

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

*На правах рукописи*

**Старшинова Анна Андреевна**

**ТУБЕРКУЛЕЗ У ДЕТЕЙ ИЗ СЕМЕЙНОГО ОЧАГА ИНФЕКЦИИ  
(ДИАГНОСТИКА, КЛИНИЧЕСКОЕ ТЕЧЕНИЕ И ПРОФИЛАКТИКА)**

14.01.16. - Фтизиатрия

Диссертация  
на соискание ученой степени  
доктора медицинских наук

Научные консультанты:  
д.м.н., профессор Павлова М.В.  
д.м.н., профессор Бубнова Л.Н.

Санкт-Петербург, 2013

## О Г Л А В Л Е Н И Е

<b>Введение</b> .....	6
<b>Глава 1. Обзор литературы</b>	
1.1. Особенности течения туберкулеза у детей из семейного очага инфекции.....	15
1.2. Иммунологические методы	
1.2.1. Современные иммунологические тесты в диагностике туберкулеза у детей.....	20
1.2.2. Изменения индивидуальных иммунологических показателей у детей с различными проявлениями туберкулезной инфекции.....	26
1.3. Роль системы HLA в иммунном ответе .....	31
1.4. Возможности рентгенологического комплекса обследования у детей с различными проявлениями туберкулезной инфекции.....	42
<b>Глава 2 Материалы и методы исследования</b>	
2.1. Клиническая характеристика обследованных детей .....	49
2.2. Характеристика групп детей из семейного и неустановленного контакта (группа контроля) с больным туберкулезом .....	55
2.3. Методы исследования	
2.3.1. Данные анамнеза и объективный статус .....	58
2.3.2. Иммунологические методы.....	59
2.3.3. Молекулярно-генетические методы.....	67
2.3.4. Рентгенологический комплекс обследования .....	69
2.3.5. Методы статистического анализа.....	74

### **Глава 3. Особенности клинического течения и диагностики туберкулеза у детей из семейного контакта с больным туберкулезом**

- 3.1. Сравнение групп обследованных детей из семейного и неустановленного контакта с различными проявлениями туберкулезной инфекции ..... 79
- 3.2. Характеристика семейного контакта с больным туберкулезом родственником ..... 86

### **Глава 4. Диагностика туберкулеза у детей с применением иммунологических и лучевых методов**

- 4.1. Сопоставление результатов клинического, иммунологического и рентгенологического обследования у детей с различными проявлениями туберкулезной инфекции ..... 93
- 4.2. Сравнение диагностических возможностей рентгенологических методов у детей из семейного и неустановленного контакта с различными проявлениями туберкулезной инфекции ..... 106
- 4.3. Алгоритм диагностики туберкулеза у детей с включением современных иммунологических и лучевых методов..... 115
- 4.4. Комплексное обследование детей из семейного очага инфекции с применением современных иммунологических и лучевых методов ..... 123
- 4.5. Сравнение информативности стандартного и разработанного комплекса диагностики детей из семейного и неустановленного контакта..... 129

### **Глава 5. Особенности генетического статуса детей с различными проявлениями туберкулеза из семейного очага инфекции**

- 5.1. Определение иммуногенетической предрасположенности к развитию туберкулеза у детей Северо-Западного региона России..... 134

5.2. Значение генотипов HLA- DRB1* в развитии туберкулезной инфекции у детей из семейного очага туберкулезной инфекции .....	142
5.3. Распределение аллелей гена HLA- DRB1* у детей и их родственников в очаге туберкулезной инфекции .....	145
<b>Глава 6. Иммунологические особенности у детей с различными проявлениями туберкулезной инфекции, их взаимосвязь с генетическим статусом</b>	
6.1. Изменение иммунологических показателей у детей с различными проявлениями туберкулезной инфекции .....	152
6.2. Изменение иммунологических показателей у детей из семейного и неустановленного контакта с туберкулезом органов дыхания .....	170
6.3. Ассоциированные с иммунологическими показателями аллели гена HLA-DRB1* у детей с различными проявлениями туберкулезной инфекции .....	178
<b>Глава 7. Алгоритм обследования детей из семейного контакта с больным туберкулезом с применением современных иммунологических и лучевых методов.....</b>	
<b>Обсуждение полученных данных.....</b>	<b>183</b>
<b>Обсуждение полученных данных.....</b>	<b>194</b>
<b>Выводы и практические рекомендации .....</b>	<b>208</b>
<b>Список литературы .....</b>	<b>211</b>

## **СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ:**

**ВГЛУ** – внутригрудные лимфатические узлы

**МСКТ** – многосрезовая компьютерная томография.

**СКТ** – спиральная компьютерная томография

**КТ- ангиография** – компьютерная ангиографии

**КТ** – компьютерная томография

**ВГЛУ** – внутригрудные лимфатические узлы

**ДСТ** – «ДИАСКИНТЕСТ®»

**INF- $\gamma$**  – гамма-интерферон

**МБТ** – *Mycobacterium tuberculosis*

**ПТД** – противотуберкулёзный диспансер

**ТОД** – туберкулёз органов дыхания

**BCG** – Bacillus Calmette Guerin (бацилла Кальметта — Герена)

**CFP10** – culture filtered protein (белок культурального фильтрата)

**ESAT6** – early secreted antigenic target (ранний секретируемый белок *M. tuberculosis*)

**IGRA** – Interferon-Gamma Release Assays (иммуноферментный метод определения антиген-стимулированной индукции гамма-интерферона)

**PPD** – Purified protein derivative (препарат очищенного туберкулина)

**ВОЗ** – Всемирная Организация Здравоохранения

**HLA** - Human Leukocyte Antigen

## **ВВЕДЕНИЕ**

### **Актуальность исследования**

На рубеже XX-XXI веков туберкулез остается важной международной и национальной проблемой, по-прежнему представляя серьезную угрозу для общественного здоровья во многих странах мира, нанося человечеству колоссальный медицинский и экономический ущерб, являясь одной из ведущих причин смертности от инфекционных заболеваний [54; 127; 153; 185; 213; 239; 258; 184].

Прогнозы Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) о возможном искоренении этой страшной и коварной инфекции не оправдались. Из доклада ВОЗ за 2011г. ежегодно туберкулезом заболевают 8,8 млн. человек, 1,4 млн. – умирают, при этом данные показатели увеличиваются [347].

В Российской Федерации первые десять лет XXI века показатели распространенности туберкулеза характеризуются некоторой стабилизацией в отдельных регионах, однако в целом ситуация продолжает оставаться весьма напряженной, что связано с низким уровнем профилактических мероприятий у взрослых, утяжелением структуры клинических форм, увеличением числа бактериовыделителей, в том числе с множественной лекарственной устойчивостью [236;237;238;239;23; 195; 121; 220; 102;195].

Сохраняющаяся напряженной эпидемическая ситуация по туберкулезу в России осложняется множеством социально-экономических отягощающих факторов, что отражается на самой уязвимой категории – детях, особенно из групп риска. Наибольшую тревогу вызывают пациенты из контакта с больным туберкулезом, так как именно в этой группе сохраняется высокая заболеваемость, несмотря проведение профилактических мероприятий. Так в 2010г. в очагах туберкулеза данный показатель у детей и подростков составил 658,9 на 100тыс. контактов [2, 6, 143;40; 185; 239].

Сложившаяся эпидемическая ситуация в очагах свидетельствует о

недостаточной работе фтизиатров, отсутствии своевременной диагностики и требует изменения подходов в наблюдении и выявлении детей в данной группе риска [168].

Применение стандартного комплекса обследования, его низкая информативность приводит к росту числа детей с остаточными посттуберкулезными изменениями, которые выявляются при проведении компьютерной томографии в 56,5% [28; 73; 103, 243]. При этом доказано, что несвоевременно выявленный и не леченый туберкулёз внутригрудных лимфатических узлов является основой для хронического течения первичного туберкулёза [267], в 32,5-56,5% случаев с наличием осложнений [79].

Таким образом, в связи с тяжелой ситуацией по заболеваемости детей туберкулезом в семейных очагах инфекции необходимо внедрение современных иммунологических и рентгенологических методов диагностики заболевания.

Понимание глубинных процессов возникновения и развития специфического процесса не возможно без получения фундаментальных знаний. Не вызывает сомнений, что факт развития инфекционного процесса определяется не только свойствами возбудителя (вирулентность, контагиозность, лекарственная устойчивость), но и способностью организма человека противостоять инфекциям за счет активации собственного иммунитета, уровень которого в значительной степени зависит от HLA-генотипа [273].

В системе HLA сосредоточен самый большой потенциал генов, управляющих состоянием регуляторных и эффекторных компарментов иммунитета на уровне целого организма. Попытки найти варианты HLA генов, которые ассоциированы с исходом как благоприятным, так и неблагоприятным различных инфекционных заболеваний у человека, доказать изменения иммунного ответа, продолжаются на протяжении многих лет. В ряде работ содержатся результаты исследований, свидетельствующих о наличии ассоциаций между генами HLA и исходом разных инфекций, противоречащие друг другу [101; 31; 20; 201; 188; 291; 319; 300], что

свидетельствует о сложности предмета исследований и недостаточности наших знаний о процессах, которые могут происходить в результате взаимодействия макро- и микроорганизма.

Полученные данные о влиянии генотипа человека на развитие и течение туберкулезного процесса, как у детей, так и взрослых дает основание выявить таковые закономерности у самой уязвимой категории детей - с отягощенной наследственностью по туберкулезу из семейного очага инфекции.

Разработка новых подходов в диагностике, наблюдении и профилактике с помощью современных иммунологических, иммуногенетических и лучевых методов в данной группе риска – одно из главных направлений современной фтизиатрии, что и послужило основанием для настоящего исследования.

#### **Цель исследования:**

совершенствование принципов диагностики и профилактики туберкулеза у детей с применением иммуногенетических и лучевых методов.

#### **Задачи исследования:**

1. Выявить особенности клинического течения и профилактики туберкулеза у детей из семейного очага инфекции в современных условиях.
2. Установить значимость современных иммунологических (ДИАСКИНТЕСТ<sup>®</sup>, Квантифероновый тест) и лучевых (МСКТ и КТ-ангиография) методов в диагностике и определении активности туберкулезной инфекции.
3. Изучить распределение аллелей гена HLA-DRB1\* у детей с различными проявлениями специфического процесса, определить их роль в развитии и течении туберкулеза.



4. Выявить изменения иммунологических показателей у детей с туберкулезной инфекцией, установить взаимосвязь генетических и иммунологических характеристик.
5. Разработать новый алгоритм диагностики и профилактики туберкулеза у детей из семейного очага инфекции с применением современных иммунологических и лучевых методов.

### **Научная новизна исследования**

Впервые выделена особая группа риска по заболеванию при контакте с больной туберкулезом матерью. Установлены факторы высокого риска развития туберкулезной инфекции у детей: генетическая предрасположенность, близкородственный бациллярный контакт, низкий социальный уровень жизни.

В структуре клинических форм у детей из семейного очага инфекции преобладает туберкулез органов дыхания, который выявляется в половине случаев в фазе уплотнения и кальцинации, характеризуется хроническим течением, развитием вторичных форм с бактериовыделением и высоким риском МЛУ МБТ.

Впервые разработано новое направление в диагностике и профилактике туберкулеза на основе применения новых иммунологических тестов: ДИАСКИНТЕСТ® и Квантифероновый тест. Доказана их высокая значимость в сравнении с туберкулинодиагностикой как методов раннего выявления и определения активности туберкулезной инфекции у детей. Разработаны показания к применению многосрезовой компьютерной томографии (МСКТ) и компьютерной – ангиографии (КТ-АГ), определены критерии диагностики в оценке специфических изменений во внутригрудных лимфатических узлах у детей.

Получены новые данные о роли генетического статуса в развитии

туберкулезной инфекции у детей на основе современных молекулярно-генетических методов генотипирования аллелей гена HLA-DRB1\*. Установлены особенности распределения аллелей гена HLA-DRB1\* (\*01, \*03, \*04, \*07, \*08, \*09, \*10, \*11, \*12, \*13, \*14, \*15, \*16) у детей с различными проявлениями туберкулезной инфекции. Преобладание \*04 аллеля у больных туберкулезом детей характеризует данную специфичность как предрасполагающую, тогда как редкое распределение \*07 и \*15 аллелей определяет их протективное значение.

Установлено изменение иммунологических показателей на этапах инфицирования МБТ, развития и течения специфического процесса. Впервые доказана взаимосвязь генотипа HLA-DRB1\* с характером иммунного ответа на основании распределения аллелей гена HLA-DRB1\* у больных туберкулезом детей с выраженным и сниженным гуморальным ответом, где \*04 аллель гена HLA-DRB1\* ассоциирован с его активацией, а \*07 и \*15 аллели - с угнетением.

Сочетание генетических факторов предрасположенности и тесного семейного контакта увеличивает риск развития туберкулезной инфекции и утяжеляет характер ее течения. Доказано прогностическое значение иммуногенетических характеристик, определяющее развитие и течение туберкулезной инфекции у детей, что позволяет проводить дифференцированный подход в выборе профилактических мероприятий.

### **Научно-практическая значимость**

На основании комплексной клинико-рентгенологической характеристики детей их семейного очага инфекции выделена особая группа риска по развитию заболевания туберкулезом, которая требует разобщения контакта и проведения комплексного обследования с включением современных иммуногенетических и лучевых методов для предотвращения развития осложненных и вторичных форм с бактериовыделением.

Предложенный новый подход по раннему выявлению и определению активности туберкулезной инфекции у детей с использованием новых иммунологических тестов (ДИАСКИНТЕСТ® и Квантиферонового теста) позволяет определить тактику наблюдения и обследования детей.

Наличие активности туберкулезной инфекции и факторов высокого риска у детей требует проведения углубленного иммунологического и рентгенологического обследования (МСКТ и КТ-АГ).

С целью избежания гипер- и гиподиагностики специфического поражения во внутригрудных лимфатических узлах доказана необходимость дифференцированного подхода к применению методов лучевой диагностики (МСКТ и КТ-ангиографии) у детей.

Обосновано определение детей, имеющих иммуногенетическую предрасположенность к развитию туберкулезной инфекции, в особую группу риска по развитию заболевания с целью более длительного наблюдения и обследования.

Полученные данные позволили разработать новый алгоритм диагностики и профилактики туберкулеза у детей, в том числе из семейного очага инфекции.

### **Основные положения, выносимые на защиту**

1. Дети из семейного контакта с больным туберкулезом составляют группу высокого риска по заболеванию туберкулезом. Низкая информативность стандартного комплекса диагностики приводит у каждого второго ребенка к позднему выявлению туберкулеза, у каждого четвертого - к хроническому

течению и прогрессированию заболевания, появлению вторичных форм с бактериовыделением и высоким риском туберкулеза с МЛУ МБТ.

2. ДИАСКИНТЕТ® и Квантифероновый тест имеют высокую диагностическую значимость как методы раннего выявления и определения активности туберкулезной инфекции у детей.
3. Наиболее информативными рентгенологическими методами диагностики туберкулеза ВГЛУ у детей являются МСКТ и КТ-ангиография. При подозрении на увеличение бронхопупльмональной группы ЛУ необходимо проведение КТ-ангиографии.
4. Взаимосвязь генетических характеристик и иммунного ответа у детей обусловлена наличием \*04, \*07 и \*15 аллелей гена HLA-DRB1\*. Присутствие в генотипе \*04 аллеля гена HLA-DRB1\* определяет активацию гуморального звена иммунитета и предрасположенность к развитию туберкулезной инфекции. \*07 и \*15 аллели предрасполагают к сниженной продукции специфических антител у детей, больных туберкулезом, и имеют протективное значение.
5. Представленные иммуногенетические характеристики имеют прогностическое значение и позволяют определить тактику дифференцированного подхода в диагностике, профилактике и наблюдении туберкулеза у детей.

**Реализация результатов работы.** Получено 2 патента на изобретения и 1 свидетельство о государственной регистрации программы ЭВМ. Основные положения диссертации внедрены в практику работы отделения детской фтизиатрии ФГБУ «СПбНИИФ» Минздрава России, детских отделений СПб ГБУЗ «Противотуберкулезный диспансер №5», СПб ГБУЗ «Противотуберкулезный диспансер №17», ГУЗ Калининградской области «Областной противотуберкулезный диспансер», а также в учебный процесс

кафедры фтизиопульмонологии и торакальной хирургии ГБОУ ВПО «СЗГМУ им И.И. Мечникова» Минздрава России.

**Апробация работы.** По материалам диссертации опубликовано 62 научных работ, из них 19 публикаций в ведущих научных журналах и изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки России, 4 - в международных изданиях. Основные положения диссертации доложены и обсуждены на 23 научно-практических мероприятиях различного уровня, в том числе на VIII Российском съезде фтизиатров «Туберкулез в России: год 2007» (М., 2007); научно-практической конференции с международным участием «Туберкулез у детей и подростков» (М., 2009); III Российском форуме «Педиатрия Санкт-Петербурга: опыт, инновации, достижения» (СПб., 2009); IV Российском форуме «Здоровье детей: профилактика социально-значимых заболеваний» (СПб., 2010); Всероссийской конференции фтизиатров «Совершенствование медицинской помощи во фтизиатрии» (СПб., 2010); III ежегодном Всероссийском Конгрессе по инфекционным болезням ЦНИИЭ (Москва, 2011); Всероссийской научно-практической конференции «Модернизация фтизиатрии. Современные технологии оказания противотуберкулезной помощи населению» (Екатеринбург, 2011); 25<sup>th</sup> European Immunogenetics and Histocompatibility Conference (Prague, Czech Republic, 2011); Всероссийской научно-практической конференции «Социальные аспекты проблемы детского туберкулеза» (Омск, 2011); Всероссийской научно-практической конференции «Совершенствование медицинской помощи больным туберкулезом» (СПб., 2011); IV ежегодном Всероссийском конгрессе по инфекционным болезням ЦНИИЭ (Москва, 2012); юбилейной Всероссийской научной конференции «Отечественная эпидемиология в XXI веке: приоритетные направления развития и новые технологии в диагностике и профилактике болезней человека» (СПб., 2012); European Respiratory Society

Congress (Vienna, 2012); Всероссийском ежегодном конгрессе «Инфекционные болезни у детей: диагностика, лечение и профилактика» (СПб., 2012); I конгрессе Национальной ассоциации фтизиатров «Актуальные проблемы и перспективы развития противотуберкулезной службы в Российской Федерации» (СПб., 2012); 43<sup>rd</sup> Union World Conference on Lung Health (Malaysia, Kuala-Lumpur, 2012).

**Личный вклад автора.** Автором определены цель и задачи работы, дизайн исследования, проведен поиск и анализ литературы, осуществлено ведение и обследование 320 детей с различными проявлениями туберкулезной инфекции и 82 взрослых родственников больных туберкулезом детей из семейного очага инфекции. Участвовала в проведении рентгенологических, иммунологических и генетических исследований. Весь материал, представленный в диссертации, получен, обработан и проанализирован лично автором.

**Объем и структура диссертации.** Диссертационная работа состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов, собственных результатов, обсуждения полученных результатов, выводов и практических рекомендаций и списка литературы. Работа изложена на 251 страницах, содержит 75 таблиц, иллюстрирована 39 рисунками и 9 клиническими примерами. Список литературы включает 243 отечественных и 105 зарубежных источников.

## ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### 1.1. Особенности течения туберкулеза у детей из семейного очага инфекции

Риску заболеть туберкулезом подвержены, прежде всего дети, которые находятся в условиях контакта, где особое место занимает семейный очаг инфекции, который часто характеризуется как длительный и тесный.

Очаг туберкулеза – это место пребывания источника инфекции с окружающими его людьми и обстановкой в тех пределах пространства и времени, в которых возможно возникновение инфицирования МБТ и развитие заболевания туберкулезом [161].

Эпидемиологическая обстановка в семейных очагах туберкулезной инфекции определяется несколькими факторами: особенностями источника заражения, медико-социальными характеристиками контакта и резистентностью организма. Наиболее уязвимой группой являются дети из семейных очагов туберкулезной инфекции, которые находятся в длительном и тесном контакте с больными родственниками. В связи с чем, инфицированность МБТ в очагах, по данным литературы, у детей в 3—15 раз выше, чем у детей из здорового окружения, и составляет 33—47%. Наиболее высокий показатель инфицированности МБТ наблюдается в очагах с бактериовыделителем и смертью [128;129; 130;131; 35].

Заболеваемость в очагах туберкулеза растет с 1990 года и остается на стабильно высоких показателях в настоящее время. При этом за последние годы в Российской Федерации заболеваемость детей из туберкулезных очагов имеет тенденцию к снижению (2000 г. - 560,6; 2007г. - 980,0; 2009г. - 605,7; 2010г. – 658,5 на 100 000 контактов соответственно) [238].

Однако, по мнению некоторых авторов, даже такая высокая заболеваемость не является истинной, так как не полностью отражает ситуацию по туберкулезу, в том числе у данной категории детей, чему способствует отсутствие качественного

выявления и обследования пациентов, как следствие увеличение резервуара туберкулезной инфекции среди взрослого контингента, в том числе с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ), ухудшение работы в очагах, уменьшение возможности изоляции здоровых детей от источников инфекции и отсутствие обеспечения бактериовыделителей отдельной жилплощадью, закрытие специальных детских дошкольных учреждений и отсутствие информативных диагностических методов [105; 112; 220; 7].

Некоторые авторы связывают позднюю диагностику туберкулеза с поздней диагностикой первичного инфицирования МБТ, чему способствует низкая информативность туберкулинодиагностики и приводит к несвоевременной постановке на диспансерный учет [54, 89; 63; 140;163; 232].

Инфицированность МБТ и заболеваемость туберкулезом у детей из очагов туберкулезной инфекции в 3—122 раза выше, чем в целом в популяции, в особенности, если имеет место пролонгированный контакт, где наиболее угрожаемыми являются дети младшей возрастной группы [84;144;116;128]. Инфицированность МБТ детей из туберкулезного контакта без бактериовыделения составляет 25,5%, а из контакта с бактериовыделителем на 10% выше [61;68].

