

СОПОСТАВЛЕНИЕ ЛАБОРАТОРНЫХ ТЕСТОВ QUANTIFERON, ТУБИНФЕРОН И ДИАСКИНТЕСТА У ДЕТЕЙ С ТУБЕРКУЛЕЗНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ

¹ГБОУ ВПО Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет Минздрава РФ, 194100, Санкт-Петербург;

²СПб ГБУЗ Детская инфекционная больница № 3, 199026, Санкт-Петербург, Российская Федерация

Цель исследования – сравнить результаты трех тестов на основе антигенов CFP-10 и ESAT-6: лабораторных тестов QuantiFERON (QFT) и Тубинферон (ТИТ) и внутрикожного теста с аллергеном туберкулезным рекомбинантным – Диаскинтест (ДСТ). Тубинферон является российским аналогом теста QuantiFERON и основан на количественном анализе интерферона-гамма после инкубации образцов цельной крови в присутствии антигенов Mycobacterium tuberculosis (МБТ) – туберкулина и рекомбинантных антигенов ESAT-6 и CFP-10. Результаты QFT, ТИТ и ДСТ изучены у 63 пациентов в возрасте от 7 мес до 15 лет при параллельной постановке. На основании комплексного обследования 63 ребенка разделены на 3 группы: 1-я группа – 29 детей, инфицированных МБТ, без заболевания; 2-я группа – 8 детей, не инфицированных МБТ; 3-я группа – 26 больных активными формами туберкулеза. Установлено, что при высокой частоте совпадения результатов всех трех тестов (68,3%), в некоторых ситуациях они могут реагировать по-разному, предоставляя тем самым дополнительную информацию. Результаты тестов QFT и ТИТ совпадают в 74,6% случаев. Тесты in vitro (QFT, ТИТ) оказались более чувствительными при иммунопатологических состояниях по сравнению с ДСТ. ТИТ показал более высокую чувствительность при инфицировании МБТ (58,6%) по сравнению с ДСТ (34,5%) и QFT (34,5%), но меньшую – у детей, больных туберкулезом: ТИТ – 61,5%, QFT – 92,3%, ДСТ – 80,8%. Сделано заключение, что все три пробы чаще дают положительный результат при заболевании туберкулезом, чем у инфицированных МБТ. Тест Тубинферон рекомендуется к применению, особенно для детей, инфицированных МБТ до развития заболевания.

Ключевые слова: дети; туберкулезная инфекция; Диаскинтест; QuantiFERON; Тубинферон.

Для цитирования: Лозовская М.Э., Белушков В.В., Гурина О.П., Дементьева Е.А., Шибакова Н.Д., Васильева Е.Б., Клочкова Л.В. Сопоставление лабораторных тестов Quantiferon, Тубинферон и Диаскинтеста у детей с туберкулезной инфекцией. Клиническая лабораторная диагностика. 2016; 61 (12): 838-842. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2016-61-12-838-842>

Losovskaya M.E.¹, Belushkov V.V.¹, Gurina O.P.¹, Dementyeva E.A.¹, Shibakova N.D.², Vasilyeva E.B.¹, Klochkova L.V.¹

THE COMPARISON OF LABORATORY TESTS QUANTIFERON, TUBINFERON AND DIASKINTEST IN CHILDREN WITH TUBERCULOSIS INFECTION

¹The Sankt-Peterburgskii state pediatric medical university of Minzdrav of Russia, 194100 St. Petersburg, Russia

²The children infection hospital №3, 199026 St. Petersburg, Russia

The study was carried out to compare results of three tests on the basis of antigens CFP-10 and ESAT-6: laboratory tests QuantiFERON (QFT) and Tubiniferon (TIF) and intra-cutaneous test with allergen tuberculous recombinant – Diaskintest (DST). Tubiniferon is a Russian analog of test QuantiFERON and is based on quantitative analysis of interferon-gamma after incubation of samples of whole blood in the presence of antigens of Mycobacterium tuberculosis (MBT) - tuberculin and recombinant antigens ESAT-6 and CA3-10. The results QFT, TIF and DST are examined on 63 patients aged from 7 months to 15 years at parallel setup. According complex examination 63 children were divided at three groups: group I - 29 children infected with MBT and without disease; group II - 8 children non-infected with MBT; group III - 26 children with active forms of tuberculosis. It is established that at high rate of coincidence of results of all three tests (68.3%) in particular situations they can react differently, providing thereby additional information. The results of tests QFT and TIF coincide in 74.6% of all cases. The tests in vitro (QFT, TIF) occurred more sensitive under immuno-pathologic conditions in comparison with DST test. The TIF test demonstrated higher sensitivity under infection with MBT (58.6%) as compared with DST (34.5%) and QFT (34.5%) but lesser than in children with tuberculosis: TIF - 61.5%, QFT - 92.3%, DST - 80.8%. The conclusion is made that all three tests provide positive result more often under tuberculosis infection than in case of infected with MBT. The Tubiniferon test is recommended to application and especially for children infected with MBT prior development of disease.

