximab / Eugene Vortia [et al.] // *Gastroenterology.* - 2013. - Vol. 144, Iss. 5, Suppl. 1. – P. S-887.
176. Tuberculin skin test reversion following isoniazid preventive therapy reflects diversity of immune response to primary *Mycobacterium tuberculosis* infection / D.F. Johnson [et al.] // *PLoS One.* - 2014. - Vol. 9, № 5. - P. e96613.
177. Vitamin D, tuberculin skin test conversion, and latent tuberculosis in Mongolian school-age children: a randomized, double-blind, placebo-controlled feasibility trial / D. Ganmaa [et al.] // *Am. J. Clin. Nutr.* - 2012. - Vol. 96, № 2. - P. 391-396.
178. What steps do we need to take to improve diagnosis of tuberculosis in children? / E. Venturini [et al.] // *Expert. Rev. Anti Infect. Ther.* - 2015. - Vol. 13, № 7. - P. 907-922.
179. Yi, Z. Identification of differentially expressed long non-coding RNAs in CD4⁺ T cells response to latent tuberculosis infection / Z. Yi, J. Li , K. Gao , Y. Fu // *J. Infect.* - 2014. - Vol. 69, № 6. - P. 558-568.
180. World Health Organization. Global tuberculosis report 2015.-p.10/
<http://www.who.int/tb/en/>