Одним из наиболее «популярных» и обсуждаемых в настоящее время является такой фактор, как социальная дезадаптация семьи ребенка: алкоголизм, безработица родителей и др. [55]. Низкий социальный уровень в таких условиях является существенным фактором риска развития туберкулезной инфекции. Исследования, проведенные Е.С. Овсянкиной (2009) [143;222], И.К. Кузьминой и соавт.(2010) [105], Н.С. Пухальской (2010) [167], Л.Н. Рыбкой (2011) [185], показали, что доля больных детей из социально-дезадаптированных семей увеличилась с 29,5% в 2003 г. до 33,9% в 2006 г., в 2009 -32,2%, причем в 33,8%-40,0% случаев дети были из очагов смерти от туберкулеза.



В сложившейся неблагоприятной эпидемической ситуации большинство детей инфицируются еще до выявления у них тесного контакта с больным туберкулезом родственником и особую опасность представляют семьи, где диагноз зарегистрирован посмертно [156].

В своей работе С.В. Михайлова (2008) [129] приводит «социальный портрет» взрослого больного туберкулезом в современных условиях, который имеет свои особенности. Это преимущественно (54,0%) лица молодого возраста от 28 до 37 лет, 10,0% которых безработные, 22,5% - заняты неквалифицированным трудом, 53,5% - имеют среднее и неполное среднее образование, большинство (78,0%) - проживает в коммунальных квартирах, 82,0% - занимают жилую площадь менее 12 кв.м. на одного человека, 39,0% - имеют доход ниже прожиточного минимума. Среди заболевших - мужчин в 2 раза больше, чем женщин (64,5% и 35,5% соответственно), а число бактериовыделителей примерно равное (69,0% - мужчины и 66,0% - женщины). Среди больных широко распространены вредные привычки: курят 93,0% мужчин и 86,0% женщин, злоупотребляют алкоголем 4,0% женщин и 12,0% мужчин, сопутствующие заболевания выявлены у трети больных (36,0%). В структуре клинических форм туберкулеза у взрослых, как источника туберкулезной инфекции преобладает инфильтративный туберкулез (58,0%), при этом лишь 48,0% больных выявлено при плановых флюорографических обследованиях.

У детей, находящихся в очагах туберкулезной инфекции, к наиболее значимым медицинским и социальным факторам риска относят: нерегулярную туберкулинодиагностику (61,0%), некачественную вакцинацию или ревакцинацию БЦЖ (55,0%), отсутствие химиопрофилактики (50,0%) или несвоевременное ее назначение (74,0%), низкий уровень физического развития (47,0%), неорганизованный контингент (36,6%). К существенным факторам риска авторы относят рост хронической патологии среди детей в очагах (57,0%), что

характеризует преморбидный фон ребенка и повышает уязвимость в отношении туберкулезной инфекции, а также способствует увеличению числа медицинских отводов к проведению вакцинации и ревакцинации [131;35;133] .

По данным О.Е.Васильевой и соавт. (2010)[34], пациенты из асоциальных условий жизни, имеющие двойной, тройной семейный контакт, в 50,0% случаев выявляются по контакту, в 19,0% случаев - по пробам и в 31,0% случаев - уже при предъявлении жалоб. В структуре клинических форм в 20,0% отмечался первичный туберкулезный комплекс, в 25,0% двусторонние процессы внутригрудной аденопатии. Профилактические мероприятия проведены только в 36,3% .

Дефекты в работе по раннему выявлению туберкулёза у детей из групп риска, несвоевременные диагностические и неадекватные лечебные мероприятия являются основными причинами хронического первичного течения туберкулёза [172;163;103]. При несвоевременной диагностике туберкулеза у детей из очагов контакта выявляются распространенные деструктивные процессы с острым началом заболевания и бактериовыделением. В 2 раза реже диагностируют малые формы туберкулеза внутригрудных лимфатических узлов и в 3-4 раза чаще - двухстороннее процессы с осложненным течением [9;128; 71].

В последнее время у детей из контакта течение первичного туберкулеза чаще стало иметь торпидный, иногда и волнообразный характер с развитием различных осложнений (лимфогематогенной и бронхогенной диссеминацией, вовлечением в процесс бронхов, деструкцией в легочной ткани, и обильным бактериовыделением), что связывают, помимо дефектов проведения химиопрофилактики, на фоне раннего инфицирования МБТ с лекарственно-устойчивыми штаммами МБТ [8;151;121].

Дети из семейного очага туберкулезной инфекции являются наиболее значимой группой риска по развитию заболевания не только по эпидемическим и

социальным факторам риска, но и в связи с генетической предрасположенностью. Исследования по изучению роли генетического статуса в развитии и течении специфического процесса были начаты в 80-х годах двадцатого века как зарубежными [272; 283], так и отечественными авторами [86; 68; 69; 228]. Дальнейшие иммуногенетические исследования позволили выявить маркеры HLA, ассоциированные с развитием туберкулеза [208; 174]. Изучение генетической предрасположенности у детей из семейного контакта позволит предотвратить развитие специфического процесса в данной группе риска.

С учетом приведенных фактов в современных условиях определены множество причин, способствующих увеличению и утяжелению структуры клинических форм заболевания у самой уязвимой категории детей – из семейного очага инфекции. Некоторые авторы указывают на наличие неблагоприятной эпидемической ситуации, другие на неадекватность профилактических и диагностических мероприятий. Практически все исследования проведены с использованием стандартного диагностического комплекса обследования, который не позволяет судить об истинной структуре клинических форм и, соответственно, не может дать качественного представления о структуре клинических форм и позволить выявить причины их возникновения. В настоящих условиях неблагоприятной эпидемической ситуации одним из приоритетных направлений фтизиопедиатрии является решение вопроса о ранней и качественной диагностике туберкулеза у детей, в том числе из семейного очага инфекции, что является мощным средством профилактики развития заболевания, а также возникновения осложненных и прогрессирующих форм, что необходимо для сдерживания дальнейшего распространения и формирования резервуара инфекции.

## **1.2. Иммунологические методы**

### **1.2.1. Современные иммунологические тесты в диагностике туберкулеза у детей**

Изучение уровня специфической сенсибилизации у детей с различными проявлениями туберкулеза показало, что по мере развития инфекции происходит значительное изменение реактивности организма ребенка [70; 4; 12; 141; 142; 117; 336].

Одним из распространенных тестов, используемых в скрининговом обследовании детского населения на туберкулез, является кожный туберкулиновый тест, который до 2001 года был единственным тестом для выявления туберкулезно инфекции. Однако в 40% случаев чувствительность к туберкулину остается нормергической при заболевании ребенка [125; 159]. Проба Манту 2ТЕ дает ложноположительный результат при наличии сопутствующей патологии, в том числе при отягощенном аллергологическом анамнезе, что существенно затрудняет оценку истинной активности туберкулезной инфекции и приводит к низкому качеству диагностики как инфицирования МБТ, так и заболевания туберкулезом [95; 14; 178]. Таким образом, возникла необходимость в поиске новых методов диагностики заболевания туберкулезом у детей [82; 66; 88; 38], что особенно важно в современных условиях.

Известно, что в условиях массовой вакцинации BCG диагностическая значимость туберкулиновых проб значительно снижается [24; 25; 109; 301], туберкулиновый кожный тест «не различает» активную и латентную инфекцию.

В связи с многообразием клинических форм, «масок» туберкулеза, вариантов его течения (от бессимптомного до острого) проблема ранней диагностики туберкулеза, а также дифференциальной диагностики нетуберкулезных заболеваний органов дыхания у детей и подростков остается актуальной [40; 265]. Представляется затруднительным диагностировать наличие активной

туберкулезной инфекций от латентного течения, а также отсутствия специфического воспаления на фоне инфицирования МБТ или при наличии следов перенесенного ранее туберкулезного процесса. При всех перечисленных состояниях проба Манту 2ТЕ имеет положительный результат, который сохраняется в течение всей жизни [308].

Утяжеляет оценку истинной активности туберкулезной инфекции при проведении туберкулинодиагностики рост факторов, влияющих на степень выраженной чувствительности к туберкулину (аллергические заболевания и другая сопутствующая патология) [230].

Получение надежных методов диагностики туберкулезной инфекции у детей является первостепенной задачей фтизиатрии в современных условиях неблагоприятной ситуации по туберкулезу [65; 64; 29; 227].

Во многих европейских странах используются два вида тестов – QuantiFERON (QFT)-TB и Elispot для диагностики латентной туберкулезной инфекции *in vitro*. Тесты предназначены для оценки клеточного иммунитета в ответ на стимуляцию пептидными антигенами – микобактериальными белками: пептиды, кодируемые регионом RD1 (region of difference) – ESAT-9 (early-secreted antigenic target), CFP-10 (culture filtrate protein), пептид, кодируемый RD-11 – TB 7.7 (p4). Эти антигены присутствуют у *M.tuberculosis*, но при этом отсутствуют у всех штаммов BCG и большинства нетуберкулезных микобактерий (кроме *M.kansasii*, *M.marinum*, *M.szulgai*). Доказан высокий уровень выработки интерферона  $\gamma$  (IFN $\gamma$ ), секретируемого клетками крови инфицированного МБТ человека, при контакте с антигенами ESAT-6 и CFP-10 [252; 257; 331; 260; 279; 325; 345].

QFT-G и T-Spot, как и ожидалось, более чувствительны, чем туберкулиновый тест (проба Манту 2ТЕ), однако данные разных исследователей по показателям диагностической ценности представленных тестов различны. В

протестированных популяциях лиц, не инфицированных МБТ, специфичность QFT-G теста составила 80,0-99,0%, T-Spot теста – 58,0-88,0% [321; 294; 256; 245; 209; 346; 271; 288; 313; 321; 327; 340].

На сегодняшний день использование теста прописано в национальных рекомендациях и руководствах 17 стран мира: США, Канада, Великобритания, Япония, Франция, Испания, Италия, Германия, Швейцария, Австралия, Нидерланды, Дания, Чехия, Словакия, Корея, Польша и Норвегия.

Показания для применения данных тестов аналогичны пробе Манту 2ТЕ; они используются при дифференциальной диагностики характера аллергии (поствакциной и инфекционной) и определения активности туберкулезной инфекции, однако, по данным зарубежной литературы, обладают большей специфичностью и чувствительностью, чем кожные туберкулиновые тесты [246; 301].

В России опыт применения современных иммунологических методов (Квантифероновый тест и T - Spot) только начал накапливаться. Особый интерес представляет сравнение параметров диагностической значимости данных тестов с общепринятыми методами – п. Манту 2ТЕ. Данное направление должно быть продолжено и сопоставлены результаты данных тестов с рентгенологическими изменениями у детей с различными проявлениями туберкулезной инфекции [77; 177; 215; 204; 181].

Наиболее значимым событием последнего десятилетия стала разработка нового иммунологического теста в России – ДИАСКИНТЕСТ®, благодаря которому появилась возможность изменить подходы к дифференциальной диагностике поствакциной и инфекционной аллергии, определению активности туберкулезной инфекции у детей [94].

Новый внутрикожный тест для определения активности туберкулеза – ДИАСКИНТЕСТ® (ДСТ) (аллерген туберкулезный рекомбинантный в стандартном разведении, предназначенный для повышения качества диагностики туберкулезной инфекции) создан в 2009 году и основан на реакции гиперчувствительности замедленного типа к аллергену. Диагностикум представляет собой два белка, соединенных вместе (ESAT6/CFP10), синтез которых кодируется в уникальной (отличной от других микобактерий) в области генома *M. Tuberculosis* [138; 97; 144].

Созданию данного теста послужила расшифровка генов различных видов микобактерий, что позволило выделить у *Mycobacterium tuberculosis* область RD1 (region of difference), которая отсутствует у *Mycobacterium bovis* BCG. В этой области *Mycobacterium tuberculosis* кодирует синтез двух секреторных белков ESAT6 (early secreted antigenic target) и CFP10 (culture filtrate protein). На моделях – животных, зараженных туберкулезом, установлено, что экспрессия белков ESAT6 и CFP10 связана именно с процессом размножения *Mycobacterium tuberculosis* [333; 278 ; 260 ; 310; 261; 287; 345; 301].

Результаты исследований ученых США, Германии, Дании и других стран показали, что синтетические пептиды ESAT-6 и CFP-10 выявляют гиперчувствительность замедленного типа при инициации МБТ и не дают реакции у вакцинированных БЦЖ [299; 295; 311; 324; 345; 309].

По мнению Skjot R. (2000) [260] и Vordermier H. (2002) [261], экспрессия и секреция белков ESAT-6 и CFP-10 тесно связаны с процессом размножения МБТ, что было показано на моделях зараженных туберкулезом животных.

Применение данного теста в практической работе позволило получить разные результаты по информативности Диаскинтеста в диагностике активности туберкулезной инфекции при различных локализациях и распространенности

специфического воспаления. Специфическая активность теста сопоставима со специфической активностью Национального стандарта очищенного туберкулина ППД-Л [96; 242; 107]. По данным ряда авторов: Шурыгина А.А.и соавт. (2010) [59]; Овсянкиной Е.С.(2010) [150;175]; Морозовой Т.И. и соавт. (2011) [38], Слогоцкой Л.В. и соавт.(2010; 2011) [234;192,193], Корневой Н.В. (2011)[103] Бочаровой И.В.(2011) [74] и др.,- чувствительность Диаскинтеста составила от 84,2 до 96,2%.

Наиболее чувствительным ДИАСКИНТЕСТ® оказался у больных инфильтративным туберкулёзом лёгких, а также при распространённых процессах и процессах с наличием распада лёгочной ткани, т. к. именно в этих случаях гиперергическая реакция на Диаскинтест составила более 80%.

Специфичность Диаскинтеста составила от 79,1до 84,6%, однако большинство авторов применяли в своих исследованиях стандартный комплекс рентгенологического обследования (обзорная рентгенограмма и линейные томограммы) без проведения компьютерной томографии, что увеличивает риск неправильной оценки состояния ребенка на 50% и приводит к получению как ложноположительных, так и ложноотрицательных результатов.

По мнению многих авторов, ДИАСКИНТЕСТ® был более информативным, чем п.Манту 2ТЕ, при определении активности туберкулезной инфекции у впервые выявленных детей с наличием посттуберкулезных изменений. Специфичность теста в данном случае составляла 100%, тогда как п. Манту 2ТЕ – 14,3%, также исследователи указывают на наличие отрицательного результата Диаскинтеста при наличии специфического воспаления [81; 22; 33; 114; 207; 224]. Данный факт требует дальнейшего изучения, сопоставления с иммунологическими показателями и рентгенологическими характеристиками.



Результаты исследований отечественных ученых обосновывают применение препарата ДИАСКИНТЕСТ® с целью дифференциальной диагностики поствакцинальной и инфекционной гиперчувствительности замедленного типа, дифференциальной диагностики туберкулеза и оценки активности специфического процесса, а также контроля эффективности лечения в комплексе с другими методами [41; 137; 110; 112; 146].

В наиболее уязвимой группе детей из семейного контакта чувствительность теста составила 91,7% [147; 176]. Группой авторов: Т.В. Мякишева и соавт., 2010 [133; 134]; М.И. Перельман и соавт., 2010 [40]; Л.А. Барышникова, 2011 [26]; Е.Ю. Зоркальцева, 2011[227]; А.С. Позднякова, 2011 [153] разработаны и представлены новые подходы к выявлению и диспансерному наблюдению лиц из групп риска по заболеванию туберкулезом, которые отличаются от существующих ранее, в связи с использованием в комплексе с общепринятыми методами Диаскинтеста. Однако, данное положение требует сопоставления эпидемических, клинических, иммунологических и рентгенологических данных, но такие исследования не описаны ни в отечественной, ни в зарубежной литературе.

ДИАСКИНТЕСТ® показал возможность его использования в качестве маркера активного туберкулеза не только при туберкулезе органов дыхания, но и при латентной туберкулезной инфекции, где чувствительность теста составила - 91,7% [59; 67].

По данным некоторых авторов, результаты Диаскинтеста значительно выше у детей больных туберкулезом по сравнению с инфицированными МБТ [79; 111; 205], что позволяет использовать его для дифференциальной диагностики поствакциной и инфекционной аллергии, а также определить наличие активности туберкулезной инфекции [30; 104].

Таким образом, применение во фтизиатрической практике новых иммунологических методов для раннего выявления и определения активности туберкулезной инфекции дает возможность принципиально изменить подходы в диагностике и наблюдению детей как в условиях общей лечебной сети, так и в специализированных стационарах. Необходимо изучение особенностей клинической симптоматики, иммунологической реактивности и рентгенологических характеристик в зависимости от результатов тестов и изучение их возможностей в диагностике специфического процесса у детей из семейного очага инфекции. Необходимо определить критерии, позволяющие правильно и своевременно оценить состояние ребенка, находящегося в условиях постоянного контакта.

Подобное исследование во фтизиопедиатрической практике проводится впервые и является своевременным в настоящих условиях сложной эпидемической ситуации.

### **1.2.2. Изменения индивидуальных иммунологических показателей у детей с различными проявлениями туберкулезной инфекции**

Туберкулез относится к мультифакторным заболеваниям. В его развитии большую роль играют социальные факторы, свойства возбудителя, а также иммунный статус хозяина [48; 153].

Специфическое воспаление характеризуется патологическим течением иммунного ответа, однако даже сегодня нет однозначного ответа на вопрос, что лежит в основе иммунопатологии туберкулезной инфекции – анергия либо гиперактивация иммунных реакций, какие факторы определяют уровень иммунологической реактивности инфицированного МБТ организма [57; 10; 11; 191].

Многочисленными иммунологическими исследованиями установлено, что основная роль в защите организма от туберкулезной инфекции принадлежит

клеточному иммунитету, нарушения которого в значительной мере определяют тяжесть, течение и исход заболевания [172; 1; 136; 190; 159; 252; 242; 247].

Первыми клетками, которые реагируют на инвазию *M. tuberculosis*, являются фагоциты, от них зависит эффективность элиминации возбудителя. Их функциональная роль не ограничивается фагоцитозом инфекционного агента, они участвуют в общей сети иммунорегуляции. В механизмах, обеспечивающих устойчивость организма к микобактериям, важная роль отводится фагоцитам. Отсутствие функциональных резервов фагоцитов - одна из причин депрессии естественной резистентности организма при туберкулезной инфекции [132; 93; 166; 227].

Процесс взаимодействия макрофагов с *M. tuberculosis* сложен и до конца не изучен. Многие авторы указывают, что на фоне сниженной активности макрофагов происходит снижение продукции цитокинов [126; 10; 183; 199; 190; 277].

Описано, что важную роль в генерации антимикробной активности макрофагов выполняют Т-хелперные клетки 1-го типа (Th1), продуцирующие цитокины: интерлейкин-2 (IL-2), интерферон (IFN- $\gamma$ ) и другие [83; 198; 155; 251; 290; 317; 323; 275; 270]. Основными цитокин-продуцирующими лимфоцитами являются Т-хелперы (CD4+). Уже на ранних этапах развития туберкулезной инфекции, даже при отсутствии клинических проявлений заболевания, имеют место значительные изменения показателей иммунной реактивности, связанной не только с количественной, но и с функциональной недостаточностью Т-лимфоцитов [16; 145; 183; 226; 335].

CD4+ вызывают IFN- $\gamma$ -зависимую активацию макрофагов. Th1-лимфоциты представляют собой эффекторную популяцию клеток, которая развивается из наивных T<sub>0</sub> лимфоцитов в процессе антиген-зависимой дифференцировки. На поздних стадиях дифференцировки эффекторные CD4+ теряют способность к продукции IFN- $\gamma$  основного эффекторного цитокина при туберкулезе [36].

Степень дифференцировки эффекторных лимфоцитов CD4+ также является ценным показателем, позволяющим оценить течение туберкулезной инфекции [158; 135; 207; 275]. Решающую роль в процессе этом отводится прежде всего регуляторным и цитотоксическим лимфоцитам. В ряде экспериментальных работ показаны манифестация туберкулеза и быстрая гибель зараженных животных при дефиците общих Т-лимфоцитов и их основных фракций. У больных туберкулезом легких, снижается количество Т-клеток (CD3), Т-хелперов (CD4) [113; 115; 11; 212; 313]. Одной из причин снижения численности лимфоцитов может служить угнетение процессов пролиферации. В своем исследовании В. В. Новицкий и соавт. (2006) [150] установил, что у больных туберкулезом, в большинстве случаев, снижен уровень пролиферативной активности лимфоцитов. При длительном хроническом воспалении установлены высокие концентрации TNF- $\alpha$ , активируя нейтрофилы, что также характерно для туберкулезной инфекции. Имеет место синергизм TNF- $\alpha$  и INF- $\gamma$ , который усиливает киллинг микобактерий и способствует формированию гранул, ограничивающих микобактериальную инфекцию [270]

По данным многих авторов, уже на ранних этапах развития туберкулезной инфекции, даже при отсутствии клинических проявлений заболевания, имеют место значительные изменения показателей иммунной реактивности. Например, при малой степени выраженности туберкулезной инфекции отмечаются нарушения субпопуляционного состава Т-лимфоцитов, которые, в первую очередь, связаны со сниженным уровнем Т-хелперов [16; 156; 93; 113; 225; 224; 340; 349].

Многие авторы [187; 227; 139; 200; 201; 212; 217; 191; 165] указывают на изменение показателей системного иммунитета в зависимости от распространенности туберкулезной инфекции и степени ее активности. Например, при фиброзно-кавернозном туберкулезе определяется увеличение содержания лимфоцитов, экспрессирующих индуцибельные антигены активации- HLA-II,

CD25<sup>+</sup> [241;162]. В частности, при распространенных и осложненных формах первичного туберкулеза отмечают значительное превалирование продукции цитокинов, характеризующих Th2 ответ (в частности IL-4), и, следовательно, наблюдается смещение баланса Th1/ Th2, что может служить критерием в диагностике туберкулеза у детей [236]. Исследования по изучению иммунологических показателей достаточно скудны и противоречивы. Не проводилось изучения иммунологических показателей при различных фазах специфического процесса у детей, что может быть важным в качестве критерия прогноза.

Таким образом, сведения, накопленные за последние десятилетия, позволяют отнести туберкулез к интерлейкинзависимым иммунодефицитам с выраженными изменениями в цитокиновом статусе [37; 80; 184; 271], что характеризует особенности иммунного ответа у взрослых, так как в детской практике подобных исследований практически не проводилось и изменения данных показателей у детей с различными проявлениями туберкулезной инфекции, особенно в условиях применения компьютерной томографии не известны.