Key words: children; tuberculosis infection; Diaskintest; QuantiFERON; Tubiniferon

For citation: Losovskaya M.E., Belushkov V.V., Gurina O.P., Dementyeva E.A., Shibakova N.D., Vasilyeva E.B., Klochkova L.V. The comparison of laboratory tests Quantiferon, Tubiniferon and Diaskintest in children with tuberculosis infection. Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics) 2016; 61 (12): 838-842. (in Russ.). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2016-61-12-838-842>

For correspondence: Losovskaya M.E., doctor of medical sciences, professor, head of the chair of phthisiology. e-mail: vlozovskaja-marina@rambler.ru

Conflict of interests. The authors declare absence of conflict of interests.

Financing. The study had no sponsor support

Received 20.05.2016
Accepted 30.05.2016

Введение. В начале XXI века стала очевидной недостаточная эффективность метода традиционной туберкулинодиагностики, что потребовало поиска новых способов выявления больных туберкулезом детей [1]. В связи с этим в практику диагностики туберкулезной инфекции у детей в Российской Федерации была внедрена внутрикожная проба с Диаскинтестом (ДСТ), разработанная на основе специфических для вирулентных *Mycobacterium tuberculosis* (МБТ) секреторных белков ESAT-6 и CFP-10 и направленная на дифференциальную диагностику поствакцинальной и инфекционной аллергии, определение активности туберкулезной инфекции и риска развития заболевания [1, 2]. Предшественниками и альтернативой ДСТ являются тесты *in vitro* на основе антигенов ESAT-6 и CFP-10, разработанные за рубежом в тех же целях. [3, 4]. Наиболее распространенным из них является зарегистрированный в РФ «Квантиферон», или квантифероновый тест, – QuantiFERON (QFT) (Cellestis, Australia), основанный на измерении продукции гамма-интерферона (IFN- γ) Т-лимфоцитами крови *in vitro* в ответ на стимуляцию специфическими антигенами МБТ ESAT-6 и CFP-10. Имеются данные о высокой частоте совпадений результатов ДСТ и QFT [5–7], что, с одной стороны, подтверждает их достоверность, а с другой – свидетельствует о возможности взаимной замены при необходимости [8]. При высокой надежности, QFT не лишена недостатков, главные из которых – высокая стоимость тест-системы, что делает ее малодоступной для отечественных потребителей, а также зависимость от импорта, что побудило российских ученых создать аналогичную отечественную систему. В настоящее время в РФ создана и зарегистрирована тест-система «Тубинферон» (ООО «МонА», Москва), близкая по принципу действия к QFT [9]. Тубинфероновый тест (ТИТ) отличается от QFT значительно меньшей стоимостью. А кроме того, в качестве положительного контроля в нем используются не только пептиды ESAT-6 и CFP-10, но и туберкулин PPD, что позволяет получать дополнительную информацию об иммунном ответе на туберкулин. В QFT положительным контролем является ответ на митоген. В настоящее время в научной литературе имеются лишь единичные данные о применении тест-системы «Тубинферон» [10], а сопоставления ТИТ с ДСТ и QFT при одновременной постановке всех трех тестов у детей не проводились.

Цель исследования: сопоставление результатов ДСТ, QFT, ТИТ и пробы Манту с 2ТЕ у детей с различными проявлениями туберкулезной инфекции для совершенствования диагностики.

Материал и методы. Методами QFT, ТИТ и ДСТ обследованы 63 ребенка, у которых имелись трудности при диагностике и дифференциальной диагностике туберкулеза. Все дети поступили в туберкулезное отделение Детской инфекционной больницы № 3 (ДИБ № 3) Санкт-Петербурга с подозрением на туберкулез. Возраст детей – от 7 мес до 15 лет: от 7 мес до 3 лет – 28 детей, 3–6 лет – 13, 7–11 лет – 15, 12–15 лет – 7 детей. Вакцинацию БЦЖ против туберкулеза получили 59 детей (93,7%), 4 ребенка (6,3%) не были вакцинированы. Ревакцинированы вакциной БЦЖ 2 ребенка (3,1%). Туберкулезный контакт (семейный, родственник) установлен у 28 детей (44,4%), в том числе бациллярный – у 15 детей (25,4%). При установлении факта инфицирования детей МБТ пользовались общепринятыми во фтизиатрии критериями (см. Приказ Минздрава России от 21.03.2003 г. № 109 «О совершенствовании противотуберкулезных мероприятий в Российской Федерации»). Детям в условиях туберкулезного диагностического отделения проведено комплексное фтизиатрическое обследование, включающее, помимо перечисленных тестов, постановку проб Манту с 2ТЕ и с малыми дозами туберкулина (0,01ТЕ и 0,001 ТЕ), рентгено-томографическое исследование с проведением мультиспиральной компьютерной

томографии (МСКТ) органов грудной полости, УЗИ органов брюшной полости, фибробронхоскопию (ФБС) в показанных случаях. Всем детям проводилось стандартное бактериологическое обследование (посев на МБТ промывных вод бронхов и мочи). Бронхиальные смывы, взятые при ФБС, и ликвор, промывные воды желудка у тяжелых больных исследованы методом ПЦР и Vactec. Следует отметить, что бактериовыделение было обнаружено только у 1 ребенка – в промывных водах бронхов (посев на плотную среду), и у 1 ребенка – положительный результат ПЦР и Vactec из ликвора и промывных вод желудка. Кровь на QFT и ТИТ бралась одномоментно. Диаскинтест и индивидуальная туберкулинодиагностика проводились через 2–3 дня после тестов *in vitro*. Проба с ДСТ оценивалась согласно Приказу 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». Квантифероновый тест проводился при помощи QuantiFERON-TB Gold In Tube Method – набора для определения клеточного ответа к пептидным антигенам ESAT-6, CFP-10 и TB7.7 по уровню продукции интерферона гамма в пробирках с образцами цельной крови (Cellestis Ltd, Австралия), согласно инструкции к набору. ТИТ осуществлялся при помощи тест-системы «Набор реагентов для иммунологического определения туберкулезного инфицирования по индукции IFN- γ *in vitro* в присутствии специфических антигенов микобактерий туберкулеза «Тубинферон» (производитель ООО «МонА, Москва, РФ) в соответствии с прилагаемой инструкцией. Принцип работы данного набора основан на явлении специфической индукции (увеличения концентрации) IFN- γ в цельной гепаринизированной крови после добавления в нее антигенов микобактерий туберкулеза – туберкулина (PPD) или смеси специфических рекомбинантных антигенов ESAT-6 и CFP-10 – и инкубирования ее в течение 20–24 ч при температуре 37°C. Концентрация IFN- γ в образцах плазмы крови определяется методом количественного твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА).

Окончательные диагнозы, поставленные детям после комплексного фтизиатрического обследования и динамического наблюдения, позволили выделить 3 группы: 1-я группа – 29 детей, инфицированных МБТ, без заболевания (тубинфицированные – ТИ); 2-я группа – 8 детей, не инфицированных МБТ (в том числе 1 с ВИЧ-инфекцией); 3-я группа – 26 детей с заболеванием туберкулезом различной степени тяжести (среди них – 2 ребенка с сочетанной инфекцией туберкулез-ВИЧ). Клинические формы заболевания у 26 больных туберкулезом были следующими: туберкулез внутригрудных лимфатических узлов (ТВГЛУ) неосложненного течения – 12, ТВГЛУ осложненного течения – 4, первичный туберкулезный комплекс (ПТК) – 2, туберкулезная интоксикация – 3, генерализованный туберкулез – 3 (в том числе 2 в сочетании с ВИЧ), инфильтративный туберкулез и туберкулема – по одному случаю. В статье представлены результаты проб Манту с 2ТЕ, ДСТ, QFT и ТИТ всех наблюдаемых детей. Статистическая обработка данных выполнена с использованием компьютерной программы Statistica v. 6.1. При сравнении частотных величин применяли χ^2 -критерий Пирсона. Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$.