Применительно к туберкулиновому антигену сотрудники ГУ СпбНИИФ в 90-х годах модифицировали и широко внедрили в практику реакцию непрямой гемагглютинации (РНГА), пассивного гемолиза (РПГ) и потребления комплемента (РПК), а также разработали собственную систему твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА) [162]. Чувствительность комплекса серологических методов по данным авторов составляет от 50 до 100%, специфичность - 89%, что, как правило, превышает информативность любой отдельно взятой реакции, включая ИФА.

Изучение уровня специфических антител показал, что титр антител находится в прямой зависимости от степени активности туберкулезной инфекции, в том числе и у детей. Определение показателей специфического иммунитета

позволяет на 25-30% повысить эффективность диагностики [95; 141; 61; 127], однако данные исследования проводились при стандартном комплексе диагностики без применения МСКТ.

Исследование показателей гуморального иммунитета позволили выявить особенности специфической реактивности у детей с различными проявлениями туберкулезной инфекции [139; 60; 75]. Специфический гуморальный ответ, определяемый по частоте обнаружения циркулирующих противотуберкулезных антител в комплексе серологических реакций, был наиболее высоким у детей с малыми формами туберкулеза (71,0%). С нарастанием выраженности проявлений инфекции было отмечено и увеличение частоты выявления диагностических титров противотуберкулезных антител. При малых формах туберкулеза ВГЛУ агглютинины (РНГА) выявлялись в 3,1 раза чаще, уровень специфических антител, определяемых ИФА в 4,6 раз чаще по сравнению со здоровыми детьми [164]. Полученные данные высокоинформативны в условиях применения стандартного комплекса диагностики, но в настоящее время нет исследований, позволяющих сопоставить результаты серологических реакций с современными иммунологическими тестами (ДИАСКИНТЕСТ® и Квантифероновый тест), а также результатами лучевой диагностики (МСКТ и КТ-ангиография).

В настоящее время разрабатываются и внедряются в мировой практике новые иммунологические тесты, например основанные на определении специфических иммуноглобулинов, например anda-TB ELISA, основанного на иммуноферментном количественном определении антител к антигенному комплексу (А60) к антителам IgA, IgG, IgM. А60 (антигенный комплекс) – общий специфический антиген, обнаруженный в цитозоле типичных и атипичных микобактерий (*Mycobacterium*, *Corynebacterium*, *Nocardia*). Комплекс вступает в реакцию с антителами, образовавшимися в процессе микобактериальных

инфекций (туберкулез, лепра и т.д.), а также реагируют с АТ, продуцирующими в результате инфекции *Nocardia*. Данный комплекс не применялся ранее в России. Данных об информативности теста в диагностике туберкулезной инфекции, в особенности у детей, в отечественной литературе нет.

Определенные типы АТ могут коррелировать с различными стадиями заболевания и с динамикой заболевания/выздоровления. IgA АТ имеют более высокую концентрацию у пациентов старшего возраста и более точно диагностируют текущую инфекцию у взрослых. Концентрация IgA и/или IgG АТ существенно снижается во время выздоровления (IgM АТ исчезают раньше). В случае перенесенной инфекции отмечается присутствие IgG АТ без роста их концентрации.

Полученные данные иммунологического реагирования на развитие специфического процесса у взрослых больных туберкулезом, не дают однозначного представления об изменении иммунного ответа у детей как на стадии инфицирования МБТ, так и при развитии заболевания. Изучение изменений иммунологических показателей у детей в условиях постоянного контакта с больным туберкулезом, особенно важно, так как позволит осуществлять прогноз развития специфического воспаления у инфицированных МБТ пациентов, своевременно проводить профилактические мероприятия на самых ранних этапах с целью предотвращения развития туберкулезной инфекции, а также развития осложненных и распространенных форм при заболевании.

### **1.3. Роль системы HLA в иммунном ответе**

В настоящее время становится очевидным признание участия врожденного и приобретенного иммунитета в развитии туберкулезного воспаления, где существенную роль играет влияние генетической компоненты [15;159; 331; 336; 316]. В природе имеется значительный резервуар туберкулезной инфекции, однако не каждый человек заболевает туберкулезом [52; 50].

По патогенетической концепции многих исследователей [293; 56; 234; 167; 170] послепервичный туберкулез является эндогенным продолжением процесса, начавшегося после первичного инфицирования, а деление туберкулеза на первичную и вторичную форму, в соответствии с результатами исследований Р. Schmidt (1971), имеет схематичный, несколько дидактический характер, т. к. скорее это фазы единого инфекционного процесса. По подсчетам ВОЗ (2012), в мире инфицировано МБТ около трети всего населения планеты (примерно 1,7 млрд.), а болеют туберкулезом 8,7 млн. человек, в большинстве случаев, несмотря на сформированный поствакцинальный иммунитет. У части населения даже в неблагоприятной социальной среде при условии постоянного контакта с больным туберкулезом заболевание не наступает, что, возможно, связано с врожденными особенностями, связанными с генетической устойчивостью организма [17; 274]. Наследственная подверженность к инфекции может быть связана с врожденным генетическим дефектом, приводящим к иммунодефицитам, наличие которых оказывают влияние на иммунную систему и приводит к развитию инфекционного заболевания [330; 259].

В результате анализа собственных данных М.Н. Болдырева (2007) [31] выявила взаимосвязь вариантов гена DRB1 с развитием и устойчивостью к CD1, полученных на 11 популяционных группах. Была сформулирована гипотеза, в соответствии с которой в благоприятных условиях в популяции происходит накопление «средних» и «слабых» по уровню иммунного ответа генотипов. Носители «слабых» генотипов не выживают в период выраженных инфекционных нагрузок и при неблагоприятных условиях жизни.

Особый интерес к изучению системы HLA связан с многообразием функции продуктов генов: определение молекулярного резервуара Т-клеточных антигенных рецепторов; участия в процессинге и презентации пептидов Т-клеткам; регуляция цитотоксической активности НК-клеток; защиты вынашиваемости плода и, возможно, в селекции родительских пар.



В настоящее время, продолжает развиваться изучение генетических механизмов регуляции иммунного ответа, значения генов системы главного комплекса гистосовместимости в трансплантации гемопоэтических стволовых клеток и органов, ведутся работы по расширению регистров типированных доноров и изучению связи HLA с заболеваниями [32; 294; 299].

Уникальный полиморфизм генов системы HLA является мощным механизмом вариабельности естественного отбора человека как вида и позволяет ему противостоять эволюционирующему множеству патогенов. Результат такой селекции является также основой отбора аллельных вариантов, способных обеспечить генетическую предрасположенность и устойчивость к мультифакториальным заболеваниям [49; 174; 170; 58; 92; 306].

Открытие и исследование главного комплекса гистосовместимости (Major Histocompatibility Complex – MHC) или системы человеческих лейкоцитарных антигенов (Human Leukocyte Antigen– HLA) является одним из важнейших достижений медицины и биологии XX века. Система HLA представляет собой молекулярные продукты комплекса генов, кодирующих их синтез и транспорт, формирование пространственной конфигурации и выведение на поверхность клетки с последующим сбрасыванием во внеклеточное пространство, в процессе которого происходят взаимодействия с другими разнообразными молекулами. Название данной генетической системы не полно отражает ее основные функции, однако оно укоренилось и отражает историю исследования HLA-комплекса.

Первый лейкоцитарный антиген системы HLA был открыт в 1958 г. Ж. Доссе. К настоящему времени система HLA является одной из наиболее изученных сложных генетических систем человека.

Исследования полиморфизма главного комплекса тканевой совместимости человека (HLA) проводятся с середины 60-х годов, когда методами серологического типирования было выявлено, что в разных популяциях определяются разные наборы вариантов HLA антигенов.

В 1967 году Amiel J.C. на третьем Рабочем Совещании впервые сообщил об обнаруженной им связи антигенов HLA с развитием болезни Ходжкина [248]. Это сообщение послужило началом развития направления «HLA и болезни». Особенно актуальными эти исследования стали после открытия Цинкернагелем и Догерти [342] иммунного распознавания вирусных антигенов Т-лимфоцитами «в контексте» белков главного комплекса тканевой совместимости хозяина, в результате которого стало ясно, что гены, кодирующие HLA белки, являются, по сути, генами иммунного ответа, определяя направление процессов, происходящих в иммунной системе. В последующем целый ряд исследователей получили многочисленные доказательства роли HLA в развитии заболеваний, связанных с иммунной системой: инфекционных, аутоиммунных и онкологических [298; 297; 341; 323; 292; 249; 250].

До начала XX столетия отечественные исследователи практически все изучали полиморфизма системы HLA только при помощи серологических методов и касались, главным образом, изучения распределения антигенов I класса, что было связано с отсутствием доступных для исследователей качественных типизирующих сывороток к антигенам II класса.

Именно поэтому подавляющее большинство отечественных публикаций посвящено изучению распределения антигенов HLA класса I и их ассоциации с предрасположенностью к развитию того или иного заболевания [85; 52; 187; 174; 229; 85; 49; 48; 256; 305; 317].

Существуют убедительные доказательства участия генов HLA II в развитии инфекционных и аутоиммунных заболеваний [339; 287; 283; 285], чему посвящены многочисленные исследования, например при заболеваниях щитовидной железы [51; 149], рассеянного склероза [267], ревматоидном артрите [18], лимфопролиферативных заболеваниях [50], лепры [189; 344], туберкулеза [101; 20; 201; 202; 304] и т.д.

Молекулы HLA I класса экспрессированы на подавляющем большинстве ядерных клеток, включая тромбоциты и стволовые гемопоэтические клетки, в то время как молекулы II класса HLA вне активации ограничиваются специализированными антиген-представляющими клетками (В-клетки, дендритные клетки, макрофаги). Уровень экспрессии молекул HLA обоих типов может быть усилен цитокинами, такими как IL-4, INF- $\gamma$  и TNF- $\alpha$ . Эти цитокины, действуя исключительно как регуляторные области HLA генов и могут индуцировать экспрессию молекул II класса HLA на клетках, которые в норме не экспрессируют эти белки, например эндотелиальные клетки сосудов [329; 250; 315; 316].

Распределение молекул HLA I и II класса на разных клетках отражает их различные роли в иммунном надзоре [338].

Гены HLA наследуются кодоминантно и передаются детям двумя блоками - по одному от каждого родителя. Такой блок носит название гаплотипа HLA. Совокупность HLA антигенов, представленных на поверхности клеток, составляет фенотип HLA. В связи с этим доказанная предрасполагающая и протективная роль аллелей гена HLA-DRB1\* у взрослых в развитии туберкулезной инфекции предполагает наличие аналогичного влияния аллелей гена HLA-DRB1\* у детей [210]. Определение генетической предрасположенности к развитию туберкулезной инфекции у пациентов с отягощенной наследственностью из семейного очага инфекции не проводилось, и может быть необходимым для выделения группы риска у наиболее угрожаемой по туберкулезу категории детей.

В лабораторной практике процедура определения HLA специфичностей проводится как с помощью серологических, так и молекулярно-генетического (полимеразно-цепная реакция (ПЦР)) методов.

Серологическое типирование с помощью стандартного комплемент-зависимого лимфоцитотоксического теста (ЛЦТТ), основано на способности специфических антител взаимодействовать с антигенами мембраны лимфоцитов,

образуя комплекс антиген-антитело, активирующее комплемент. В результате происходит повреждение клеточной мембраны и лимфоцитолит, выявляемый внесением суправитальных красителей. Учет реакции проводят при помощи светового инвертированного микроскопа или флуоресцентной микроскопии. Реакцию оценивают в баллах соответственно проценту погибших клеток [265].

При использовании серологического метода HLA типирования, позволяющего определять только HLA-антигены, в качестве субстрата типирования используют выделенные лимфоциты периферической крови.

Развитие молекулярной генетики и молекулярной иммунологии позволило проводить не только тонкий анализ антигенов HLA, но и изучить сами гены главного комплекса гистосовместимости. Быстрый и точный анализ молекулярного полиморфизма системы HLA стал возможен после внедрения в практику лабораторий иммунологического типирования тканей метода полимеразной цепной реакции (PCR), в последние годы путем секвенирования [327]. Использование молекулярно-генетических методов определения ДНК дало возможность точной идентификации всего многообразия генов системы HLA.

### **1.3.2. Влияние главного комплекса тканевой совместимости на инфекционный процесс**

В настоящее время установлено и доказано наличие тесной взаимосвязи между ассоциацией антигенов HLA со многими заболеваниями различной этиологии: эндокринной системы, коллагенозов, инфекционно-аллергическими заболеваниями, некоторыми онкологическими процессами [224; 78; 189; 69; 72; 51; 52; 149; 31; 48; 188; 304; 267].

L. Lamm (1979) [298] выделил 2 вида связи HLA и заболеваниях: генетическая специфичность и генетическая ассоциация. В первом случае ген имеет истинное сцепление с HLA-комплексом. Значительно чаще связь HLA заболеваний проявляется в форме ассоциаций.

Основным среди генов II класса, ассоциированных с особенностями иммунного ответа, является ген HLA-DRB1, аллели которого ассоциированы с развитием аутоиммунных заболеваний, но в тоже время могут являться маркерами возможности развития инфекционных заболеваний [31; 175; 116; 230]. Доказано, что у людей гетерозиготных по HLA, резистентность к инфекциям выше, что, вероятно, связано с тем, что Т-лимфоцитам представляется более широкий круг пептидов, чем у гомозиготных индивидуумов [124].

В настоящее время накоплено достаточно данных о наличии ассоциаций между конкретными аллельными вариантами HLA и предрасположенностью или устойчивостью к тем или иным инфекционным заболеваниям человека. Например, установлено, что 01\*аллель гена HLA-DRB1\* ассоциирован с устойчивостью [291], а \*13 аллель с чувствительностью к HIV [252; 292; 301]. Прогрессирование ВИЧ-инфекции (формирование CD4+ Т- иммунодефицита в течении года) ассоциировано с HLA-антигенами II класса DRB\*1301, DQA1\*0102, DQA1\*0501, а развитие выраженного снижения CD4+ Т-клеток в течении 10 и более лет после инфицирования МБТ - с аллелем класса III TNF [327]. Генетический компонент определяет не только предрасположенность или устойчивость к заболеванию, но и оказывает влияние на иммунный ответ. Так, у больных с тяжелым течением вирусного гепатита В определяется значительное снижение общего количества Т-лимфоцитов и фагоцитарной активности макрофагов, угнетение пролиферативной активности лимфоцитов, а увеличение IgG ассоциировано с HLA-B8 антигеном и гаплотипом B8-DR3 [285].

Лепра и туберкулез – заболевания, существенно различающиеся по своей патогенетической сущности, но родственные по этиологической природе, объединяющей их в группу микобактериозов. В последние десятилетия иммунология лепры и туберкулеза оказалась в центре внимания, однако причины индивидуальных различий в сопротивляемости и ответной реакции на

возбудителя этих болезней еще не известны. Несмотря на высокую контагиозность и распространенность инфекций в природе, заболевания развивается не у всех лиц, контактирующих с возбудителем, что свидетельствует о значительной роли в развитии болезней индивидуальных особенностей, обусловленных наследственностью. Тяжесть течения лепры и туберкулеза, по данным некоторых авторов [83; 254; 324; 189], скорее связана с Т-клеточным ответом на внедрение микроорганизмов. Поскольку молекулы HLA являются продуктами генов иммунного ответа, значительный полиморфизм этих генов, возможно, ведет к различиям в восприимчивости и/или устойчивости к инфекции.

Проведенное Л.В. Сароянц [189] исследование направлено на изучение механизмов генетической предрасположенности и особенностей иммунного ответа у больных лепрой. Доказано повышение восприимчивости к лепре лиц, имеющих в генотипе гаплотипы HLA-DRB1\*16-DQA1\*0102-DQB1\*0502/04 и HLA-DRB1\*15-DQA1\*0102-DQB1\*0602/08. Установлена ассоциация HLA-гаплотипов с показателями иммунитета у больных лепрой, которая определяет не только предрасположенность к заболеванию, но и вариант течения. Так у взрослых, больных лепрой, гаплотип HLA-DRB1\*11-DQA1\*0501-DQB1\*0301 встречается значительно реже, чем у здоровых лиц, т.е. гаплотип сопряжен с резистентностью к лепре и эффективным иммунным ответом против возбудителя. Ранее на экспериментальной модели лепры с использованием крыс было показано, что Т-клетки типа CD8<sup>+</sup> располагаются и лизируют шванновские клетки, представляющие на своей поверхности антиген *M. leprae* в комплексе с антигенами HLA [333; 324]. Автор исследования указывает на снижение количества клеток CD8<sup>+</sup> у больных носителей гаплотипа HLA-DRB1\*11-DQA1\*0501-DQB1\*0301 и соответственно повышение соотношения CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>, что возможно приводит к уменьшению лизиса шванновских клеток и, следовательно, к меньшему поражению периферической нервной системы. У

больных с гаплотипом HLA-DRB1\*15-DQA1\*0102-DQB1\*0602/08 отмечалась более тяжелая форма лепры с генерализацией. Снижение функциональной способности Т-лимфоцитов и фагоцитарного звена клеточного иммунитета приводят к нарушению процессов гибели и элиминации возбудителя, как следствие отмечаются высокие титры специфических антител к антигенам *M.leprae* у больных с гаплотипом HLA-DRB1\*15-DQA1\*0102-DQB1\*0602/08. Автор пришел к выводу о снижении экспрессии аллелей HLA II класса на антигенпредставляющих клетках и тем самым ограниченном количестве пептидов, представляемых Th1 клеткам, что в конечном итоге ведет к дефициту клеточного иммунного ответа и, как следствие, к необходимости полноценно элиминировать инфекционный агент. Полученные в ходе данного исследования результаты дают возможность предположить наличие аналогичных зависимостей и предрасположенностей у больных туберкулезом.

Изучение влияния системы HLA на развитие и течение туберкулезной инфекции началось еще в 90-е годы. М.М. Авербах [86], И.Ф. Довгалюк [72; 69], Л.Е. Поспелов [87; 229], В.Ю. Мишин и соавт. [213] начинали работать в данном направлении с помощью применения серологических методов. Микролимфоцитотоксический тестом определяли антигены локусов HLA-A,B,C и доказывали наличие генетически детерминированной предрасположенности к туберкулезу как у взрослых, так и у детей [210; 229;101; 20; 87;174; 220; 202; 76].

Проведенные за последние годы исследования позволили установить различные иммуногенетические маркеры туберкулезной инфекции в популяциях. Так типирование генов у больных туберкулезом на севере Индии выявило предрасполагающее влияние аллелей DRB1\*1501 [250], в мексиканской популяции - увеличение частоты встречаемости аллелей DRB1\*1501 [287], у больных в Северной Польше - DRB1\*16 [304], в Иране - DRB1\*07 [342].

Российские ученые также указывают на различную частоту встречаемости аллелей гена HLA-DRB1\* у больных туберкулезом в разных возрастных категориях, с различным течением специфического процесса. В 2003 г. [229] авторы доказали высокую встречаемость аллелей HLA-DRB1\* \*08 и \*15 у больных остро прогрессирующим туберкулезом и являются прогностически неблагоприятным фактором в течении специфического процесса. Выявление генетических маркеров, детерминирующих предрасположенность к заболеванию туберкулезом, является необходимым условием для формирования групп риска среди населения в популяции.

По данным М.В. Павловой и соавт. [181] генотипирование HLA-DRB1\* является ранним прогностическим критерием течения и исхода туберкулезной инфекции. Аллели \*01 и \*16 гена HLA DRB1\* определяют предрасположенность к развитию и тяжести туберкулезного процесса у подростков, в особенности при заражении больных штаммом Beijing [101]. Исследование Л.И. Арчаковой [20] выявило влияние аллелей HLA DRB1\* у впервые выявленных взрослых больных с туберкулезом органов дыхания (ТОД). При наличии \*03 аллеля отмечалось превалирование ограниченных поражений легких, продуктивный тип тканевой реакции, близкие к норме показатели клеточного иммунитета и незначительная активация гуморального иммунитета, что указывает на высокую протективную роль \*03 аллеля. Сочетание в генотипе \*05 и \*03 HLA -DQB1\* с \*16 аллелем гена HLA -DRB1\*, а также \*02\* DQB1\* и \*04 HLA -DRB1\* положительно ассоциируются с развитием хронических, прогрессирующих форм заболевания, характеризующихся преобладанием активности гуморального иммунного ответа.

Полученные данные при проведении немногочисленных исследований по изучению иммуногенетического статуса у больных туберкулезом детей отличаются по результатам от взрослых. В своем исследовании Н.В.Ставицкая [202] показала, что наличие ассоциаций антигенов системы HLA локуса DRB1\* у



детей Краснодарского края, больных туберкулезом органов дыхания (ТОД), было увеличение частоты встречаемости аллельных специфичностей \*04 и \*16 по сравнению со здоровыми новорожденными детьми из популяции в 4,4 и 3,5 раза, соответственно ( $p < 0,05$ ), а так же у инфицированных МБТ детей в 2,2 и 1,6 раза. Полученные данные позволили считать аллельные специфичности в генотипе HLA -DRB1 \*03, \*11, \*12 генетическими факторами устойчивости, а \*04 и \*16 – предрасположенности к заболеванию туберкулезом. Исследование гена NRAMP1 показало, что генотип C/C локуса INT4 является наследственной компонентой, определяющей устойчивость к туберкулезной инфекции. Данное исследование было продолжено А.Е. Дорошенко [76] и показано наличие зависимости прогрессирования туберкулезной инфекции от наследуемых факторов предрасположенности. Наиболее неблагоприятными являются варианты сочетания G/G в локусе INT4 гена NRAMP1 и аллельных специфичностей \*04 и \*16 в локусе гена HLA -DRB1\*.

Таким образом, изучение влияния аллелей генов HLA-DRB1\* проводилось у больных туберкулезом взрослых, однако в детской практике эта работа только началась. Получены определенные результаты о возможном влиянии генотипа при туберкулезе органов дыхания у детей Краснодарского края и в формировании латентной туберкулезной инфекции.

Определение роли аллелей гена HLA-DRB1\* в развитии туберкулезного воспаления позволит осуществлять прогноз развития и течения заболевания у наиболее уязвимой категории детей из семейного очага туберкулезной инфекции. Изучение данного направления принесет новые данные о генетических механизмах предрасположенности и формирования патогенеза заболеваний с иммунными нарушениями, определит новые возможности для индивидуального прогноза развития специфического процесса и возможности его профилактики. Верификация генетических факторов, обуславливающих предрасположенность или устойчивость к туберкулезу, имеет большое значение для формирования

групп лиц повышенного риска заболеваний. Успехи последних десятилетий в молекулярной генетике позволили перейти на новый уровень прогноза развития заболевания, что особенно актуально в условиях неблагоприятной эпидемической ситуации.