Результаты. В 1-й группе (29 детей, инфицированных МБТ без заболевания туберкулезом) 14 детей находились в раннем периоде первичной туберкулезной инфекции (РПШТИ), то есть имели срок инфицирования в пределах 1 года; у остальных 15 детей длительность инфицирования составляла более года (были инфицированы с прошлых лет). Результаты трех изучаемых тестов представлены в табл. 1.

У 8 детей все три теста (ДСТ, QFT и ТИТ) были положительными, что свидетельствовало о высокой активности

Таблица 1

Результаты тестов у детей, инфицированных МБТ без заболевания

Число наблюдений (n = 29)	Манту 2ТЕ	Диаскинтест	Квантиферон	Тубинферон
8	+	+	+	+
10	+	-	-	-
5	+	-	-	+
2	+	-	+	+
1	+	+	-	+
1	-	-	+	+
1	+	-	+	-
1	+	+	-	-
Всего положительных	28 (96,6%)	10 (34,5%)	10 (34,5%)	17 (58,6%*)

Примечание. * – достоверность различий по сравнению с ДСТ и QFT.

у них туберкулезной инфекции и требовало проведения превентивного лечения. Проба Манту с 2 ТЕ у этих детей носила гиперергический характер. Отрицательные результаты всех трех тестов (ДСТ, QFT и ТИТ) наблюдались у 10 детей. Однако остальные данные обследования этих 10 детей, включая туберкулинодиагностику и сведения о туберкулезных контактах (со всеми отрицательными тестами), не позволяли отказаться от предположения о наличии у 5 из них «раннего периода первичной туберкулезной инфекции» и еще у 5 – инфицирования МБТ с прошлых лет.

Таким образом, совпадение результатов трех тестов отмечалось у 18 детей (62,1%), в то время как у остальных 11 детей (37,9%) 1-й группы имелись расхождения в результатах: у 4 детей положительными были 2 из 3 тестов (ДСТ, QFT, ТИТ) в разных сочетаниях, у 7 детей – 1 из 3 тестов (у 1 ребенка реагировал QFT, у 1 ДСТ, и у 5 только ТИТ).

Обращает внимание тот факт, что ДСТ у 9 из 14 детей в РППТИ показал отрицательный результат. У этих диаскин-отрицательных пациентов в 2 случаях положительными были оба теста *in vitro*, в 3 случаях – один из этих тестов (QFT или ТИТ), а в 4 случаях все тесты отрицательные. В целом, у 29 инфицированных МБТ детей без заболевания туберкулезом чувствительность тестов составила: ДСТ – 34,5%, QFT – 34,5%, ТИТ – 58,6% ($\chi^2 = 6,2$; $p < 0,05$ по сравнению с ДСТ и QFT).

Клинический пример № 1.

М.Н., мальчик 6 лет (22.05.06), история болезни № 3347-2013, направлен в туберкулезное диагностическое отделение для обследования по поводу кольцевидной гранулемы (подозрение на параспецифическую реакцию при туберкулезном инфицировании). Туберкулезный контакт не установлен. Материально-бытовые условия благоприятные. БЦЖ в родильном доме, рубчик 3 мм. Динамика пробы Манту с 2 ТЕ: 2007 г.: р – 8 мм, 2008 г.: р – 7 мм, 2009 г.: р – 9 мм, 2010 г.: р – 11 мм, 2011 г.: р – 10 мм, 2012 г.: р – 15 мм (признаки инфицирования МБТ).

При осмотре – кольцевидная гранулема на коже правой стопы, другой патологии не выявлено, у мальчика – хорошее физическое развитие, как по массе, так и по росту (VII кор.). Страдает атопическим дерматитом (в период обследования – вне обострения). IgE общий в сыворотке крови – 39,56 МЕ/мл (норма). Клинический анализ крови: Hb – 133 г/л, лейкоц. – $7,4 \cdot 10^9$ /л (П – 1%, сегм. – 66%, эоз. – 0%, лимф.- 28%, мон. – 5%), СОЭ – 8 мм/ч. Промывные воды бронхов и моча на МБТ методами флотации и посева отрицательны. МСКТ – без патологии.