#### **1.4. Возможности рентгенологического комплекса обследования у детей с различными проявлениями туберкулезной инфекции**

Основная роль в диагностике туберкулезных бронхоаденитов принадлежит рентгенологическим методам исследования [321; 268]. Своевременная диагностика начальных проявлений туберкулезной инфекции, имеет большое значение для предотвращения развития осложнений, генерализации и перехода в хроническое течение заболевания [164; 71].

Традиционное рентгеномографическое обследование позволяет заподозрить увеличение лимфатических узлов средостения по наличию косвенных признаков увеличения ВГЛУ. По данным Н.К.Борисовой, описаны 10 косвенных признаков, из которых для постановки диагноза достаточно трех, однако погрешность данных стандартного рентгенологического обследования по данным различных авторов составляет от 43,0% [218; 21; 13], до 60% [3; 107; 108; 163].

Рентгенологические методы имеют ограничения в диагностике поражения внутригрудных лимфатических узлов. Обзорная рентгенография органов грудной полости и линейная томография средостения достаточно эффективны лишь в случае значительного увеличения внутригрудных лимфатических узлов [47; 180; 90; 259].

Использование плоскостной рентгенографии при характеристике ТВГЛУ не учитывает клинико-рентгенологические принципы построения клинической классификации, не позволяет адекватно характеризовать рентгеноморфологические

особенности пораженных ВГЛУ, их локализацию, распространенность, фазу специфического процесса. Гипердиагностика ТВГЛУ составляет у 60% обследованных детей, диагностируемая по «косвенным» рентгенологическим признакам. Из них у трети детей предварительные клинические диагнозы явились результатом субъективизма оценки структур корней легких, отсутствие динамической резкости сосудов и вилочковой железы. Ложная диагностика включала ошибочное толкование нормальных и аномальных сосудистых структур и нетуберкулезную патологию в виде опухолей, кист средостения, опухолей плевры [106; 44; 45; 39; 98; 282; 312].

Авторы Е.Н. Янченко, М.С. Греймер (1999) [219] приводят характеристику «малой» формы ТВГЛУ, которая наиболее часто встречается у детей и характеризуется нерезкой гиперплазией 1-2 групп лимфатических узлов при размерах 0,5 - 1,5см. Однако, дать подобную оценку ВГЛУ при приведении обзорной рентгенограммы и линейных томограмм невозможно, в связи с чем, диагностика проводится только по «косвенным признакам». Кроме того, не приводятся соотношения результатов чувствительности к туберкулину по пробе Манту 2ТЕ, которая всегда имеет положительный результат и изменяется только по степени выраженности реакции [204].

Внедрение в практическую работу фтизиатров компьютерной томографии дало возможность определять достоверные измерения всех группах ЛУ и легочной ткани в реформированных многоплоскостных изображениях, однако встал вопрос о норме и патологии визуализируемых ЛУ [91]. Полученные при проведении КТ-средостения данные, позволили констатировать факт принципиально новых возможностей в диагностике туберкулеза как у взрослых [222; 307], так и у детей [106; 46; 226; 57; 99; 241; 262]. Компьютерная томография (КТ) позволяет более детально изучить органы грудной клетки, в том числе и патологические изменения во ВГЛУ [118; 119; 43; 303; 307], провести дифференциальную диагностику специфических и неспецифических

изменений как в легочной ткани, так и во внутригрудных лимфатических узлах (ВГЛУ) [90; 42; 268].

По данным отечественной и зарубежной литературы сведений о четких размерах неизменных лимфатических узлов (ЛУ) средостения в настоящее время нет, так как массовых обследований здоровых детей с применением компьютерной томографии в мировой практике не проводилось. Во взрослой практике условно принято считать нормой размеры лимфатических узлов средостения в диаметре не более 10 мм [218].

Несмотря на значительное количество работ, посвященных компьютерно-томографической диагностике внутригрудных лимфоаденопатий и туберкулёза органов дыхания, остается много нерешенных проблем [100; 120; 122]. Прежде всего, недостаточно изучены компьютерно-томографические признаки поражения внутригрудных лимфатических узлов при туберкулёзе легких, что приводит к поздней диагностике заболевания, несвоевременной и неадекватной терапии и, соответственно, к неблагоприятному прогнозу течения процесса.

Некоторые исследователи: Ю.В.Матушкина (2008) [123], W.H. Boom (1996) [255]; N.W. Schluger (1998) [323] - в своих работах указывают на наличие специфических изменений в ЛУ размерами до 10мм. При этом Я.В. Лазарева и соавт.(2000,2007)[108] приводит подтверждение гистологического исследования удаленного при оперативном вмешательстве ЛУ средостения диаметром 1-3мм с явлениями казеозного распада. Начальные признаки обызвествления ЛУ можно видеть уже при его размере узла более 2мм, кальцинат - при диаметре 1мм [262; 245].

В учебном пособии группы авторов Педиатрической медицинской Академии под руководством профессора В.Г.Мазура и А.В. Холина и соавт. (1999) [19] приведены данные исследования детей разного возраста, где представлена

характеристика ЛУ во всех группах от 0,4 до 0,7см, но исследователи не соотносили полученные данными иммунологических тестов, что не дает возможность оценить факт инфицирования МБТ. В исследования применялась компьютерная томография, которая значительно уступает по информативности многосрезовой компьютерной томографии (МСКТ) и спиральной компьютерной томографии (СКТ). Таким образом, вопрос о трактовке ВГЛУ по данным лучевой диагностики остается в настоящее время открытым и не нашедшим своего однозначного определения.

При проведении компьютерной томографии в практической работе фтизиопедиатров в 74,6% визуализируются множественные обызвествленные лимфатические узлы диаметром 0,2-0,5см даже при латентной туберкулезной инфекции, что свидетельствует об отсутствии качественной диагностики специфического поражения ВГЛУ при стандартном рентгенологическом обследовании [3; 5; 203; 192; 195].

Существует проблема качественной диагностики ВГЛУ и при проведении компьютерной томографии, так как без контрастирования невозможна визуализация наиболее часто заподозренной при стандартном комплексе рентгенологического обследования - бронхопульмональной группе ЛУ.

Несовпадение размеров ЛУ при МСКТ и КТ-ангиографии составляет от 25% до 36,4% [42]. СКТ и СКТ с внутривенным болюсным усилением позволяют визуализировать все группы лимфатических узлов средостения, анализировать размеры, структуру лимфатических узлов, состояние клетчатки средостения и прилежащих сосудов и бронхов [192; 218; 318].

В работе Ю.В.Матушкиной (2008) [123] у больных туберкулезом взрослых при сопоставлении данных СКТ и КТ с внутривенным болюсным (КТ-АГ) усилением показано, что совпадение в определении локализации и выраженности поражения внутригрудных лимфатических узлов наблюдается в 85,7%, которые отсутствовали

при нативном исследовании. Несомненным достоинством КТ-АГ является возможность дифференцировать внутригрудные лимфатические узлы и сосуды средостения и оценивать их во всех плоскостях, определить наличие признаков активности процесса в виде зон казеозного некроза. Расхождения в определении лимфоаденопатии при сравнении методов лучевой диагностики, связаны с близким расположением лимфатических узлов средостения с аортой, верхней полую вену, сосудами корней лёгких и примерно одинаковой рентгеновской плотностью их с кровью. Спиральная компьютерная томография с внутривенным болюсным усилением повышает эффективность диагностики туберкулёзной лимфоаденопатии. Чувствительность КТ-АГ составляет – 94,4%, специфичность – 100%, диагностическая эффективность – 96,5% в диагностике специфических изменений во ВГЛУ у взрослых.

Таким образом, высокая информативность КТ грудной полости у детей позволяет отказаться от обычного томографического исследования и ограничить показания к применению инвазивных методов [90; 28]. Внедрение компьютерной томографии в работу фтизиопедиатрической службы может привести как к значительному изменению структуры детских контингентов ПТД, так и повышению эффективности лечебно-профилактических мероприятий среди данных контингентов [232; 241], однако необходимо установить и утвердить схему диагностики и трактовки ВГЛУ у детей, инфицированных МБТ, с подозрением на специфическое поражение ВГЛУ, путем соотношения выявленных изменений не только со стандартными иммунологическими методами (туберкулинодиагностика), обладающими низкими диагностическими показателями по определению активности туберкулёзной инфекции, а с появившимися в практике новыми иммунологическими тестами (ДИАСКИНТЕСТ® и Квантифероновый тест) и с клиническими данными ребенка.

Применение компьютерной томографии у детей из групп риска позволяет в 1,8 раз чаще выявить туберкулез по сравнению с рентгенологическим исследованием [140;147; 244]. Разработка принципиально нового подхода диагностики туберкулеза у

детей, в том числе из семейного очага туберкулезной инфекции на основании применения современных иммунологических тестов при определении активности туберкулезной инфекции в соотношении с данными лучевой диагностики (МСКТ и КТ-ангиографии) является актуальной и своевременной в современных условиях

\*\*\*\*\*

Относительная стабилизация эпидемических показателей на фоне роста выявления больных туберкулезом взрослых с бактериовыделением и утяжелением структуры клинических форм делает необходимым усовершенствование комплекса диагностики и наблюдения детей, в особенности из семейного контакта с больным туберкулезом. В настоящее время, проба Манту 2ТЕ утратила свои позиции как метод раннего выявления, что приводит к существенным дефектам в работе общей лечебной сети и как следствие к позднему направлению ребенка на обследование в противотуберкулезный диспансер (ПТД). В условиях противотуберкулезного диспансера дети длительное время наблюдаются, проходят профилактическое лечение, которое часто бывает неадекватным, так как применение стандартного комплекса обследования (туберкулинодиагностика и рентгенологическое обследование) не позволяет качественно диагностировать наличие специфического воспаления. Применение современных методов раннего выявления особенно необходимо в условиях, когда контакт с больным туберкулезом взрослым не всегда известен и выявление ребенка, больного туберкулезом, происходит поздно.

Получение фундаментальных знаний по наличию иммуногенетической предрасположенности к развитию туберкулезной инфекции, а также изучение изменения и взаимосвязи с иммунным ответом, что позволит сформировать в

последующем группы риска, определить тактику ведения и прогнозирования течения специфического процесса у пациентов из семейного очага инфекции.

Новое направление в диагностике и профилактике туберкулеза позволит своевременно выявить и обоснованно назначать необходимый комплекс лечебных мероприятий. Данные об иммуногенетическом статусе ребенка в особенности с отягощенной наследственностью по туберкулезу позволят осуществить прогноз и сформировать комплекс профилактических мер по предотвращению развития туберкулезной инфекции у детей из семейного очага инфекции, что является значимым в современных условиях.



## ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В клиниках ФГБУ «СПбНИИФ» Минздрава России: отделении детской фтизиатрии, хирургии костно-суставного туберкулеза у детей и подростков, а также в Республиканском центре иммунологического типирования тканей института гематологии и трансфузиологии ФМБА с 2008 по 2011 гг. проведено обследование и анализ 748 человек. 320 детей с различными проявлениями туберкулезной инфекции, 82 взрослых родственника детей из семейного очага инфекции и 346 взрослых доноров (группа контроля при генотипировании HLA-DRB1\*).

### 2.1. Клиническая характеристика обследованных детей

Проведен анализ 320 детей после разделения их по возрастным периодам, принятым в педиатрической практике [152]. В таблице 2.1.1. представлено распределение обследованных детей по возрасту и полу.

Таблица 2.1.1.

#### Распределение по возрасту и полу

Возраст/пол	Мальчики %, n	Девочки %, n	Всего %, n
3 до 6 лет	51,8 (73)	48,2 (68)	44,1 (141)
7 до 14 лет	54,2 (97)	45,8 (82)	55,9 (179)
Итого:	53,1 (170)	46,9 (150)	<b>320</b>

В возрасте от 3 до 6 лет - 141 ребенок ( $m=5,2\pm 0,2$ ) и от 7 до 14 лет - 179 человек ( $m=12,6\pm 0,4$ ). Отмечалось незначительное преобладание пациентов в возрасте от 7 до 14 лет (55,9%), число мальчиков и девочек не отличалось.

В таблице 2.1.2. представлены результаты по методам выявления пациентов.

Таблица 2.1.2.

**Методы выявления в разных возрастных группах**

Возраст	Методы выявления %, п				
	по туберкулино-диагностике	по контакту	по жалобам	при рентген. обсл.	Всего
3 до 6 лет	43,3(61)	32,6 (46)	<b>24,1(34)</b>	-	44,1(141)
7 до 14 лет	50,3(90)	35,2(63)	<b>12,3(22)</b>	2,2(4)	55,9(179)
Итого:	47,2(151)	34,1(109)	17,5(56)	1,2(4)	320

Как видно из таблицы 2.1.2., практически половина обследованных детей выявлена по результатам массовой туберкулинодиагностики (47,2%), каждый пятый ребенок - по контакту с больным туберкулезом (34,1%), значительно реже - в связи с появлением жалоб (17,5%), 4 человека - после проведения рентгенологического обследования. Число пациентов с жалобами в младшей возрастной группе преобладает в сравнении с детьми старшего возраста.

Данные о сроках инфицирования МБТ у пациентов представлены в таблице 2.1.3. Каждый второй ребенок был инфицирован МБТ от 2 до 5 лет (52,2%), в периоде раннего инфицирования находилась одна треть пациентов (30,9%), из них половина младшего возраста (50,4%). В старшей возрастной дети были инфицированы в срок от 2 до 5 лет (54,2%) и в 30,2% случаев более 5 лет.

**Срок инфицирования МБТ в различных возрастных группах**

Возраст	Сроки инфицирования МБТ (% , n)			
	Ранний период	От 2 до 5 лет	более 5 лет	Всего
3 до 6 лет	50,4 (71)	49,6 (70)	-	44,1 (141)
7 до 14 лет	15,6 (28)	54,2 (97)	<b>30,2 (54)</b>	55,9 (179)
Итого:	30,9 (99)	52,2 (167)	<b>16,9 (54)</b>	320

Профилактические мероприятия проведены у каждого четвертого ребенка (25,3%;81).

По данным анамнеза наличие сопутствующей патологии отмечалось у половины детей (49,0%; 159). Наиболее часто встречалась лор-патология (46,5%;74). К категории часто болеющих отнесено 103 (32,2%) ребенка. Аллергологический анамнез был отягощен в 17,2% (55) случаев. Значительная часть пациентов (40,0%; 128) предъявляла жалобы на утомляемость, субфебрильную температуру, нарушение психо-эмоционального статуса, появление болей и отека различных локализациях костно-суставного аппарата.

Социальный статус семей представлен в таблице 2.1.4. Оценивалась совокупность данных: условия проживания, трудоустроенность родителей, уровень материального достатка (относительно среднего уровня заработка), полноценность семьи, наличие вредных привычек.

### Социальный статус семей

Группа	Социальный статус (% , n)		
	Низкий	Средний	Высокий
Общая группа (n=320)	42,8(137)	52,2(167)	<b>5,0(16)</b>

Как видно из таблицы 2.1.4. в половине случаев семьи имели средний и немного реже низкий уровень жизни, только в 5,0% случаев пациенты проживали в семьях с высоким социальным статусом.

Подавляющее большинство обследованных вакцинировано БЦЖ в роддоме (88,1%; 282), у 14 детей проведена БЦЖ-М после снятия медицинского отвода, у 38 (11,9%) человек сведения о прививке отсутствовали. Следует отметить, что эффективно половина детей вакцинирована (45,3%; 134), о чем свидетельствовал размер рубца более 5мм. В 54,7% (162) вакцинация проведена неэффективно, при этом у 40 человек поствакцинный знак отсутствовал.

Представлены данные о чувствительности к туберкулину по пробе Манту 2ТЕ в таблице 2.1.5. Число детей с низкой чувствительностью (17,5%) к туберкулину было одинаково во всех возрастных группах (от 3 до 6 лет - 19,8% и от 7 до 14 лет - 15,6%), где средний размер папулы составлял  $m=6,2\pm 0,3$ мм.

Каждый второй ребенок младшего и среднего возраста имел средний уровень чувствительности к туберкулину, о чем свидетельствовал средний размер папулы  $m=12,8\pm 0,16$ мм.

**Чувствительность к туберкулину по пробе Манту 2ТЕ**

Возраст	Чувствительность к туберкулину %, n (M±m)			
	низкая	средняя	высокая	Всего
3 до 6 лет	19,8 (28) 6,1±0,5	63,1 (89) 12,1±0,2	17,1 (24) 18,08±0,3	44,1 (141)
7 до 14 лет	15,6 (28) 6,07±0,6	60,9 (109) 12,8±0,3	<b>23,5 (42)</b> 17,9±0,4	55,9(179)
Итого:	17,5 (56)	61,9(198)	20,6 (66)	320

По результатам объективного обследования в половине случаев (59,4%) проявления интоксикационного синдрома отсутствовали. Умеренные симптомы интоксикации зафиксированы у каждого третьего ребенка (38,1%), выраженные - в 2,5% случаев.

Реакция периферических лимфатических узлов отмечена в 75,3% случаев, чаще всего как микрополиадения (65,0%), в 10,5%(33) – полиадения.

Данные о соматическом статусе обследованных детей представлен в табл.2.1.6. Практически все дети соответствовали гармоничному развитию по мезосоматическому типу (89,7%; 287), в 7,5% случаев отмечался микросоматический и только в 2,8% - макросоматический тип развития. У 10 человек зафиксирован дефицит массы тела и отставание по массо-ростовым показателям.

**Характеристика соматотипа детей в различных возрастных группах**

Возраст	Тип развития (% , n)			Всего
	микросоматический	мезосоматический	макросоматический	
3 до 6 лет	9,2 (13)	85,9 (121)	4,9 (7)	44,1 (141)
7 до 14 лет	6,1 (11)	92,7 (166)	1,2 (2)	55,9 (179)
Итого:	7,5 (24)	89,7 (287)	2,8 (9)	320

В ходе рентгенологического обследования практически у всех пациентов по обзорной рентгенограмме органов грудной клетки детей (90,3%; 289) имели место изменения структуры корней, которое в половине случаев (52,8%; 84) встречалось с двух сторон (в 28,9% - правого и в 18,2% - левого корня), а также усиление легочного рисунка.

По линейным томограммам изменения характеризовались по «косвенным признакам». Увеличение внутригрудных лимфатических узлов (ВГЛУ) заподозрено в 81,3% (260) случаях. Наиболее часто отмечалась реакция бронхопульмональной (69,6%), в два раза реже - парааортальной (30,0%) и паратрахеальной (25,7%) групп. Увеличение бифуркационной (10,4%) и трахеобронхиальной группы определяли значительно реже. Отложение извести зафиксировано у каждого четвертого ребенка (25,0%; 80). Инфильтрация в легочной ткани диагностирована у 5 человек, у 14 детей – очаговые изменения.

## **2.2. Характеристика групп детей из семейного и неустановленного контакта (группа сравнения)**

С целью решения поставленных задач 320 детей были разделены на две основные группы по наличию контакта: 160 человек (А группа) – из семейного и 160 детей (Б группа) - из неустановленного контакта с больным туберкулезом.

В таблице 2.2.1. представлены данные о выявлении детей в группах сравнения. Среди обследованных пациентов только каждый второй ребенок в А группе направлен на обследование в противотуберкулезный диспансер по контакту с больным туберкулезом (56,2%), каждый четвертый (23,1%) - по результатам массовой туберкулинодиагностики, в 18,1% - при предъявлении жалоб. В сравнении с группой Б, в А группе число выявленных по контакту пациентов (56,8%) превалирует. Высокий процент выявленных детей по жалобам свидетельствует о низкой эффективности профилактически в очаге туберкулезной инфекции и низкой информативности методов диагностики заболевания, что приводит к позднему направлению на обследование.

В таблице 2.2.2. Анализ Сроки инфицирования МБТ в группах обследованных детей. Показано, что одна треть пациентов в А группе находилась в раннем периоде инфицирования МБТ (30,9%), из них большую часть составляют (61,6%) дети младшего возраста.

Таблица 2.2.1.

## Методы выявления детей из семейного очага инфекции и неустановленного контакта (группа контроля)

Возраст	А группа - семейный туб. контакт (%, n)				Всего (наблюд.)	Б группа - неустановленный контакт (%, n)				Всего (контр.) %/n	Итого %, n
	по туберкулино- диагностике	по контакту	по жалобам	при рентген. обслед.		по туберкулино- диагностике	по контакту	по жалобам	при рентген. обслед.		
3 до 6 лет	16,4 (12)	56,2 (41)	27,4 (20)	-	51,3 (73)	2,9 (2)	22,1 (15)	-	48,2 (68)	44,1 (141)	
7 до 14 лет	28,7 (25)	57,5 (50)	10,3 (9)	3,4 (3)	48,7 (87)	14,1 (13)	14,1 (13)	1,1 (1)	51,3 (92)	55,9 (179)	
Итого:	<b>23,1</b> <b>(37)</b>	<b>56,8</b> <b>(91)</b>	<b>18,1</b> <b>(29)</b>	<b>1,8</b> <b>(3)</b>	<b>50,0</b> <b>(160)</b>	<b>9,4</b> <b>(15)</b>	<b>17,5</b> <b>(28)</b>	<b>0,6</b> <b>(1)</b>	<b>50,0</b> <b>(160)</b>	<b>320</b>	



Таблица 2.2.2.

**Срок инфицирования МБТ детей разного возраста в группе из семейного и неустановленного  
контакта**

Возраст	Семейный туб. контакт ((n, %))			Всего (наблюд.) (n, %)	Неустановленный контакт (Б) (n, %)			Всего (контр.) (n, %)	итого
	(А)				(Б)				
	Ранний период	От 2 до 5 лет	Более 5 лет		Ранний период	От 2 до 5 лет	Более 5 лет		
	1	2	3		4	5	6		
3 до 6 лет	<b>61,6*</b> <b>(45)</b>	38,4 (28)	-	51,8 (73)	38,2 (26)	61,8 (42)	-	48,2 (68)	44,1 (141)
7 до 14 лет	4,6 (4)	63,2 (55)	32,2 (28)	48,7 (87)	<b>26,1*</b> <b>(24)</b>	45,6 (42)	28,3 (26)	51,3 (92)	55,9 (179)
<b>Итого:</b>	<b>30,6</b> <b>(49)</b>	<b>51,2</b> <b>(82)</b>	18,1 (29)	50,0 (160)	<b>31,2</b> <b>(50)</b>	<b>52,5</b> <b>(84)</b>	16,3 (26)	50,0 (160)	320

\*p<0,01- достоверные различия между 1 и 4 группами

Как видно из таблицы 2.2.2., в группах обследованных детей достоверно больше пациентов было в младшем возрасте инфицировано МБТ в семейном контакте (А), чем в группе сравнения (Б) (61,6% против 38,2%,  $\chi^2=7,7$   $p<0,01$ ). В тоже время, в группе Б превалировало число детей со сроком инфицирования МБТ более 5 лет у детей старшего возраста (26,1% против 4,6%,  $\chi^2=15,6$   $p<0,001$ ). Срок инфицирования МБТ от 2 до 5 лет определялся в половине случаев (52,2%) без возрастных различий и независимо от контакта. Значительно реже срок инфицирования МБТ был более 5 лет (16,9%) у детей среднего и старшего возраста.

### **2.3. Методы исследования**

Всем обследованным проведено унифицированное фтизиатрическое обследование, которое дополнено современными иммунологическими, иммуногенетическими и рентгенологическими методами.

#### **2.3.1. Данные анамнеза и объективный статус**

Проведен сбор анамнеза жизни и заболевания (ранний анамнез, наличие сопутствующих заболеваний, характер хронической патологии, аллергологический анамнез, сведения о проводившихся профилактических мероприятиях: иммунизация вакциной БЦЖ/БЦЖ-М, результаты массовой туберкулинодиагностики, назначение и проведение химиопрофилактики, превентивной терапии).

Оценивались эпидемиологические и социальные факторы риска. Эпидемические параметры: родство контакта, срок пребывания ребенка в очаге, численность контакта, наличие бактериовыделения, чувствительность выделенной МБТ к противотуберкулезным препаратам.

Социально-экономический статус оценивался по: уровню дохода семьи (доход менее  $\frac{1}{4}$  минимального размера оплаты труда на 1 члена семьи в месяц), условия проживания (коммунальная квартира, общежитие), полноценность семьи, наличие членов с вредными привычками (злоупотребление алкоголем или прием наркотических средств), несбалансированное питание, отсутствие санитарно-гигиенических навыков.

Объективные методы включали: антропометрию с оценкой физического развития, термометрию, осмотр, пальпацию, перкуссию (сравнительную, топографическую, а также с целью выявления специфических симптомов: Корани, чаши Философова и т.п.), аускультацию.

### **2.3.2. Иммунологические методы**

Изменения иммунологических характеристик оценивали по состоянию клеточного и гуморального иммунного ответа.

Уровень специфической сенсибилизации характеризовались по результатам пробы Манту 2ТЕ, градуированной пробе Манту в V и VI разведении. Дополнительно проведена постановка Диаскин-теста.

#### **Проба Манту 2ТЕ**

Аллерген туберкулезный очищенный жидкий (очищенный туберкулин в стандартном разведении) - готовые к употреблению растворы туберкулина. Препарат представляет собой раствор очищенного туберкулина в фосфатном буфере с твином-80 в качестве стабилизатора и фенолом в качестве консерванта - бесцветная прозрачная жидкость. Препарат выпускают в ампулах в виде раствора, содержащего 2 ТЕ ППД-Л в 0,1 мл. Возможен выпуск 5 ТЕ, 10 ТЕ в 0,1 мл и других дозировок препарата.

## **Градуированная проба Манту в разведениях 0,1 (V) и 0,01 (VI)**

Применяется аллерген туберкулезный очищенный сухой (сухой очищенный туберкулин) — это растворенный в фосфатном буфере с сахарозой лиофильно высушенный очищенный туберкулин. Препарат имеет вид сухой компактной массы или порошка белого (слегка сероватого или кремового) цвета, легко растворяющегося в прилагаемом растворителе - карболизированном изотоническом растворе натрия хлорида. Выпускается в ампулах, содержащих 50 000 ТЕ. Растворы туберкулина для проведения градуированной пробы Манту готовили согласно способу, изложенному в методических рекомендациях №96/81 «Туберкулинодиагностика при локальных и сочетанных формах туберкулеза у детей» [215]. Пробу Манту проводят на внутренней поверхности предплечья: правом или левом предплечье. Результат пробы Манту оценивают через 72 часа путем измерения размера инфильтрата (папулы) в миллиметрах (мм).

## **Аллерген туберкулезный рекомбинантный в стандартном разведении – ДИАСКИНТЕСТ®**

Аллерген туберкулезный рекомбинантный – ДИАСКИНТЕСТ®, инструкция по применению препарата ДИАСКИНТЕСТ® утверждена 19.06.2008г. Регистрационный номер: ЛСР–006435/08 от 11.08.2008г.; (Приказ Министерства здравоохранения и социального развития РФ №855 от 29 октября 2009г. «О внесении изменений в приложение №4 к приказу Минздрава России от 21 марта 2003г.№109»).

Препарат представляет собой рекомбинантный белок, продуцируемый генетически модифицированной культурой *Escherichia coli* BL21(DE3)/pCFP-ESAT. Содержит два связанных между собой антигена - CFP10 и ESAT6, присутствующие в вирулентных штаммах микобактерий туберкулеза, в том числе *M.tuberculosis* и *M.bovis*. Эти антигены отсутствуют в штаммах БЦЖ

*M.bovis*. Эти антигены отсутствуют в штаммах БЦЖ *M.bovis*, включая российский, из которого готовятся вакцины туберкулезные - БЦЖ и БЦЖ-М.

Одна доза (0,1 мл) препарата содержит: рекомбинантный белок CFP10-ESAT6 - 0,2 мкг, фенол (0,25мг) в качестве консерванта, полисорбат 80 (твин 80) в качестве стабилизатора, натрий фосфорнокислый двузамещенный 2-водный, натрия хлорид, калий фосфорнокислый однозамещенный, вода для инъекций – до 0,1 мл.

Биологические и иммунологические свойства: аллерген туберкулезный рекомбинантный не обладает сенсibiliзирующим действием, не токсичен. При внутрикожном введении вызывает у лиц с туберкулезной инфекцией специфическую кожную реакцию гиперчувствительности замедленного типа.

Метод основан на выявлении клеточного иммунного ответа на специфические для *M.tuberculosis* антигены. Посредством постановки внутрикожной пробы с препаратом выявляется аллергическая реакция замедленного типа (ГЗТ), которая развивается при туберкулезной инфекции.

Результат пробы оценивали через 72 ч с момента ее проведения путем измерения поперечного (по отношению к оси предплечья) размера гиперемии и инфильтрата (папулы) в миллиметрах прозрачной линейкой. Гиперемию учитывают только в случае отсутствия инфильтрата.

Ответная реакция на пробу считается:

- отрицательной – при полном отсутствии инфильтрата и гиперемии или при наличии «уколочной реакции»;
- сомнительной – при наличии гиперемии без инфильтрата;
- положительной – при наличии инфильтрата (папулы) любого размера.

Условно различают реакции:

- слабо выраженную – при наличии инфильтрата размером до 5 мм или гиперемии 5 мм и более;
- умеренно выраженную – при размере инфильтрата 5-9 мм;
- выраженную – при размере инфильтрата 10 мм и более;
- гиперергическую – при размере инфильтрата 15 мм и более, при везикуло-некротических изменениях и (или) лимфангоите, лимфадените независимо от размера инфильтрата.

### **QuantiFERON®-TB Gold (квантифероновый тест)**

Квантифероновый тест (QuantiFERON®-TB Gold In-Tube) основан на использовании стимулирующей смеси белков ESAT-6, CFP-10 и TB7.7 для оценки клеток гепаринизированной цельной крови. Проводится количественное определение интерферона гамма (IFN- $\gamma$ ) методом иммуноферментного анализа (ELISA, ИФА) при выявлении *in vitro* клеточного ответа после стимуляции этими пептидными антигенами, ассоциированными с инфекцией *Mycobacterium tuberculosis*.

Применялся набор реагентов *in-vitro* «Квантиферон-TB Gold» (QuantiFERON® Gold ELISA) с принадлежностями, рег. КРД №5393 от 02.02.10 приказом Росздравнадзора от 04.03.10 №1682-Пр/10; для определения клеточного ответа к пептидным антигенам ESAT-6, CFP-10 и TB7.7 по уровню продукции интерферона гамма (IFN- $\gamma$ ) в пробирках с образцами цельной крови.

### **Оценка индивидуальных иммунологических показателей**

Оценку субпопуляционного состава лимфоцитов венозной крови проводили с использованием панели моноклональных антител серии ИКО производства НПЦ «Медбиоспектр» (Москва). Подсчитывали относительные и абсолютные

показатели содержания субпопуляций лимфоцитов, экспрессирующих отдельные маркеры: CD3+, CD4+, CD8+, CD16+, CD20+, CD25+, CD95+, HLAII.

Определение уровня индуцированной продукции цитокинов IL-2, IL-4, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  проводили в супернатантах методом твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА), так как результаты определения спонтанной продукции цитокинов *ex vivo* позволяют оценить активацию клеток крови в организме обследуемого пациента, а индуцированной митогеном продукции – их потенциальную способность к секреции цитокинов.

Свежеотобранную периферическую кровь (гепарин 2,5 ЕД/мл) в количестве 1 мл в стерильных условиях 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.

Исследования по стимуляции продукции цитокинов митогенами проводили параллельно в это же время. Во флаконы, содержащие по 1 мл разбавленной крови, добавляли концентрированный раствор одного из митогенов: фитогемагглютинаина М (РНА-М), выпускаемого фирмой «Sigma», туберкулина (PPD), до конечной концентрации 10 мкг/мл (реакция бласттрансформации Т – лимфоцитов (РБТЛ с ППД) с туберкулином в стандартном разведении (Ling N.R., 1971). Все флаконы, содержащие разбавленную кровь с митогенами, инкубировали, центрифугировали, а затем получали и хранили образцы для последующего количественного анализа цитокинов, как описано выше. Концентрацию цитокинов в исследуемых образцах измеряли с помощью

соответствующих иммуноферментных наборов реагентов производства ЗАО «Вектор-Бест» (Новосибирск). Оценку уровней цитокинов проводили по нормам С.А. Кетлинского и Калининой Н.М. (1998).

Определение функциональной активности нейтрофилов проводилось методом фагоцитоза с культурой убитых клеток *Staphylococcus aureus* 209-P.

1. В каждую пробирку (2 пробы на одно исследование) вносили по 1ml гепаринизированной периферической крови и по 150 мкл суточной культуры убитых *Staphylococcus aureus* 209-P в концентрации 1 млрд. микробных тел в 1 ml (соотношение нейтрофилов и микробных тел в 1 ml (соотношение нейтрофилов и микробных частиц приблизительно 1:50).

2. Пробирки с фагоцитарной смесью помещали в термостат и инкубировали при 37°C, периодически встряхивая, 30мин. (1 проба) и 120 мин. (2 проба).

3. После инкубации пробирку с пробой охлаждали под струей проточной воды и центрифугировать 5мин. при 1500 об/мин.

4. Собрали лейкоцитарную пленку, образовавшуюся на границе раздела «эритроциты-сыворотка» для приготовления мазка (1проба-2мазка).

5. Мазки фиксировали смесью Никифорова (спирт+эфир- 1:1), покрывая ею всю поверхность мазка; после просушивания, покрасить гематологическим красителем «Профессионал», через 1 мин. смыть краску и высушить мазки.

6. Учет реакций проводился при помощи световой микроскопии под масляной иммерсией.

Фагоцитарный индекс (ФИ)- процент клеток через 30 мин. и через 120 мин. инкубации, характеризует процент фагоцитирующих клеток. Фагоцитарное число Райта (ФЧ)- среднее количество фагоцитированных микробных частиц, приходящихся на 1 фагоцит. Индекс завершенности фагоцитоза (ИЗФ) определяется по формуле:  $ИЗФ = \frac{ФЧ\ 30мин.}{ФЧ\ 120мин.}$ . При том, что ИЗФ =1, процесс фагоцитоза считали завершенным [200].



## Сероиммунологический комплекс реакций

Применялся новый серологический метод трехфазного иммуноферментного анализа с помощью набора anda-tb ELISA для определения анти-микобактериальных антител IgA, IgG, IgM классов в человеческих биологических средах. ANDA-TB GA является скрининговым тестом в диагностике туберкулеза. Образцы разведенной человеческой сыворотки (IgA, IgG, IgM) или другой биологической жидкости помещают в лунки микропланшета, покрытого антигенным комплексом A60 микобактерий. В процессе инкубации образуются комплексы антиген-антитело. Не связавшиеся компоненты сыворотки удаляют путем промывок. Во время второй инкубации в лунки добавляют меченные пероксидазой антитела к человеческим IgA, IgG, IgM, которые связывают с антителами, присутствующими в комплексе. Не связавшиеся меченые антитела удаляют путем промывок. Затем в лунки добавляют раствор субстрата ТМВ (тетраметилбензидина), содержащий перекись водорода. В результате инкубации пероксидазы с ТМВ развивается цветная реакция, интенсивность которой прямо пропорциональна количеству присутствующих в образце специфических антител.

Определение циркулирующих противотуберкулезных антител [ПТАТ] проводилось по реакции непрямой гемагглютинации [РНГА по Миддлбруку и Дюбо в модификации Бойдена], пассивного гемолиза (РПГ) и потребления комплемента (РПК) в модификации Кноринг Б.Е. (1975) [83], иммунофлюорисцентного анализ (ИФА) в модификации Р.И. Шендоровой, В.Н. Вербовой (1986) [236].

### **Реакция непрямой гемагглютинации (РНГА).**

В качестве адсорбента для антигена использовались эритроциты человека O(1)Rh(-) приготовленные из дефибрилированной крови с добавлением консерванта Мигулиной. Для танизирования эритроцитов применяли раствор танина в физиологическом растворе 1 на 500тыс. Для сенсibilизации 0,1мл

тонизированных эритроцитов добавили 0,3-0,5 мл антигена из 1мл растворенного в ампуле туберкулина [ППД]. РНГА ставили, используя двукратное разведение исследуемого материала в объеме 0,2мл добавляя к ним 0,2 мл 1% взвеси сенсibiliзированных эритроцитов. За диагностический титр антител принято разведение сыворотки 1/4.

#### **Реакция пассивного гемолиза (РПГ) в модификации Б.Е.Кноринг [1975].**

На первом этапе готовят тонизированные и сенсibiliзированные туберкулином эритроциты человека 0(I) Rh(-) к 0,2 мл цельной испытуемой сыворотки добавляют 3 мл 0,15% взвеси сенсibiliзированных эритроцитов, контрольной к 0,2мл сыворотки добавляют 3 мл 0,15% взвеси тонизированных, но несенсибилизированных эритроцитов. Пробы центрифугировали. Разность в интенсивности гемолиза в надосадочной жидкости опытной и контрольной пробирок определяемой с помощью фотоэлектроколориметра и является показателем уровня противотуберкулезных антител содержащихся в исследуемой сыворотке. Диагностический уровень ПТАТ соответствует 5 усл.ед.

#### **Реакция потребления комплемента (РПК) в модификации Б.Е.Кноринг [1973].**

К 0,1мл цельной сыворотки добавили 0,1 мл туберкулина в разведении 1:10, а в контрольной 0,1 мл физиологического раствора. После одного часа инкубации при 37С в опытную и контрольную пробирки добавляют 5мл гемолитической системы. Полученную взвесь перемешивают и выдерживают при 37°С 15 мин., затем охлаждают при 0°С, 4°С 5-7 мин. Осаждают эритроциты центрифугированием при 1500 об/мин.-10 мин. Надосадочную жидкость отбирают, разводят в 2раза физиологическим раствором и учитывают интенсивность гемолиза фотоколориметрически. Диагностический титр в РПК соответствует 12 ус.ед.

#### **Иммуноферментный анализ в модификации Р.И. Шендоровой, В.Н. Вербова [1989].**

0,1 мл туберкулина в разведении 1:10 вносили в каждую лунку планшета, инкубировали 2 часа при 37°C, затем промывали лунки фосфатным раствором. В две лунки вносили по 0,1мл фосфатного раствора (контроль субстрата), в две лунки – по 0,1мл раствора сыворотки не содержащей ПТАТ. Во все остальные лунки в дублях вносят по 0,1 мл раствора сывороток. Планшет инкубируют при 37°C в течении 30мин. По окончании срока инкубации лунки промывают фосфатным раствором, вносят по 0,1мл раствора конъюгата. Планшет инкубируют при 37°C в течении 30мин, промывают фосфатным раствором, добавляют 0,1мл субстратного раствора и инкубируют при 15-25°C в течении 20 мин. Учет результатов реакции осуществляют при изменении оптической плотности (ОП) при длине волны 490нм. Положительным учитывается результат при ОП выше 0,2.

### **2.3.3. Молекулярно-генетические методы**

#### **Определение ДНК МБТ в промывных водах бронхов**

В качестве диагностического материала использовали промывные воды бронхов для проведения молекулярно-генетического анализа после фибробронхоскопии.

Промывные воды бронхов собирались в пластиковый, стерильный контейнер (центрифужные стерильные пробирки на 50 мл. типа «Costar»). Оптимальный объем материала для исследования составлял 5 мл.

Выделение тотальной ДНК из респираторного материала.

Данный этап включает пробоподготовку исследуемого материала (деконтаминацию клинического материала). Респираторный материал заливается двумя объемами приготовленного раствора (4%NaOH, 1.45%Na-citrate, 0.5% N-acetyl-L-cysteine). Постоянно перемешивается при комнатной температуре в

течение 15 мин., затем заливается 10 объемами 6,7 ммоль/л фосфатным буфером (рН 7,4) и центрифугируется 15 мин. при скорости 4000 об/мин. Надосадочная жидкость сливается. Процедура повторяется дважды, полученный осадок ресуспензируют в 0,5 мл. фосфатного буфера и аликвоту в 0,1 мл. используют для выделения ДНК. Тотальная ДНК выделяется с помощью набора для выделения «Проба НК» компании «ДНК-технология» Москва, Россия согласно указаниям производителя. Выделенную тотальную 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).

### **Генотипирование аллелей гена HLA-DRB1\***

Типирование аллелей гена HLA-DRB1\* проводилось в Республиканском центре иммунологического типирования тканей (лаборатория аккредитованная Европейским обществом иммуногенетиков). Геномную ДНК для проведения молекулярного типирования HLA- DRB1-гена выделяли из лейкоцитов периферической крови с использованием микроцентрифужных колонок при помощи коммерческого набора реагентов (DNA BOX), фирмы “PROTRANS” (Германия). Оценка количества и качества выделенной ДНК осуществлялась с помощью спектрофотометрии (спектрофотометр Smart Spect Plus, BioRad; одноразовые кюветы Truview Cuvette, BioRad). Измерение оптической плотности каждого образца ДНК проводилось при 260 nm и 280 nm. Концентрация выделенной ДНК составляла 50-100 нг/мкл. Качество выделенной ДНК оценивалось по соотношению OD 260\280, которое в выделенных образцах составляло 1,6-1,8. Типирование генов системы HLA II класса (локус DRB1\*) на базовом разрешении осуществлялось посредством полимеразной цепной реакции

(PCR-SSP) с панелью сиквенс-специфических праймеров с помощью стандартных коммерческих наборов реагентов PROTRANS Ceclerplate System Protrans HLA-DRB1\*, позволяющих определить следующие группы аллелей HLA DRB1 \*01, \*03, \*04, \*07, \*08, \*09, \*10, \*11, \*12, \*13, \*14, \*15, \*16.

Визуализация продуктов, полученных в результате полимеразной цепной реакции, проводилась посредством электрофореза в горизонтальном 2% агарозном геле. Фоторегистрация продуктов электрофореза и архивирование электрофореграмм осуществлялось с помощью системы фоторегистрации GelDoc (США). Интерпретация полученных результатов осуществлялась с помощью таблиц, прилагаемых к набору праймеров.

Анализ результатов распределения групп аллелей HLA-DRB1\* был выполнен методами популяционной генетики, включающими определение следующих показателей: частоты встречаемости гена (аллельная частота - AF), частоты встречаемости HLA-DRB1\*-генотипа.

#### **2.3.4.Рентгенологический комплекс обследования**

Рентгенологический комплекс обследования включал: обзорную рентгенограмму грудной клетки, многосрезовую компьютерную томографию (МСКТ) и компьютерную ангиографию (КТ-ангиография). При отсутствии нарушения структуры корней проводилась только МСКТ. Нарушение структуры корней легких косвенно может свидетельствовать об увеличении лимфатических узлов бронхопульмональной группы, которая при рентгенологическом обследовании диагностируется в 60% случаев. О расширении корня за счет сосудистого компонента возможно судить только после внутривенного введения контрастного вещества для дифференцирования сосудистого компонента и истинного увеличения лимфатических узлов [218].

Параметры сканирования при нативном исследовании представлены в таблице 2.3.4.1.

**Параметры сканирования при нативном исследовании**

Параметры сканирования	Значения параметров
Зона сканирования	От верхней апертуры грудной клетки до реберно-диафрагмальных синусов.
Время вращения рентгеновской трубки за один оборот	0,5 с
Коллимация	32×0,5
Толщина реконструируемого слоя	0,5 мм
Напряжение на трубке	120 кВ
Экспозиция	100 мАс
Направление сканирования	Краниокаудальное
Питч	1,25
Алгоритм реконструкции	Стандартный (В30-В40) Высокоразрешающий (В70-В80)
Дыхание пациента	Задержанное на обычном вдохе
Положение пациента	Лежа на спине, руки заведены за голову

МСКТ органов грудной клетки выполнялось по стандартной методике на томографе «Aquilion-32» (фирма Toshiba), с толщиной среза 0,5-1,0 мм и шагом (питч) – 1-1,5, в положении пациента лежа на спине с закинутыми за голову руками для устранения артефактов от плечевых костей. Полученные изображения анализировали в соответствующих электронных «окнах», с использованием денситометрии.

Параметры сканирования при КТ-ангиографии представлены в таблице 2.3.4.2. При КТ- ангиографии использовалось однофазное введение контрастного вещества Йоверсол («Оптирей») со скоростью 2,5-3,5 мл/с инжектором Medrad Vistron CT и автоматическим отслеживанием болюса контрастного вещества. Исследование оценивалось в артериальную и венозную фазы. Проводился анализ полученных данных в разных проекциях MIP (проекция максимальной интенсивности), MPR (мультипланарная реконструкция) и трехмерной реконструкции VRT (метод объемной визуализации) Концентрация рентгеноконтрастного вещества составляла не менее 300 мг/мл, доза - 2 мл/кг.