RM 2ТЕ: р – 14 мм, RM с 0,01ТЕ: р – 7 мм, 0,001 ТЕ: р – 7 мм. Диаскинтест – отрицательный. Квантифероновый тест: QuantiFERON-TB (МЕ/мл) – 0,238 (отрицательный); тубинфероновый тест: ESAT-6+CFP-10 (пг/мл) – 216,4 (положительный).

Таким образом, у ребенка получена положительная реакция на тубинфероновый тест, что указывало на активность туберкулезной инфекции и позволило трактовать кольцевидную гранулему как параспецифическую реакцию. Проведено превентивное лечение противотуберкулезными препаратами с излечением кольцевидной гранулемы.

Во 2-й группе, из 8 детей, не инфицированных МБТ, 7 имели возраст до 3 лет и 1 ребенок – 4 года. Поводом для обследования трех детей стали следующие заболевания: менингит неуточненной этиологии – 1, легочные процессы, требующие исключения туберкулеза, – 2 (в том числе у 1 больного с ВИЧ-инфекцией 4-А стадии). В остальных 5 случаях дети были направлены на обследование по результатам туберкулинодиагностики и по контакту с подозрением на туберкулез внутригрудных лимфатических узлов (ТВГЛУ). Разобщенные туберкулезные контакты были у 3 детей, из них 1 перинатальный. Все 8 детей были привиты вакциной БЦЖ. У всех (кроме 1 ребенка, имевшего ВИЧ-инфекцию) были положительными пробы Манту с 2 ТЕ. В результате обследования, по совокупности клинико-рентгенологических данных, лабораторных показателей и динамического наблюдения этих 8 детей данных в пользу заболевания туберкулезом и инфицирования МБТ не получено. Результаты тестов с ESAT-6 и CFP-10 были следующими (табл. 2).

ДСТ и QFT – отрицательные у всех 8 пациентов. Тубинфероновый тест также дал отрицательный результат по пробе с ESAT-6 и CFP-10 у всех не инфицированных МБТ детей. Таким образом, у не инфицированных МБТ детей результаты трех тестов с антигенами ESAT-6 и CFP-10 – диаскинтест, квантиферон и тубинферон – совпали и были отрицательными.

В 3-й группе детей, которую составили 26 больных туберкулезом (в возрасте от 7 мес до 14 лет), результаты проведения тестов были следующими.

У 15 из 26 больных детей (57,7%) все 3 изучаемых теста (ДСТ, QFT и ТИТ с ESAT-6 и CFP-10) были положительными. У 6 (23,1%) детей не отреагировал ТИТ при положительных остальных двух тестах (ДСТ и QFT). У всех 3 детей с генерализованным туберкулезом (иммунопатологическое состояние) не отреагировал ДСТ при положительных результатах QFT (2 больных) и ТИТ (1 больной).

У 2 (11,1%) детей с доказанным туберкулезом была положительной только проба Манту с 2 ТЕ при отрицательных QFT, ТИТ и ДСТ. Так, у пациента А., 3 лет, не привитого вакциной БЦЖ, по выражу пробы Манту и рентгено-томографическому обследованию был выявлен ТВГЛУ в фазе начинающейся кальцинации. Все три теста с антигенами ESAT-6 и CFP-10 были отрицательными.

В целом, при активном туберкулезе (26 больных) положительные результаты тестов (чувствительность метода) составили (табл. 3): ДСТ – 21 из 26 детей (80,8%); QFT

Таблица 2

Результаты тестов у детей, не инфицированных МБТ

Число наблюдений (n = 8)	Манту 2ТЕ	Диаскинтест	Квантиферон	Тубинферон
7	+	-	-	-
1 (ВИЧ)	-	-	-	-
Всего положительных	7 (87,5%)	0	0	0

Таблица 3

Результаты тестов у детей, не инфицированных МБТ

Число наблюдений (n = 26)	Манту 2ТЕ	Диаскин-тест	Квантиферон	Тубинферон
	1	2	3	4
15	+	+	+	+
6	+	+	+	-
1 генерализованный ТВ + ВИЧ	-	-	+	-
1 генерализованный ТВ + ВИЧ	-	-	-	+
1 генерализованный ТВ, менингит	-	-	+	-
1 туберкулема	+	-	-	-
1 ТВГЛУ (без БЦЖ)	+	-	-	-
Всего положительных	23 (88,5%)	21 (80,8%)	24 (92,3%)	16 (61,5%)
Достоверность различий			$p_{3-2} > 0,05$	$p_{4-2} > 0,05$ $p_{4-3} < 0,05$