**Параметры сканирования при КТ-ангиографии**

Параметры сканирования	Значения параметров
Зона сканирования	От верхней апертуры грудной клетки до реберно-диафрагмальных синусов.
Время вращения рентгеновской трубки за один оборот	0,5 с
Коллимация	32×0,5
Толщина реконструируемого слоя	0,5 мм
Напряжение на трубке	120 кВ
Экспозиция	100 мАс
Направление сканирования	Краниокаудальное
Концентрация контрастного вещества	300 мг/мл
Объём вводимого контрастного вещества	2 мл/кг.
Скорость введения контрастного вещества	2,5-3,5 мм/с
Задержка сканирования	Автоматическое отслеживание болюса контрастного вещества
Питч	1,25
Алгоритм реконструкции	Стандартный (В30-В40)
Дыхание пациента	Задержанное на обычном вдохе
Положение пациента	Лежа на спине, руки заведены за голову



МСКТ грудной полости проводилась детям при поступлении, по спиральной программе, что позволило в отличие от последовательного сканирования, повысить разрешающую способность вдоль продольной оси сканирования (табл.2.3.4.1. и 2.3.4.2).

Для исключения динамических артефактов сканирование проводилось при задержке дыхания. Исследование детей средней и старшей группы проводилось с задержкой дыхания на максимальном вдохе, чем достигалась неподвижность грудной стенки, а также улучшалась визуализация структуры легочной паренхимы за счет увеличения контрастности изображения. Исследование детей младшей возрастной группы проводилось при спокойном, неглубоком дыхании с использованием режима скоростного спирального сканирования при введении ребенка в медикаментозный сон.

Количество томограмм, необходимое для полной визуализации органов средостения при спиральном сканировании варьировало от +15 до +30 в зависимости от конституциональных особенностей ребенка и выбранной толщины среза.

Изображения, полученные при выполнении МСКТ, анализировали в различных электронных «окнах», характеристика которых приведена в таблице 2.3.4.3.

**Характеристика электронных «окон» при анализе изображения  
органов грудной полости (НУ).**

Электронное «окно»	Ширина «окна» (НУ)	Уровень «окна» (НУ)
Мягкотканное	+350...500	+35...+45
Легочное	+900...1200	-850
Плевральное	+1500...2000	-600

Применение относительно узкого мягкотканного «окна» позволяло оценить состояние грудной стенки, плевры и плевральной полости, средостения. Это объясняется тем, что коэффициент ослабления большинства мягких тканей (кожных покровов, мышц, сухожилий), паренхиматозных органов, лимфатических узлов и кровеносных сосудов находится в пределах +30-+70 НУ. Кальцинат характеризовался плотностью от +100 до +700 НУ. Легочное «окно» использовали для уточнения характера изменений в легочной ткани, особенно легочного рисунка. Плевральное «окно» использовали для оптимального изображения легочной ткани с содержащимися в ней сосудами, бронхами, листками плевры и другими «мягкотканными» структурами.

### **2.3.5. Методы статистического анализа**

Статистическая обработка материала проведена помощью методов вариационной статистики на основе анализа абсолютных и относительных величин. Количественные данные в виде  $M \pm m$ , где  $M$ -среднее арифметическое,  $m$ -

ее стандартная ошибка. Степень связи между изучаемыми признаками определяли с помощью коэффициента корреляции по формуле Пирсона (r) для количественных данных. Различия или показатели связи считались значимыми при уровне  $p < 0,05$ . Для учета уровня статистической значимости различий использовался U-критерий Манна-Уитни. Взаимозависимости между показателями изучались методом корреляционного анализа с использованием рангового коэффициента корреляции Спирмена.

Степени ассоциаций между пропорциями оценивались с помощью доверительных интервалов, а также критерия  $\chi^2$  с коррекцией Йейтса. При ожидаемых значениях переменных меньше 5 применяли точный тест Фишера. Значение  $p \leq 0,05$  считалось статистически значимым уровнем достоверности отличий.

Статистическая обработка генетического статуса включала расчет и анализ следующих показателей:

1. Частота встречаемости антигена (F) [78].

$$F = n/N$$

n- количество носителей признака в группе,

N- общая численность группы.

2. Критерий  $\chi^2$  (Хи-квадрат) [336] использовался для оценки достоверности различий встречаемости определенных признаков между контрольной группой и группами больных.

$$\chi^2 = \frac{(a*d - b*c) - 0,5*n)^2 * n}{(a+b) * (c+d) * (a+c) * (b+d)}$$

a- количество носителей признака в группе контроля,

b- количество индивидов без данного признака в группе контроля,

c- количество носителей признака в группе пациентов,  
d-количество индивидов без данного признака в группе  
пациентов,

n-общая численность группы,

0,5\*n-попытка на непрерывность

Определение величины «р», соответствующей найденному значению Хи-квадрата, велось по компьютерной программе с учетом одной степени свободы.

3. Величину относительного риска (RR), показывающую, во сколько раз больше вероятность заболевания у индивида, имеющего определенный ген HLA, по сравнению с лицами, не имеющими его, рассчитывали по формуле [336]:

$$RR = \frac{a*d}{b*c}$$

a- количество больных—носителей данного признака,

b-количество здоровых –носителей данного признака,

c-количество больных, не имеющих данного признака,

d- количество здоровых, не имеющих данного признака;

Величина относительного риска считалась значимой при значении более 1,0.

4. Этиологическую фракцию (EF), характеризующую силу положительной HLA-ассоциации [336], рассчитывали при значении величины относительного риска более 2,0 по формуле:

$$EF = \frac{RR-1}{RR} * F$$

5. Превентивную фракцию (PF), характеризующую силу отрицательной HLA-ассоциации [336], рассчитывали при значении относительного риска менее 1,0:

$$PF = \frac{(1-RR)*F}{RR*(1-F)+F}$$

Статистическая значимость различий устанавливалась с помощью критерия  $\chi^2$  с поправкой Йетса. Уровень достоверности  $p < 0,05$  рассматривали как статистически значимый. Данные об обследованных больных, а также результаты клинических, лабораторных и лучевых исследований заносились в специально разработанную нами карту.

В рамках доказательной медицины оптимальный выбор лабораторных анализов для обследования больных осуществляется путем расчёта операционных характеристик диагностической значимости [197]. Формулы представлены в таблице 2.3.5.1.

Определяли: ДЧ – доля лиц с положительным результатом теста среди лиц с изучаемым заболеванием; ДС – доля лиц с отрицательным результатом теста среди лиц без изучаемого заболевания; диагностическая эффективность - среднее значение между ДЧ и ДС. Оценка ДЧ и ДС важна при выборе лабораторного теста для его применения в определенных клинических целях.

После получения результатов лабораторного теста вычисляется ПЦПР и ПЦОР исследования. ПЦПР – вероятность наличия заболевания при положительном результате теста; ПЦОР – вероятность отсутствия заболевания при отрицательном результате теста.

**Параметры оценки диагностической ценности лабораторного теста**

Параметры	Болезнь присутствует: результат положительный a – истинно положительный, b - ложноположительный Болезнь отсутствует: результат отрицательный c – ложноотрицательный d – истинно отрицательный
Распространённость заболевания в популяции	$(a+c)/(a+b+c+d)$
Диагностическая чувствительность	$a/(a+c)$
Диагностическая специфичность	$d/(b+d)$
Предсказательная ценность положительного результата	$a/(a+b)$
Предсказательная ценность отрицательного результата	$d/(c+d)$
Диагностическая эффективность теста	$(a+d)/(a+b+c+d)$

Обработка материала проводилась с использованием программы Microsoft Office Word Excel 2007, а также пакет прикладных программ Statistica 6.0 фирмы StatSoft Inc. (США) с применением методов параметрической и непараметрической статистики.

### ГЛАВА 3. ОСОБЕННОСТИ КЛИНИЧЕСКОГО ТЕЧЕНИЯ И ДИАГНОСТИКИ ТУБЕРКУЛЕЗА У ДЕТЕЙ ИЗ СЕМЕЙНОГО КОНТАКТА С БОЛЬНЫМ ТУБЕРКУЛЕЗОМ

В результате проведенного комплексного обследования с включением лучевых методов (МСКТ) (n=320) дети из групп А (семейный тубконтакт n=160) и Б (неустановленный контакт n=160) были разделены на подгруппы по наличию специфического процесса, что позволило провести их сравнение. В А группе две подгруппы: А I- инфицированные МБТ (здоровые) (n=40) и А II – больные туберкулезом (n=120). В группе Б две подгруппы: Б I- инфицированные МБТ (здоровые) (n=79) и Б II - больные туберкулезом (n=81).

#### 3.1. Сравнение подгрупп обследованных детей из семейного и неустановленного контакта с различными проявлениями туберкулезной инфекции

На рисунке 3.1.1. представлено сравнение групп обследованных детей по проведению профилактического лечения.

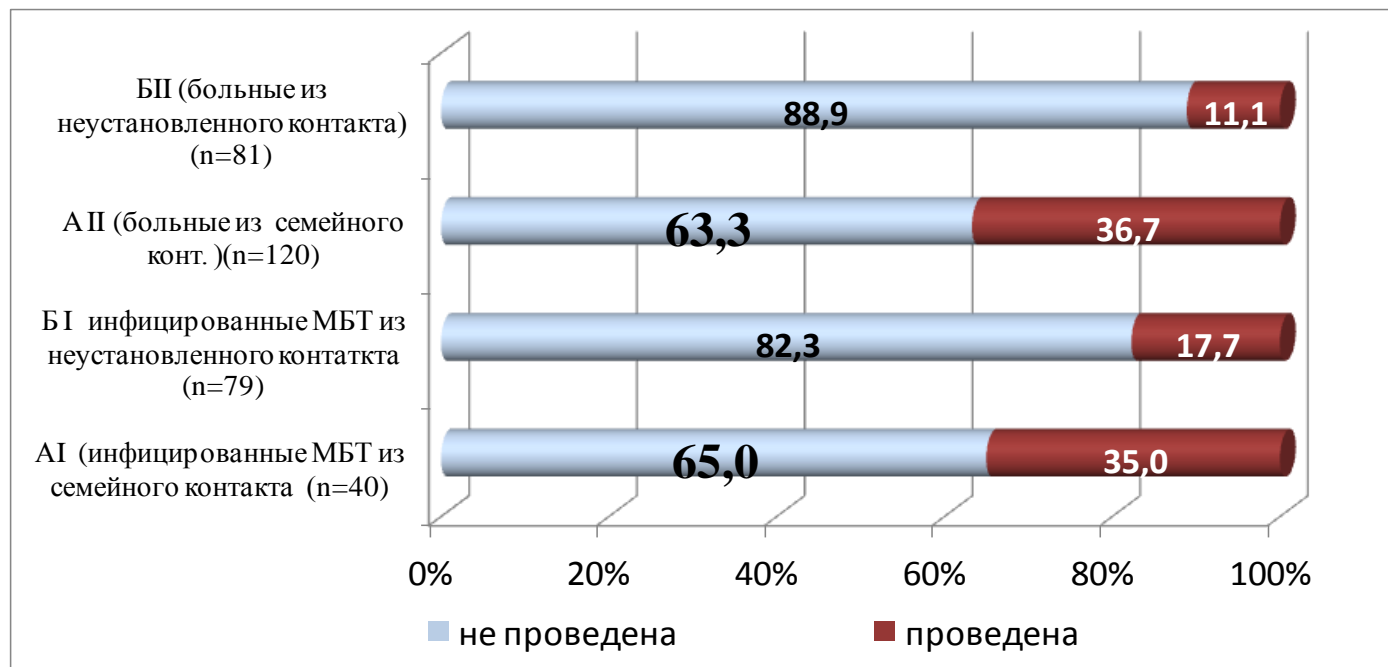
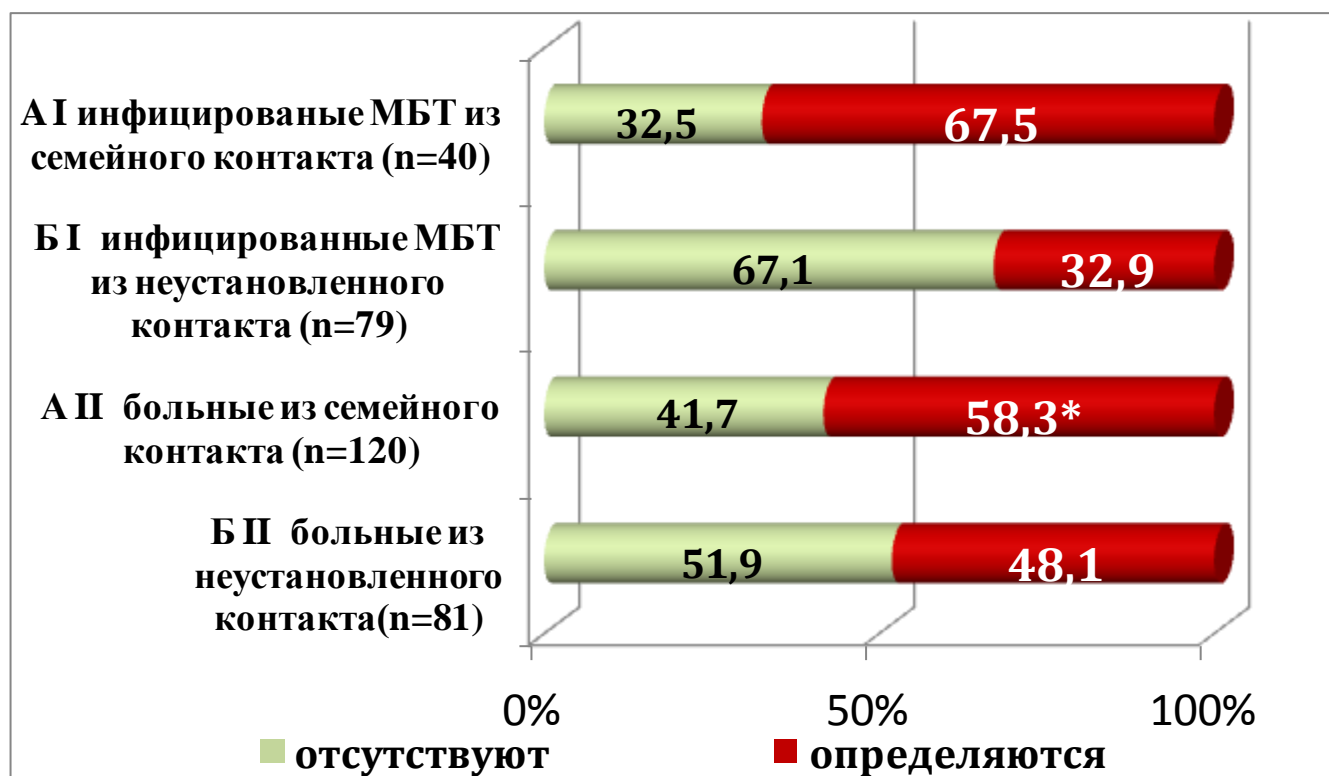


Рис.3.1.1. Проведение профилактических мероприятий в группе А и Б (n=320)

Как видно на рис. 3.1.1., у детей из семейного контакта химиопрофилактика (ХП) как в АІ, так и АІІ подгруппе проводилась с одинаковой частотой (35,0% (14) против 36,7% (44)), однако дети заболели туберкулезом независимо от ее проведения. При этом, в группе Б ХП назначалась практически у всех детей (82,3 (БІ) и 88,9% (БІІ)). Данный факт может косвенно свидетельствовать об отсутствии настороженности фтизиатров по развитию заболевания при наличии контакта, тогда как нарастание чувствительности к туберкулину является обоснованием для назначения профилактических мероприятий.

Наличие сопутствующей патологии по данным анамнеза в группах сравнения отражено на рисунке 3.1.2.



\* -  $p < 0,01$  достоверные различия при сравнении БІ и АІІ подгруппами

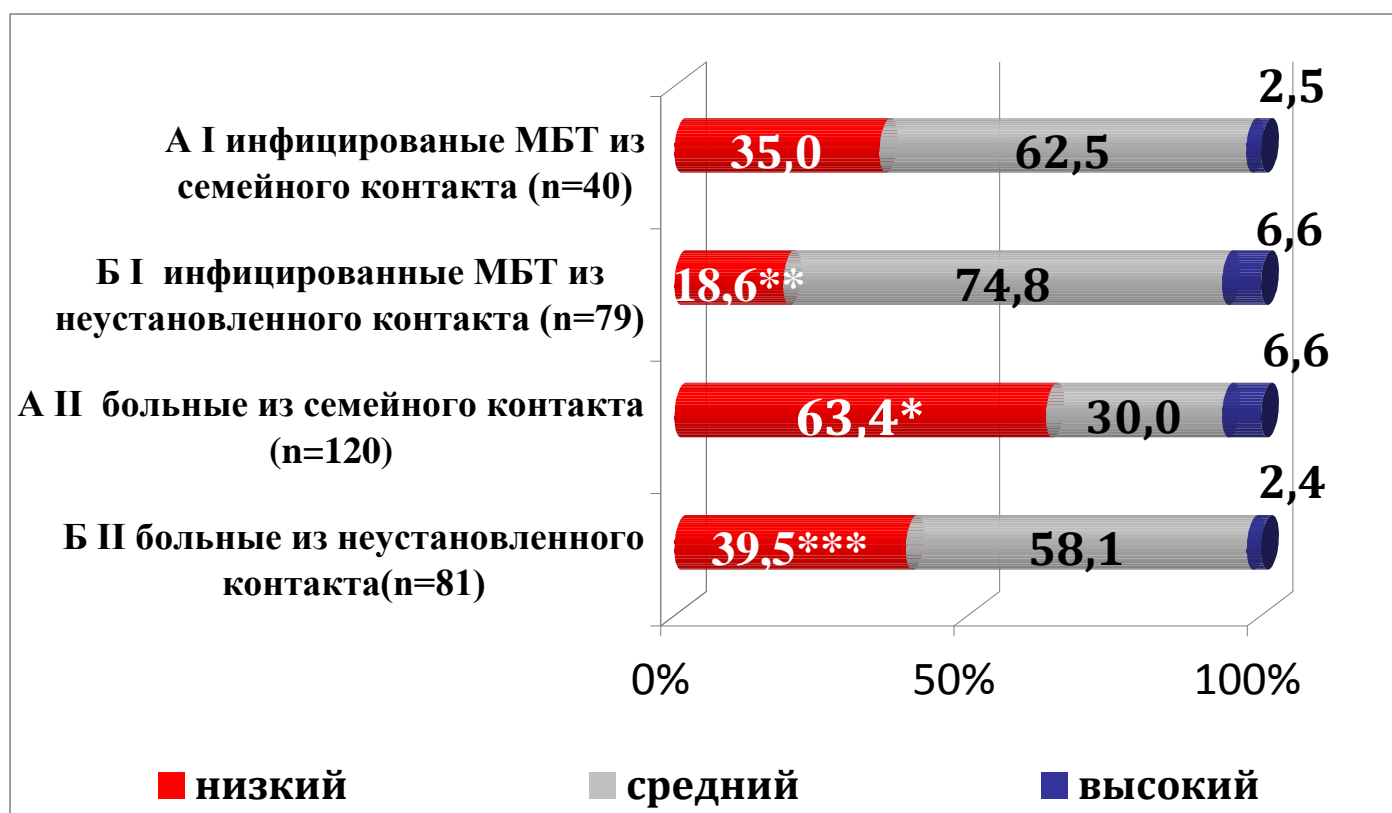
Рис.3.1.2. Сопутствующая патология в подгруппах

По результатам анализа сопутствующей патологии в подгруппах АІ (здоровых) и АІІ (больных) детей из семейного очага инфекции значимых



различий (67,5% и 58,3% соответственно) не выявлено. В группе Б число детей с сопутствующей патологией было меньше, однако превалирования сопутствующей патологии в Б II (48,1%) в сравнении с Б I (32,1%), также не найдено. Отмечается достоверно высокий уровень сопутствующей патологии у больных пациентов из семейного контакта (А II) в сравнении со здоровыми детьми из неустановленного контакта (Б I) (58,3% (А II) против 32,9% (Б I),  $\chi^2=12,33$   $p<0,001$ ). Таким образом, наличие сопутствующей патологии может являться фактором риска для развития туберкулеза при наличии контакта и не оказывает значимого влияния на развитие заболевания туберкулезом при его отсутствии.

Данные по оценке социального статуса обследованных семей представлены на рисунке 3.1.3.