– 24 ребенка (92,3%), $\chi^2 = 0,15$; $p > 0,05$ по сравнению с ДСТ; ТИГ – 16 детей (61,5%), $\chi^2 = 2,61$, $p > 0,05$ по сравнению с ДСТ и $\chi^2 = 6,2$, $p < 0,05$ по сравнению с QFT. Проба Манту с 2 ТЕ была положительной у 23 из 26 больных детей (88,5%) и отрицательной – у 3 детей с генерализованным туберкулезом (в том числе у 2 – в сочетании с ВИЧ-инфекцией).

Клинический пример № 2. Девочка К., 1 год 6 мес (род. 07.2011), переведена в туберкулезное отделение ДИБ № 3 14.01.2013 г. в связи с подозрением на милиарный туберкулез легких, развившийся на фоне ВИЧ-инфекции, стадии 4А. Родилась доношенной, привита БЦЖ в родильном доме на 5-е сутки жизни. ВИЧ-инфекция выявлена в возрасте 1 года по следующим клиническим проявлениям: резкая задержка физического развития, анемия, повторные ОРВИ, увеличение периферических лимфоузлов, печени и селезенки. На рентгенограмме, сделанной перед назначением ВААРТ, обнаружена тотальная мелкоочаговая диссеминация в легочной ткани. У матери выявлена ВИЧ-инфекция по заболеванию девочки, туберкулеза нет. Данных по ВИЧ и туберкулезу у отца нет (выехал из страны). Результаты обследования ребенка на ВИЧ-инфекцию: Ф-50 – положительная, CD4, лимфоциты – 5%, 515 кл./мкл, вирусная нагрузка – 358 797 коп./

Таблица 4

Частота положительных результатов диаскинтеста, тестов «Квантиферон» и «Тубинферон» у детей в зависимости от наличия инфицирования и заболевания туберкулезом

Группа детей	Манту 2ТЕ	Диаскин-тест	Квантиферон	Тубинферон
1-я гр. Инфицированы МБТ (n = 29)	28 (96,6%)	10 (34,5%)	10 (34,5%)	17 (58,6%*)
2-я гр. Не инфицированы МБТ (n = 8)	7 (87,5%)	0	0	0
3-я гр. Больные туберкулезом (n = 26)	17 (85%)	15 (75%)	17 (85%)	11 (55%**)

Примечание. * – достоверность различий ($p < 0,05$) по сравнению с диаскинтестом и квантифероновым тестом;

** – достоверность различий ($p < 0,05$) по сравнению с квантифероновым тестом.

мл. Результаты обследования ребенка на туберкулез были следующими: проба Манту с 2 ТЕ – отрицательная, ДСТ – отрицательный, ПЦР мокроты на МБТ – отрицательный, посевы мокроты и мочи на МБТ – отрицательные многократно. Тест «Квантиферон» – отрицательный. Тест «Тубинферон» – положительный: в пробе с ESAT-6 и CFP-10 – продукция IFN- γ 120,5 пг/мл (выше референтного уровня 70 пг/мл), что свидетельствует об активной туберкулезной инфекции.

На МСКТ легких и брюшной полости определяется «Большое количество мономорфных очагов на всем протяжении обоих легких. В средостении и правом корне – увеличенные лимфоузлы. В воротах печени – округлые образования размером до 2,4 см, мезентериальные лимфоузлы размером до 12 мм». Установлен диагноз: «Генерализованный первичный туберкулез. Милиарный туберкулез легких. Туберкулез внутригрудных, мезентериальных, периферических лимфоузлов, печени и селезенки. ВИЧ-инфекция 4-А ст.». Проведен основной курс противотуберкулезной терапии на фоне ВААРТ с положительным результатом. Таким образом, у ребенка с выраженным иммунодефицитом один из тестов с туберкулезными антигенами ESAT-6 и CFP-10 – «Тубинферон» – дал положительный результат, что помогло подтвердить диагноз туберкулеза.

Сравнение результатов трех тестов у всех обследованных 63 детей показало следующий процент их совпадения: ДСТ и QFT – 90% (55 детей), ДСТ и ТИГ – 74,6% (47 детей), QFT и ТИГ – 74,6% (47 детей); все три теста совпали в 68,3% случаев (43 ребенка) (табл. 4).

Выводы. 1. Тесты на основе антигенов ESAT-6 и CFP-10 – Диаскинтест, Квантиферон, Тубинферон – при высокой частоте совпадения результатов (68,3%) в некоторых ситуациях могут реагировать по-разному и давать дополнительную информацию при совместном применении в сложных диагностических случаях или при наличии иммунопатологических состояний.

2. Тесты *in vitro* (QFT и ТИГ) оказались более чувствительными при иммунопатологических состояниях (сочетание с ВИЧ-инфекцией, генерализованный туберкулез) по сравнению с ДСТ.

3. Тест Тубинферон показал более высокую чувствительность при определении активности инфекции у инфицированных МБТ детей без заболевания – 58,6% по сравнению с ДСТ (34,5%) и QFT (34,5%), но меньшую при развившемся туберкулезе: ТИГ – 61,5%, ДСТ – 80,8% и QFT – 92,3% соответственно. Все три пробы чаще дают положительный результат при заболевании туберкулезом, чем при инфицировании МБТ.

4. В сложных и спорных случаях диагностики туберкулеза у детей целесообразно сочетать постановку тестов *in vivo* и *in vitro*.

5. Новая тест-система Тубинферон может быть рекомендована для широкого клинического применения, особенно у детей, инфицированных МБТ до развития заболевания, – что требует ее дальнейшего изучения и совершенствования.

ЛИТЕРАТУРА (пп. 3–4 см. REFERENCES)

- Аксенова В.А. Туберкулез у детей в России. *Туберкулез и социально значимые заболевания*. 2014; (5): 6–14.
- Пальцев М.А., ред. *Кожная проба с препаратом «Диаскинтест» – новые возможности идентификации туберкулезной инфекции*. М.: Шико; 2011.
- Белушков В.В., Лозовская М.Э., Новик Г.А., Гурина О.П., Шибаква Н.Д. Значение диаскинтеста и квантиферонового теста в диагностике туберкулеза у детей. *Фундаментальные исследования*. 2012; (7): 34–9.
- Слогоцкая Л.В., Иванова Д.А., Кочетков Я.А., Куликовская Н.В., Ванеева Т.В., Филиппов А.В. Сравнительные результаты кожно-

- го теста с препаратом, содержащим рекомбинантный белок CFP-10-ESAT-6 и лабораторного теста QuantiFERON-GIT. *Туберкулез и болезни легких*. 2012; 89 (10): 16–9.
- Яблонский П.К., Довгальок И.Ф., Старшинова А.А., Якунова О.А. Значение современных иммунологических тестов в диагностике туберкулеза у детей. *Клиническая иммунология*. 2013; 15 (1): 37–44.
 - Лозовская М.Э., Белушков В.В., Гурина О.П., Васильева Е.Б., Ключкова Л.В. Сравнительная оценка инновационных тестов в диагностике латентной и активной туберкулезной инфекции у детей. *Педиатр*. 2014; 5 (3): 46–50.
 - Владимирский М.А., Мордовская Л.И., Аксенова В.А., Шипина Л.К., Аксенова Е.И., Сергиенко О.В. и др. Разработка и применение отечественной тест-системы диагностики туберкулезного инфицирования на основе количественного анализа индукции интерферона- γ в образцах цельной крови *in vitro* с использованием специфических рекомбинантных антигенов. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2010; (1): 49–54.
 - Мордовская Л.И., Владимирский М.А., Аксенова В.А., Ефремов Е.Е., Игнашенкова Г.И., Власик Т.Н. Индукция интерферона-гамма в образцах цельной крови *in vitro* – тест для определения туберкулезного инфицирования у детей и подростков. *Туберкулез и болезни легких*. 2009; 86 (6): 19–24.
 - Menzies D., Pai M., Comstock G. Meta-analysis: New Test for the Diagnosis of Latent Tuberculosis Infection: Areas of Uncertainty and Recommendations for Research. *Ann. Intern. Med.* 2007; 146: 340–54.
 - Belushkov V.V., Lozovskaya M.E., Novik G.A., Gurina O.P., Shibakova N.D. Value of a diaskintest and QuantiFERON test in diagnosis of tuberculosis in children. *Fundamental'nye issledovaniya*. 2012; (7): 34–9. (in Russian)
 - Slogotskaya L.V., Ivanova D.A., Kochetkov Ya.A., Kulikovskaya N.V., Vaneeva T.V., Filippov A.V. Results of the skin test containing CFP-10-ESAT-6 protein versus the laboratory test QuantiFERON-GIT. *Tuberkulez i bolezni legkikh*. 2012; 89 (10): 16–9. (in Russian)
 - Yablonskiy P.K., Dovgalyuk I.F., Starshinova A.A., Yakunova O.A. Role of modern immunologic tests in diagnostics of tuberculosis in children. *Klinicheskaya immunologiya*. 2013; 15 (1): 37–44. (in Russian)
 - Lozovskaya M.E., Belushkov V.V., Gurina O.P., Vasil'eva E.B., Klochkova L.V. Comparative evaluation of innovative diagnostic tests for latent and active TB infection in children. *Pediatr*. 2014; 5 (3): 46–50. (in Russian)
 - Vladimirskiy M.A., Mordovskaya L.I., Aksenova V.A., Shipina L.K., Aksenova E.I., Sergienko O.V. et al. Development and use of national test system on the basis of the quantitative analysis of interferon- γ induction in the samples of whole blood with use of specific recombinant antigens *in vitro* for diagnostics of tubercular infection. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2010; (1): 49–54. (in Russian)
 - Mordovskaya L.I., Vladimirskiy M.A., Aksenova V.A., Efremov E.E., Ignashenkova G.I., Vlasik T.N. Induction of interferon-gamma in whole blood samples *in vitro* – test to determine TB infection in children and adolescents. *Tuberkulez i bolezni legkikh*. 2009; 86 (6): 19–24. (in Russian)