\* -  $p<0,01$  достоверные различия при сравнении А I и А II подгрупп

\*\* -  $p<0,001$  достоверные различия при сравнении А II и Б I подгрупп

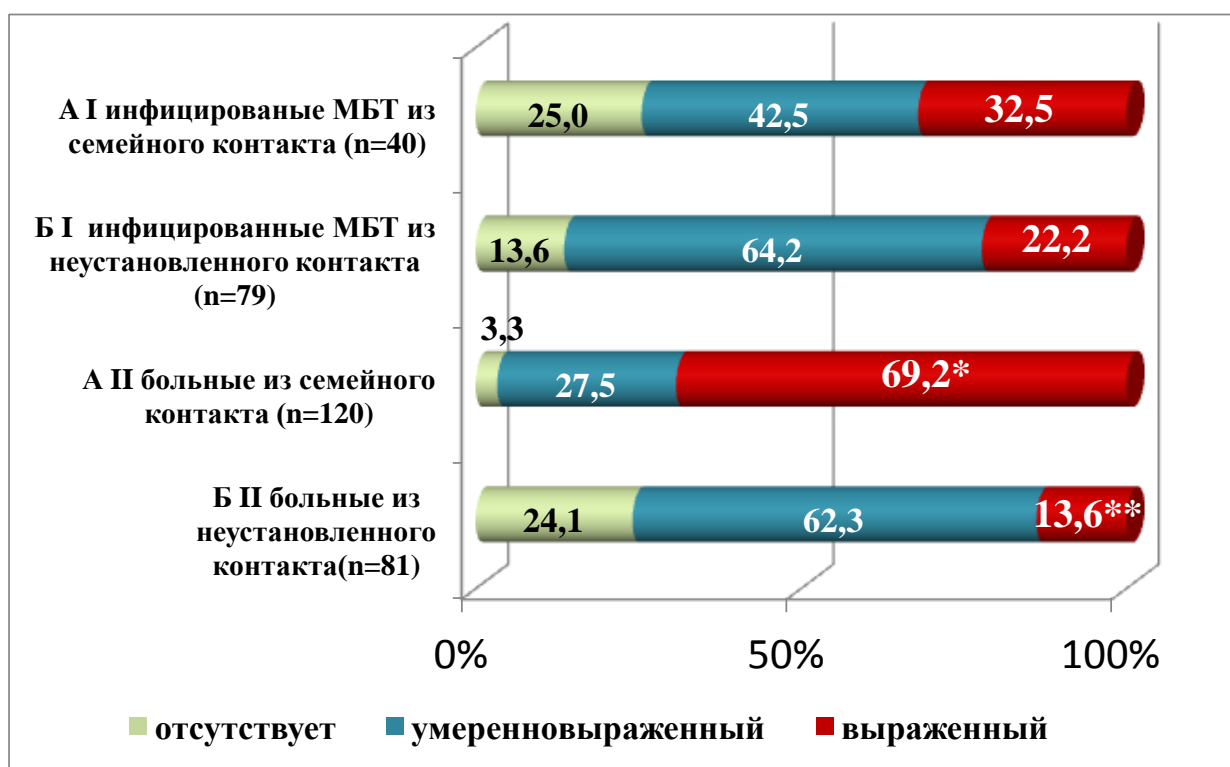
изменений корней легких и средостения является показанием к проведению КТ-ангиографии, для дифференцирования сосудистого компонента, истинного увеличения лимфатических узлов и других патологических изменений средостения.

Выявленные изменения при проведении лучевого комплекса обследования требуют сопоставления с проведенными иммунологическими клиническими методами определением активности туберкулезной инфекции с целью формирования диагноза. Тактика при формировании диагноза представлена на рисунке 7.7.



Рис.7.7. Формирование диагноза туберкулеза у детей после прохождения лучевого комплекса обследования

Как видно на рисунке 7.7, формирование диагноза складывается из полученных в ходе комплексного обследования данных, учитывающих наличие активности туберкулезной инфекции и характера изменений при проведении МСКТ и КТ-АГ:



\* $p < 0,001$  в сравнении подгруппы А I и А II

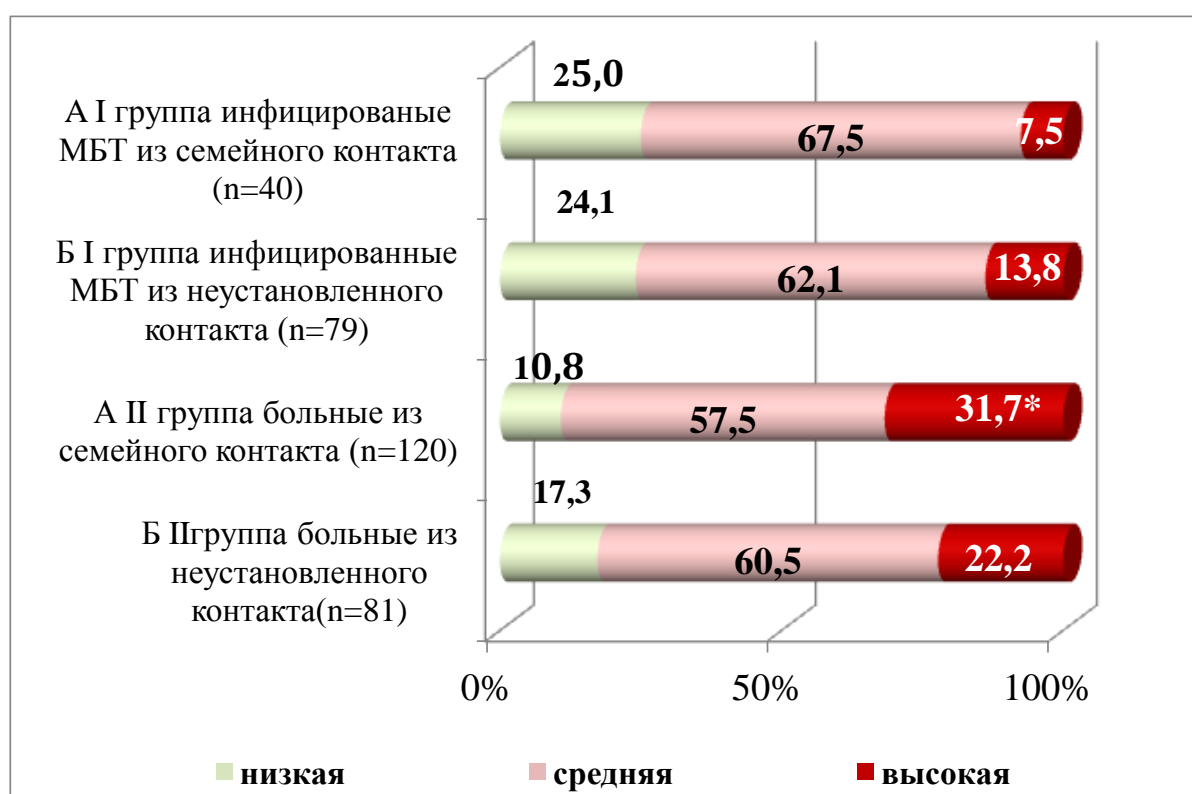
\* $p < 0,001$  в сравнении подгруппы А II и Б II

Рис.3.1.4. Интоксикационный синдром у обследованных детей.

Отмечалось достоверное преобладание выраженного интоксикационного синдрома в А II в сравнении с Б II подгруппой (69,2% против 13,6%,  $\chi^2=42,2$ ,  $p < 0,001$ ), что объясняется длительностью инфицирования МБТ и тяжестью специфического процесса у больных детей из семейного очага инфекции. Выраженный интоксикационный синдром достоверно преобладал в А II при сравнении с А I (69,2% против 32,5%,  $\chi^2=16,8$ ,  $p < 0,001$ ), чего не отмечается при сопоставлении аналогичных показателей между Б I и Б II подгруппами. Выявлена прямая корреляционная зависимость интоксикационного синдрома между длительностью инфицирования МБТ ( $r=0,63$ ) и тяжестью специфического процесса ( $r=0,74$ ), что было характерно для пациентов А II подгруппы.

По соматическому статусу большинство детей имели гармоничное развитие по мезосоматическому типу (83,1%;133). В АІ в 15,8% случаев отмечалось у пациентов дисгармоничное развитие с отставанием массы тела. В результате математического расчета полученных показателей найдена прямая корреляционная зависимость между отставанием весо-ростовых показателей длительностью инфицирования МБТ ( $r=0,63$ ), тяжестью специфического процесса ( $r=0,74$ ) и выраженностью интоксикационного синдрома ( $r=0,85$ ), что соответствует хроническому течению специфического процесса, которое диагностировано в АІ подгруппе в 20% случаев.

Проведен анализ чувствительности к туберкулину по п. Манту 2ТЕ в группах обследованных детей. Данные представлены на рисунке 3.1.5.



\* $p < 0,001$  в сравнении подгруппы АІ и АІІ

Рис.3.1.5. Чувствительность к туберкулину по п. Манту 2ТЕ у обследованных детей

Как видно на рисунке 3.1.5, нормергическая чувствительность к туберкулину определялась в 70% случаев как здоровых, так и у больных туберкулезом детей во всех группах обследованных. Низкий уровень специфической сенсбилизации отмечался у каждого четвертого ребенка в как в АІ , так и в БІ подгруппе (25,0% против 24,1%). В АІІ и БІІ подгруппах больных туберкулезом детей – низкая чувствительность определялась в два раза реже (10,8% ( $m=6,2\pm 0,3$ мм) и 17,3% ( $m=8,4\pm 0,3$ мм)). Средняя чувствительность к туберкулину определялась более чем в половине случаев во всех группах ( $m=13,8\pm 0,2$ мм). Различия выявлены только при анализе высокого уровня специфической сенсбилизации во АІІ подгруппе ( $m=17,3\pm 0,3$ мм) по сравнению со здоровыми детьми в АІ (31,7% против 7,5%,  $\chi^2=9,19$ ,  $p<0,01$ ). При сравнении уровня специфической сенсбилизации по п. Манту 2ТЕ у пациентов в группах А и Б существенных различий не получено. Отмечается общие тенденция к преобладанию среднего уровня чувствительности к туберкулину и в 20-30% случаев наличия высокой чувствительности к туберкулину.

Проведен расчет показателей диагностической ценности пробы п. Манту 2 ТЕ: ДЧ= 75%, ДС= 10,8%, ДЭ= 49,2%, ПЦПР= 31,6%, ПЦОР= 45,1%. Полученные показатели имеют низкую информативность, что обосновывает необходимость внедрения новых методов определения активности туберкулезной инфекции.

**Таким образом,** выявлена низкая эффективность вакцинации БЦЖ и курсов профилактики у детей из семейного контакта. Определен достоверно высокий уровень риска развития заболевания при наличии сопутствующей патологии и низкого уровня жизни у детей из семейного контакта. Прослеживается прямая корреляционная зависимость между дисгармоничным развитием, длительностью инфицирования МБТ, интоксикационным синдромом, что отражает хроническое течение специфического процесса, который определяется у каждого четвертого ребенка из семейного контакта.

Расчет показателей диагностической значимости пробы Манту 2ТЕ в диагностике заболевания туберкулезом показывают низкую специфичность теста при высокой его чувствительности. Проба Манту 2 ТЕ не позволяет выявлять активность туберкулезной инфекции как у детей из семейного, так и неустановленного контакта. Сказанное диктует необходимость поиска новых методов для определения активности туберкулезной инфекции и разработки новых подходов в диагностике и профилактике.

### **3.2. Характеристика семейного контакта с больным туберкулезом родственником**

В современных условиях невозможно изучение очага семейной инфекции без анализа контакта (А группа n=160). При анализе контакта учитывалось наличие бактериовыделения, чувствительность выделенной МБТ и длительность пребывания ребенка в очаге инфекции. Дети находились в 63,1% случаев в контакте с бактериовыделителями. Большинство родственников (65,6%) имели осложненное и распространенное течение специфического процесса.

Родственники были разделены по уровню родства: близкородственный контакт с родственниками первой линии, к которым относят мать, отец, братья и сестры, а так второй линии - бабушки и дедушки, дяди и тети.

Представлены данные по сравнению контакта у инфицированных МБТ (АI) и больных туберкулезом детей (АII) в очаге туберкулезной инфекции, которые представлены в таблице 3.2.1.

Таблица 3.2.1.

## Характеристика контакта в группе детей из семейного очага инфекции

Группы наблюдения	Семейный контакт с больным туберкулезом (n=160) (n, %)													
	Отец и мать	МБТ(+)	Сестры и братья	МБТ(+)	Близко-родственный	МБТ (+)	Бабушки и дедушки	МБТ(+)	Дядя и тетя	МБТ(+)	Дальне-родственный	МБТ (+)	Множеств. контакт	Очаг смерти
AI	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
(n=40)	76,9	23,1	23,1	15,4	65,0	38,5	50,0	25,0	50,0	37,5	20,0	62,5	15,0	20,0
	(20)	(6)	(6)	(4)	(26)	(10)	(4)	(2)	(4)	(3)	(8)	(5)	(6)	(8)
АII	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
(n=120)	75,7	48,6*	24,3	4,1	61,7	52,7	66,7	37,1	33,4	7,4	22,5	44,4	15,8	17,5
	(56)	(36)	(18)	(3)	(74)	(39)	(18)	(10)	(9)	(2)	(27)	(12)	(19))	(21)

\*p&lt;0,01- достоверные различия между подгруппами (AI и AII)

Достоверные различия между подгруппами АІ и АІІ получены только по числу бактериовыделителей среди близких родственников, где в А ІІ подгруппе их число преобладало в два раза (64,3% против 30,0%,  $\chi^2=5,16$ ,  $p<0,05$ ). При этом в 61,1% (22) случаев у бактериовыделителей установлена множественная лекарственная устойчивость, что предполагает высокий риск лекарственно-устойчивого (ЛУ) туберкулеза и у детей, находящихся в контакте. Таким образом, наличие близкородственного бациллярного контакта свидетельствует о высокой степени риска развития заболевания у ребенка, в чем необходима характеристика данного контакта, которая представлена в таблице 3.2.2.

Таблица 3.2.2.

#### Характеристика близкородственного контакта

Группы сравнения	Отец (%, n)	МБТ(+) (%, n)	МЛУ (%, n)	Мать (%, n)	МБТ(+) (%, n)	МЛУ (%, n)	Всего (%, n)
АІ (n=40)	55,0(11)	54,5(6)	50,0(3)	45,0(9)	-	-	50,0(20)
АІІ (n=120)	37,5(21)	57,1(12)	58,3(7)	<b>62,5(35)*</b>	<b>68,5(24)**</b>	<b>58,3(14)</b>	46,6(56)

\* $p < 0,01$ -показатель достоверности в сравнении группы АІ и АІІ

Как видно из таблицы 3.2.2., среди родителей, у матерей бактериовыделение имело место достоверно часто (68,5%), при этом у половины из них определялась МБТ с МЛУ. Такой контакт близкородственный контакт является особо опасным.

Структура клинических форм у детей из близкородственного контакта представлена в таблице 3.2.3.



**Структура клинических форм туберкулеза у детей из  
близкородственного контакта**

контакт	ТВГЛУ (%, n)	ПТК (%, n)	Инфильтративный туберкулез легких (%, n)	Генерализованный туберкулез (%, n)
Отец (n=21)	76,2(16)	-	-	23,8(5)
Мать (n=35)	68,6(24)	5,7(2)	<b>5,7(2)</b>	20,0(7)

В структуре клинических форм туберкулеза у детей из семейного контакта с больными туберкулезом матерями появляются более тяжелые формы заболевания (5,7%), иногда вторичные. У каждого третьего преобладали распространенные и осложненные формы (37,2%; 13) специфического процесса, в 17,1%(6) с бактериовыделением и в 20,0% случаев с хроническим течением. У 4 детей матери вели асоциальный образ жизни, 3 из них умерло от туберкулеза.

Проведен сравнительный анализ структуры клинических форм у детей А и Б групп по результатам комплексного обследования с включением МСКТ и МСКТ- ангиографии, который отражен в таблице 3.2.4.

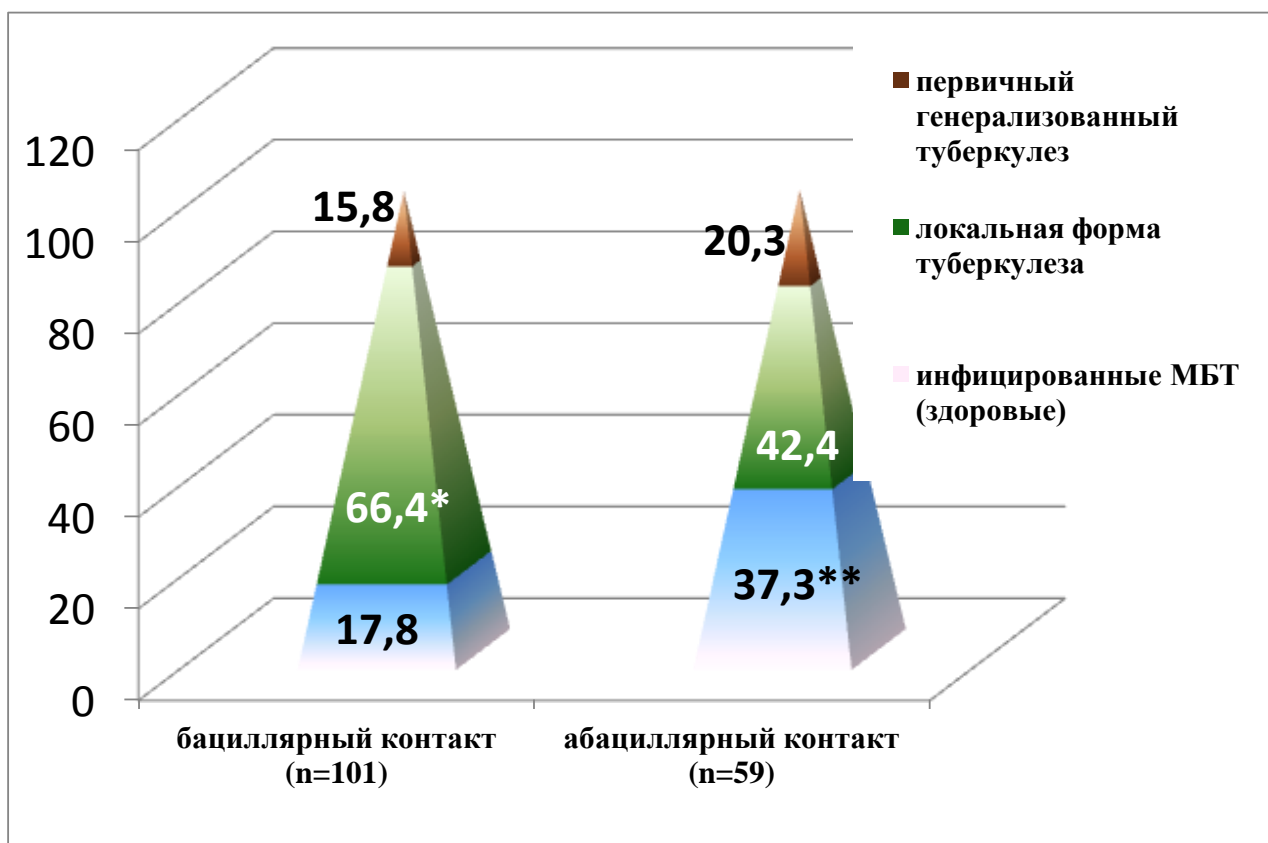
### Сравнение структуры клинических форм туберкулеза в группах

Группы сравнения	Инфицированные МБТ (%, n)	ТОД (%, n)	Течение специфического процесса (%, n)		Генерализованный туберкулез (%, n)	Всего больных (%, n)
			Неослон. течение	Осложн. течение		
			<b>1</b>	<b>2</b>		
Семейный контакт (А) (n=160)	25,0(40)	<b>57,5(92)*</b>	47,8(44)	52,2(48)	17,5 (28)	<b>75,0(120)*</b>
Неустанновленный контакт (Б) (n=160)	49,4(79)	37,5(60)	51,7(31)	48,4(29)	13,1(21)	50,6(81)

\* $p < 0,01$ -показатель достоверности в сравнении группы А и Б

По представленным в таблице 3.2.4. данным число заболевших детей в А (160) группе достоверно выше, чем в группе сравнения (75,0% против 50,6%,  $\chi^2=20,3$ ,  $p < 0,001$ ). В структуре клинических форм туберкулеза у пациентов из семейного контакта (А) туберкулез органов дыхания (ТОД) преобладал ( $p < 0,001$ ), отмечается некоторая тенденция к увеличению числа больных с генерализованным туберкулезом.

Проведен сравнительный анализ развития специфического процесса у пациентов в зависимости от бациллярности контакта (рис.3.2.1).



\* $p < 0,01$ -показатель достоверности у больных туберкулезом при бациллярном и абациллярном контакте

\*\*  $p < 0,001$ -показатель достоверности у инфицированных МБТ детей при бациллярном и абациллярном контакте

Рис. 3.2.1. Особенности течения специфического процесса в зависимости от бациллярности контакта

В А группе детей из семейного контакта при наличии бациллярного и абациллярного контакта число заболевших пациентов достоверно выше ( $p < 0,01$ ), при этом число здоровых инфицированных МБТ детей (Б) из абациллярного контакта преобладает, что свидетельствует о высокой степени риска заболевания туберкулезом ребенка при отсутствии изоляции его из бациллярного семейного контакта. Наличие бациллярного контакта является фактором высокого риска развития туберкулезной инфекции у ребенка из семейного очага.

\*\*\*\*\*

**Таким образом,** у детей из семейного контакта с больным туберкулезом достоверно высок риск развития заболевания (75,0%,  $p < 0,001$ ). Особую группу риска составляют пациенты из близкородственного бациллярного семейного контакта, в особенности с матерями.

Структура клинических форм у данной категории пациентов достоверно более тяжелая, в 54,3% специфический процесс выявлен на фазах обратного развития и кальцинации, в 20% случаев отмечается хроническое течение, появление вторичных форм заболевания с бактериовыделением и высоким риском МЛУ МБТ, что свидетельствует о поздней диагностике туберкулеза.

Дети из семейного контакта инфицируются МБТ значительно раньше в 3-4 года ( $p < 0,01$ ), что приводит к отставанию в развитии, выраженности интоксикационного синдрома и развитие сопутствующей патологии, что является благоприятной платформой для туберкулезного процесса.

Профилактические мероприятия, такие как вакцинация БЦЖ и химиопрофилактика, в условиях бациллярного контакта существенного влияния на развитие специфического процесса не оказывают. Значительным фактором риска, кроме близкородственного бациллярного контакта, является проживание в семьях с низким социальным статусом.

Полученные данные свидетельствуют о необходимости изменения подхода в наблюдении, профилактике и диагностике детей в настоящих эпидемических условиях, в особенности из семейного очага инфекции с целью раннего выявления и своевременного назначения специфической терапии.

## **ГЛАВА 4. ДИАГНОСТИКА ТУБЕРКУЛЕЗА У ДЕТЕЙ С ПРИМЕНЕНИЕМ СОВРЕМЕННЫХ ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ И ЛУЧЕВЫХ МЕТОДОВ**

Высокий уровень заболеваемости детей из семейного очага инфекции с выявлением у каждого ребенка специфического процесса на фазе уплотнения и кальцинации, у каждого четвертого - хронического течения специфического процесса, что свидетельствует о поздней диагностике и низкой информативности применяемых стандартных методов. Полученные данные послужили основанием для применения новых иммунологических (Диаскин-тест, Квантифероновый тест) и лучевых методов (МСКТ и КТ-ангиографии) в диагностике туберкулеза у детей, что позволило сформировать новый диагностический алгоритм.

### **4.1. Сопоставление результатов клинического, иммунологического и рентгенологического обследования у детей с различными проявлениями туберкулезной инфекции**

Проведен анализ уровня специфической сенсибилизации по п. Манту 2ТЕ у 180 (А и Б) детей. Результаты представлены в таблице 4.1.1.