REFERENCES

- Aksenova V.A. Tuberculosis in children in Russia. *Tuberkulez i sotsial'no znachimye zabollevaniya*. 2014; (5): 6–14. (in Russian)
 - Pal'tsev M.A., ed. *Skin Test with the Preparation "Diaskintest" – New Opportunities of Identification of a Tuberculosis Infection*. Moscow: Shiko; 2011. (in Russian)
 - Arend S., Andersen P., van Meijaarden K. Detection of active tuberculosis infection by T cell responses to early-secreted anti-genic target 6-kDa protein and culture filtrate protein 10. *J. Infect. Dis.* 2000; 181: 1850–4.
- Поступила 20.05.16
Принята к печати 30.05.16

МИКРОБИОЛОГИЯ

© ПРИПУТНЕВИЧ Т.В., МЕЛКУМЯН А.Р., 2016

УДК 616-074:543.42.0621.03:616-078

Припутневич Т.В., Мелкумян А.Р.

МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЯ — НОВОЕ СЛОВО В КЛИНИЧЕСКОЙ МИКРОБИОЛОГИИ

ФГБУ «Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. акад. В.И. Кулакова» Минздрава России, 117997, г. Москва, Российская Федерация

В конце XX века произошла настоящая революция в области методов, которые могут быть использованы для идентификации возбудителей инфекций, в том числе бактерий. Наряду с культуральной диагностикой появился арсенал молекулярно-генетических методов, а также протеомный анализ, основанный на использовании физических технологий, к числу которых относится матрично-активированная лазерная десорбционная/ионизационная времяпролетная масс-спектрометрия — MALDI-ToF MS.

Мировой опыт применения MALDI-ToF MS для видовой идентификации микроорганизмов, выделенных из клинического материала, подтверждает высокую ценность метода, а потенциальная возможность проводить прямую индикацию бактерий в клиническом материале значительно сокращает сроки выполнения анализов и открывает новые ресурсы для использования в различных алгоритмах микробиологической диагностики.

Ключевые слова: масс-спектрометрия; протеомный анализ; MALDI-ToF MS; идентификация микроорганизмов.

Для цитирования: Припутневич Т.В., Мелкумян А.Р. Масс-спектрометрия — новое слово в клинической микробиологии.

Клиническая лабораторная диагностика. 2016; 61 (12): 842-848. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2016-61-12-842-848>

Для корреспонденции: Припутневич Татьяна Валерьевна, д-р мед.наук, зав. отд. микробиологии и клинической фармакологии, e-mail: priput1@gmail.com