Таблица 4.1.1.

#### **Уровень специфической сенсибилизации по п.Манту 2ТЕ в группе обследованных детей из семейного и неустановленного контакта**

Проведенные исследования	Результаты п.Манту 2ТЕ (% , n, M±m, мм)			
	отриц.	низкий	средний	высокий
Пациенты (А+Б)n=180	-	20,5(37) m=6,1±0,1	60,6(109) m=12,3±0,2	18,9(34) m=16,3±0,3

Нормергический (низкий и средний) характер чувствительности к туберкулину определялся у подавляющего большинства пациентов в 81,1% случаев. Высокий уровень специфической сенсибилизации выявлен у каждого пятого (18,9%) ребенка.

Как более чувствительный иммунологический метод в сравнении с п.Манту 2ТЕ нами применяется градуированная проба Манту в V и VI разведениях (табл. 4.1.2.).

Таблица 4.1.2.

**Уровень специфической сенсибилизации по градуированной пробе Манту в V и VI разведении**

Проведенные исследования	Уровень специфической сенсибилизации по градуированной пробе Манту в разведениях (% , n) (M±m (мм))					
	в V разведении			в VI разведении		
	отриц.	положит.	высокая	отриц.	положит.	высокая
Пациенты (А+Б) (n=180)	17,2(31)	30,0(54) m=3,1±0,2	52,8(95) m=10,0±0,6	23,3(42)	34,5(62) m=12,3±0,2	42,2(76) m=16,3±0,3

Существенных различий по уровню специфической сенсибилизации у детей при проведении углубленной туберкулинодиагностики по пробе Манту в V и VI разведениях не отмечалось. Имеют место отрицательные результаты у каждого четвертого ребенка и в подавляющем большинстве случаев положительные пробы (в V - 82,8% и в VI - 76,7%).

Данные полученные по результатам Диаскинтеста представлены в таблице 4.1.3.

Табл.4.1.3.

### Результаты Диаскинтеста

Проведенные исследования	результаты Диаскин-теста (% , n, M±m, мм)		
	отриц.	сомнит.	положит.
Пациенты (А+Б) n=180	42,8(77)	7,2(13) m=2,2±0,2	50,0(90) m=15,7±0,6

При анализе полученных данных отмечено незначительное преобладание положительных результатов (57,2%) в сравнении с числом отрицательных тестов (42,8%), которые не совпадают с данными по п.Манту2ТЕ и углубленной туберкулинодиагностики, что требует объяснения и проведения углубленного обследования.

В качестве референтного иммунологического метода нами применялся Квантифероновый тест у 120 детей; полученные результаты представлены в таблице 4.1.4.

Табл.4.1.4.

### Результаты Квантиферонового теста

Проведенные исследования	Результаты Квантифероновый тест (% , n)		
	отрицательный.	сомнительный	положительный.
Пациенты (А+Б) n=120	57,5 (69)	0,8(1)	41,7(50)

Проявления симптомов интоксикации, у обследованных детей, различно. В 17,5%(21) случаев интоксикационный синдром отсутствовал, в 39,2%(47)

случаев были зафиксированы умеренные его проявления, в 43,3%(52)-выраженные.

Как видно из таблицы 4.1.5, проведено сопоставление выраженности интоксикационного синдрома с результатами проведенных биопроб (п.Манту 2 ТЕ, ДИАСКИНТЕСТ®) и КФ-теста.

Таблица 4.1.5.

**Результаты иммунологических тестов при различной выраженности интоксикационного синдрома**

Методы  интоксик. синдром	п.Манту 2ТЕ (%, n)			ДСТ (% , n)			КФ (% , n)		
	низкая	средняя	высокая	отриц.	сомнит.	полож.	отриц.	сомнит.	положит.
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Отсутствует (n=21)	19,1 (4)	61,8 (13)	19,1 (4)	<b>66,7*</b> <b>(14)</b>	4,8 (1)	28,6 (6)	<b>80,9*</b> <b>(17)</b>	0	19,1 (4)
Умеренный (n=47)	19,1 (9)	68,1 (32)	12,8 (6)	61,7 (29)	6,4 (3)	31,9 (15)	68,1 (32)	0	31,9 (15)
Выраженный (n=52)	15,4 (8)	57,7 (30)	26,9 (14)	28,9 (15)	3,8 (2)	<b>67,3**</b> <b>(35)</b>	38,5 (20)	1,9 (1)	<b>59,6**</b> <b>(31)</b>
Всего	17,5 (21)	62,5 (75)	20,0 (24)	48,3 (58)	5,0 (6)	46,7 (56)	57,5 (69)	0,8 (1)	41,7 (50)

\*  $p < 0,01$  достоверные различия показателей между группой 1-4 и 1-7

\*\*  $p < 0,01$  достоверные различия показателей между группой с 3-6 и 3-9



Выявлена прямая зависимость между выраженностью интоксикационного синдрома и результатами иммунологических тестов (Диаскинтеста, Квантиферонового теста). При отрицательных тестах достоверно часто отмечается отсутствие клинической симптоматики, тогда как положительные тесты сопровождались выраженным интоксикационным синдромом. Аналогичной зависимости у детей по п.Манту 2ТЕ не отмечалось.

Проведен анализ выраженности интоксикационного синдрома, результатов иммунологических тестов (Диаскинтест, КФ) и данных лучевой диагностики у обследованных детей с различной чувствительностью по пробе Манту 2 ТЕ, что отражено в таблице 4.1.6.

У детей с низкой чувствительностью к туберкулину в подавляющем большинстве случаев (ДСТ-66,7% и КФ-71,4%) отмечались отрицательные тесты, в 20% случаев имели место положительные результаты. По данным лучевой диагностики отложения извести не выявлялось, однако реакция ВГЛУ более 0,5см зафиксирована в 14,4 % случаев.

Наиболее существенные показатели по лучевой диагностике на фоне положительных тестов (ДСТ-42,7% и КФ-34,7%) определяются уже при средней чувствительности к туберкулину по п.Манту 2ТЕ, с выявлением ЛУ уже на фазах обратного развития специфического воспаления в 40,7%. В 52,0% случаев ЛУ визуализировались более 0,5см при поперечном размере, которые можно характеризовать как «малые» проявления внутригрудной аденопатии или на фоне выраженной активности туберкулезной инфекции.

На фоне выраженной чувствительности к туберкулину по пробе Манту 2ТЕ при проведении лучевой диагностики визуализируются ВГЛУ более 0,5см в 75% случаев, сопровождающиеся положительными результатами по ДСТ (79,2%) и КФ (75,0%).

Таблица 4.1.6.

**Сопоставление результатов иммунологических тестов и выявленных лимфатических узлов при лучевой диагностике у детей**

Методы	ДСТ (% , n)			КФ (% , n)			Изменения во ВГЛУ при МСКТ				
	Отр.	Сомнит.	Полож.	Отр.	Сомнит.	Положит.	Реакция ВГЛУ(% , n) (см)			Отложение извести	
							нет	≥0,2- 0,5	>0,5		
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
п.Манту 2ТЕ											
Низкая (n=21)	<b>66,7*</b> <b>(14)</b>	9,5 (2)	23,8 (5)	<b>71,4*</b> <b>(15)</b>	0	28,6 (6)	<b>71,4*</b> <b>(15)</b>	14,3 (3)	14,3 (3)	0	
							21				
Средняя (n=75)	<b>52,0**</b> <b>(39)</b>	5,3 (4)	<b>42,7**</b> <b>(32)</b>	<b>64,0**</b> <b>(48)</b>	1,3 (1)	<b>34,7**</b> <b>(26)</b>	28,0 (21)	20,0 (15)	<b>52,0**</b> <b>(39)</b>	40,7 (22)	
							75				
Высокая (n=24)	20,8 (5)	0	<b>79,2***</b> <b>(19)</b>	25,0 (6)	0	<b>75,0**</b> <b>(18)</b> *	16,7 (4)	8,3 (2)	<b>75,0***</b> <b>(18)</b>	<b>85,0**</b> <b>(17)</b>	
							24				
Всего	48,3 (58)	5,0 (6)	46,7 (56)	57,5 (69)	0,8 (1)	41,7 (50)	33,3 (40)	16,7 (20)	50,0 (60)	32,5 (39)	
	120			120			120				

\*  $p < 0,01$  достоверные различия показателей между группой с низкой и средней чувствительностью к туберкулину

\*\*  $p < 0,01$  достоверные различия показателей между группой со средней и высокой чувствительностью к туберкулину

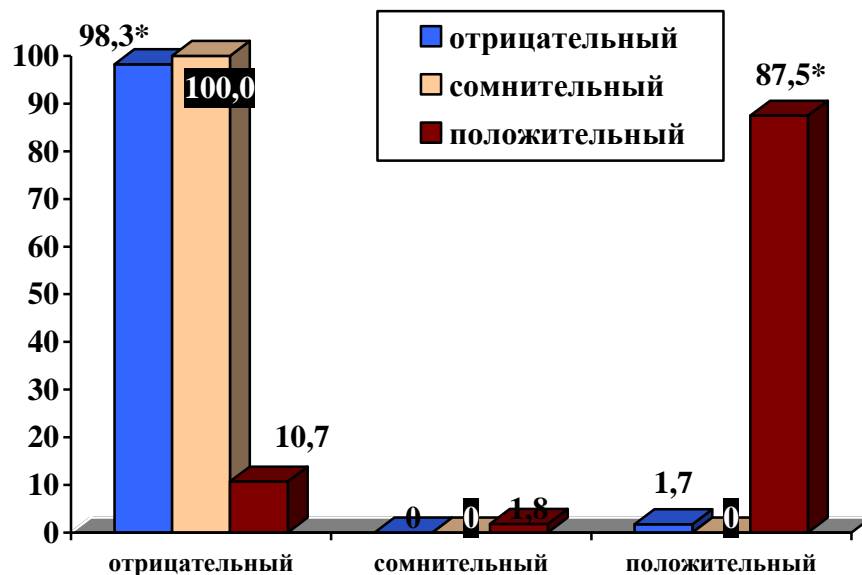
\*\*\*достоверные различия показателей между группой с низкой и высокой чувствительностью к туберкулину

У каждого пятого пациента с высокой чувствительностью к туберкулину по п.Манту 2ТЕ результаты ДСТ (20,8%) и КФ (25,0%) были отрицательными, что свидетельствует о ложноположительной реакции и подтверждается данным лучевой диагностики (МСКТ и КТ-ангиографии), так как в 16,7% случаев увеличение ВГЛУ отсутствовала.

Результаты КФ-теста подтверждали данные об активности туберкулезной инфекции по ДСТ у детей низкой чувствительностью к туберкулину в 28,6% случаев, что незначительно выше показаний ДСТ. Практически в 34,7% случаев определяется активность туберкулезной инфекции по ДСТ и КФ –тесту при средней чувствительности по п.Манту 2ТЕ.

Полученные данные выявили отсутствие зависимости между уровнем специфической сенсибилизации и наличием специфических изменений во ВГЛУ по результатам лучевой диагностики, так как у каждого пятого ребенка при низкой (14,3%) и каждого второго при средней чувствительности (52,0%) по п.Манту 2ТЕ определялась реакция ВГЛУ более 0,5см, а в 40,5% и 85,0% соответственно имело место отложение извести, что свидетельствует о поздней диагностике специфического воспаления.

Проведено сопоставление результатов Диаскинтеста и КФ теста у обследованных детей; данные представлены на рисунке 4.1.1.



\* $p < 0,01$  достоверные различия показателей между группой с отрицательным и положительным Диаскинтестом

Рис.4.1.1. Результаты КФ у детей с различными показателями Диаскинтеста

Совпадение данных Диаскинтеста и Квантиферонового теста имело место в 95% случаев. Отрицательные результаты КФ сопровождались практически у всех пациентов отрицательным ДСТ (98,3%,  $p < 0,001$ ,  $\chi^2 = 88,5$ ), также как положительный КФ положительным ДСТ (87,5%). Таким образом, КФ подтверждает результаты ДСТ, что дает основание считать их диагностическую ценность одинаковой.

Проведено изучение реактивности ВГЛУ по данным лучевой диагностики (МСКТ и КТ-ангиографии) в зависимости от результатов Диаскин-теста, данные представлены в таблице 4.1.7.

**Изменения во ВГЛУ и легочной ткани при лучевой диагностике у детей с различными показателями ДСТ**

Методы	Изменения во ВГЛУ и легочной ткани при лучевой диагностике					
	Реакция ВГЛУ(% , n, см)				Очаги в легочной ткани	
	Нет изменений	0,2-0,5см	более 0,5см	реакция ЛУ с отложением извести		
Диаскинтест	Отрицат. (n=58)	<b>43,1*(25)</b>	31,1(18)	25,9(15)	15,2(5)	25,9(15)
		58				
Сомнит. (n=6)		83,3(5)	2,7(1)	0	0	33,3(2)
		6				
Положит. (n=56)		17,8(10)	1,8(1)	80,4 *(45)	<b>73,9*</b>	28,6 (16)
		56			<b>(34)</b>	
Всего		33,3(40)	16,7(20)	50,0(60)	32,5(39)	27,5(33)

\*-  $p < 0,01$  достоверность между группой с отрицательным и положительным ДСТ

Как видно из таблицы 4.1.7., реакция ВГЛУ у пациентов с отрицательным ДСТ достоверно часто отсутствовала (43,1%), в 31,1% случаев визуализировались ЛУ размером до 0,5см, что может рассматриваться как норма.

При положительном ДСТ реакция ВГЛУ у большинства пациентов была более 0,5см, что достоверно часто при сравнении с отрицательным ДСТ (80,4% против 25,9%, где  $\chi^2=33,93$ ,  $p < 0,001$ ). Выявленная зависимость подтверждает специфический характер воспаления во ВГЛУ и позволяет считать данные изменения характерными для «малых» проявлений внутригрудной аденопатии. В 73,9% случаев ( $p < 0,001$ ) положительный ДСТ сопровождался выявлением ВГЛУ на фазе уплотнения и кальцинации.

Полученные данные позволяют определить подход в диагностике туберкулеза у детей.

В I (А+Б) подгруппе инфицированных МБТ (76 человек) и II (А+Б) подгруппе больных туберкулезом (104 ребенка) проведено сравнение результатов иммунологических методов и расчет их показателей диагностической значимости.

Сравнительный анализ чувствительности к туберкулину по п.Манту 2ТЕ и ДСТ в группах обследованных пациентов; данные представлены в таблице 4.1.8.

Таблица 4.1.8.

**Сопоставление результатов п.Манту 2ТЕ и Диаскинтеста у детей с различными проявлениями туберкулезной инфекции**

Подгруппы набл.	п.Манту 2ТЕ (% , n)			Диаскинтест (% , n)		
	Низкая (n=37)	Средняя (n=109)	Высокая (n=34)	Отриц. (n=77)	Сомнит (n=13)	Положит. (n=90)
Инфицированны е МБТ (I А+Б n=76)	19,7 (15)	67,1 (51)	13,2 (10)	<b>75,0*</b> <b>(57)</b>	10,5 (8)	14,5 (11)
Больные туберкулезом (II А+Б n=104)	21,2 (22)	55,7 (58)	23,1 (24)	19,2 (20)	4,9 (5)	<b>75,9**</b> <b>(79)</b>

\*- ( $p < 0,01$ ) достоверная разница между низкой чувствительностью к туберкулину и отрицательным ДСТ в I (А+Б) группе;

\*\* - ( $p < 0,01$ ) достоверная разница между высокой чувствительностью к туберкулину и положительным ДСТ во II (А+Б) группе;

Низкая и средняя чувствительность к туберкулину определялась более чем в 70% случаев как в I (А+Б), так и во II (А+Б) подгруппе, тогда как ДСТ был достоверно часто отрицательным (75,0%) в группе инфицированных МБТ тест и а во II (А+Б) подгруппе положительным в 75,9% случаев.

Результаты углубленной туберкулинодиагностики по градуированной пробе Манту в V и VI разведениях в сравнении с Диаскинтестом представлено в таблице 4.1.9. и таблице 4.1.10.

Таблица 4.1.9.

**Сопоставление результатов градуированной п.Манту в V разведении и Диаскинтеста в группах обследованных детей**

Проведенные исследования	Чувствительность к туберкулину по п.Манту в V разведении (% , n) (см)			Диаскинтест (% , n) (см)		
	отриц.	положит.	высокая	отриц.	сомнит	положит.
	1	2	3	4	5	6
Инфицированные МБТ I (А+Б) подгруппа (n=76)	30,0(23)	26,3(20)	43,4(33)	<b>73,6(56)*</b>	10,5(8)	15,9(12)
Больные туберкулезом II (А+Б) подгруппа (n=104)	7,7(8)	32,7(34)	59,6(62)	20,2(21)	4,8(5)	75,0(78)

\*- ( $p < 0,01$ ) достоверная разница между отрицательной чувствительностью к туберкулину по п.Манту V и отрицательным ДСТ в I группе (1-5);

Высокий уровень специфической сенсбилизации в 43,4% (33;  $m=10,0 \pm 0,6$ ) при постановке п.Манту V и в 26,3% (20;  $m=10,2 \pm 0,6$ ) п.Манту VI в I группе. По сравнению с п.Манту V и р.Манту VI по ДСТ число отрицательных результатов диагностировано достоверно чаще в группе здоровых детей (I), тогда как положительные пробы свидетельствовали об активности туберкулезной инфекции.

**Сопоставление результатов градуированной п.Манту в VI разведении и Диаскинтеста в группах обследованных детей**

Проведенные исследования	Чувствительность к туберкулину по п.Манту в VI разведении			Результаты Диаскинтест		
	(% , n, M±m) (см)					
	отриц.	положит.	высокая	отриц.	сомнит	положит.
I группа Инфицированные МБТ (n=76)	39,5(30)	34,2(26) m=3,1±0,1	26,3(20) m=10,2±0,6	73,6(56)	10,5(8) m=2,3±0,2	15,9(12) m=15,6±1,0
II группа Больные туберкулезом (n=104)	11,5(12)	34,6(36) m=3,0±0,2	53,9(56) m=10,1±0,4	20,2(21)	4,8(5) m=2,5±0,2	<b>75,0(78)*</b> <b>m=16,6±0,5</b>

\*- ( $p < 0,01$ ) достоверная разница между высокой чувствительностью к туберкулину по п.Манту VI и положительным ДСТ во II группе;

Во II группе у больных туберкулезом пациентов чувствительность к туберкулину по п.Манту V была высокой только в половине случаев, также как по п.Манту VI. Положительный ДСТ при этом зафиксирован достоверно часто - в 75,0% случаев.

Полученные результаты позволили рассчитать показатели диагностической значимости по туберкулинодиагностике и Диаскинтесту, которые представлены в таблице 4.1.11.



**Сравнение показателей диагностической ценности  
иммунологических методов у детей с различными проявлениями  
туберкулезной инфекции**

Метод исследования	ДЧ(%)	ДС(%)	ДЭ(%)	ПЦПР(%)	ПЦОР (%)
п.Манту 2ТЕ	89,4	19,7	54,5	53,2	-
п.Манту V	92,3	30,3	61,3	64,4	92,3
п.Манту VI	88,5	39,5	64,0	66,7	66,7
Диаскинтест	78,8	<b>89,4</b>	77,5	<b>91,1,</b>	72,4,
КФ-тест	69,6,	<b>96,0</b>	80,0	<b>96,0,</b>	69,6,

В комплексе туберкулинодиагностики показатели п.Манту в V и VI разведениях превышают таковые п.Манту 2ТЕ, однако показатели диагностической ценности Диаскинтеста выше п.Манту 2ТЕ, п.Манту V и VI в несколько раз, что отражает его высокую информативность при определении активности туберкулезной инфекции.

**Таким образом,** полученные данные свидетельствуют о достоверно высоком, ( $p < 0,05$ ) по критерию Мани-Уитни, риске развития специфического процесса у детей со сроком инфицирования более 5 лет, что подтверждено наличием тесной корреляционной связи между высокой чувствительностью к туберкулину по п.Манту 2ТЕ и длительностью срока инфицирования МБТ ( $r=0,63$ ). В группе больных туберкулезом детей достоверно часто определялась низкая и средняя чувствительность к туберкулину по п.Манту 2 ТЕ ( $p < 0,02$ ), что свидетельствует о низкой информативности данного метода при

определении активности туберкулезной и подтверждено низкими показателями диагностической значимости.

Положительный Диаскинтест в 67,3% случаев сопровождался у детей выраженными симптомами интоксикации и в 80,4% реакцией ЛУ более 0,5см по МСКТ и КТ-ангиографии, в 73,9% случаев с отложением извести.

Доказана высокая информативность ДСТ, которая подтверждена практически идентичными результатами КФ-теста и выявлена прямая тесная корреляционная зависимость ( $r=0,83$ ). Поскольку результаты КФ практически идентичны ДСТ, возможно рекомендовать данный тест лишь у детей с наличием противопоказаний к постановке ДСТ.

#### **4.2. Сравнение диагностических возможностей рентгенологических методов у детей из семейного и неустановленного контакта с различными проявлениями туберкулезной инфекции**

Проведен анализ комплексного рентгенологического обследования (обзорная рентгенограмма и линейные томограммы) у 273 детей из семейного и неустановленного контакта (А+Б группы) с различными проявлениями туберкулезной инфекции. Наиболее часто по «косвенным признакам» определялась реакция внутригрудных лимфатических узлов (ВГЛУ) бронхопульмональной группы в 59,3%(160), в два раза реже парааортальной (27,1%;73) и паратрахеальной (21,9%;59) групп. Бифуркационная группа диагностировалась в 9,2%(25) случаев, трахеобронхиальная не определялась. В 12,2%(33) визуализировались очаги в легочной ткани, в 4,8%(13) - инфильтрация, выпот в плевральную полость - в 1,1%(3) случаев.

Подозрение на туберкулез внутригрудных лимфатических узлов (ТВГЛУ) послужил поводом для проведения лучевой диагностики (МСКТ и КТ-ангиографии), при проведении которой визуализировались ЛУ от 0,2 до 2,1см, различные по структуре, плотности и численности. Отсутствие в ЛУ

изменений структуры и плотности, при размерах менее 0,5см позволили считать их патологически не измененными.

Сравнительная характеристика полученных данных по результатам рентгенологического обследования представлены на рисунке 4.2.1. По МСКТ и КТ-ангиографии ВГЛУ считались увеличенными при поперечном размере более 0,5см.

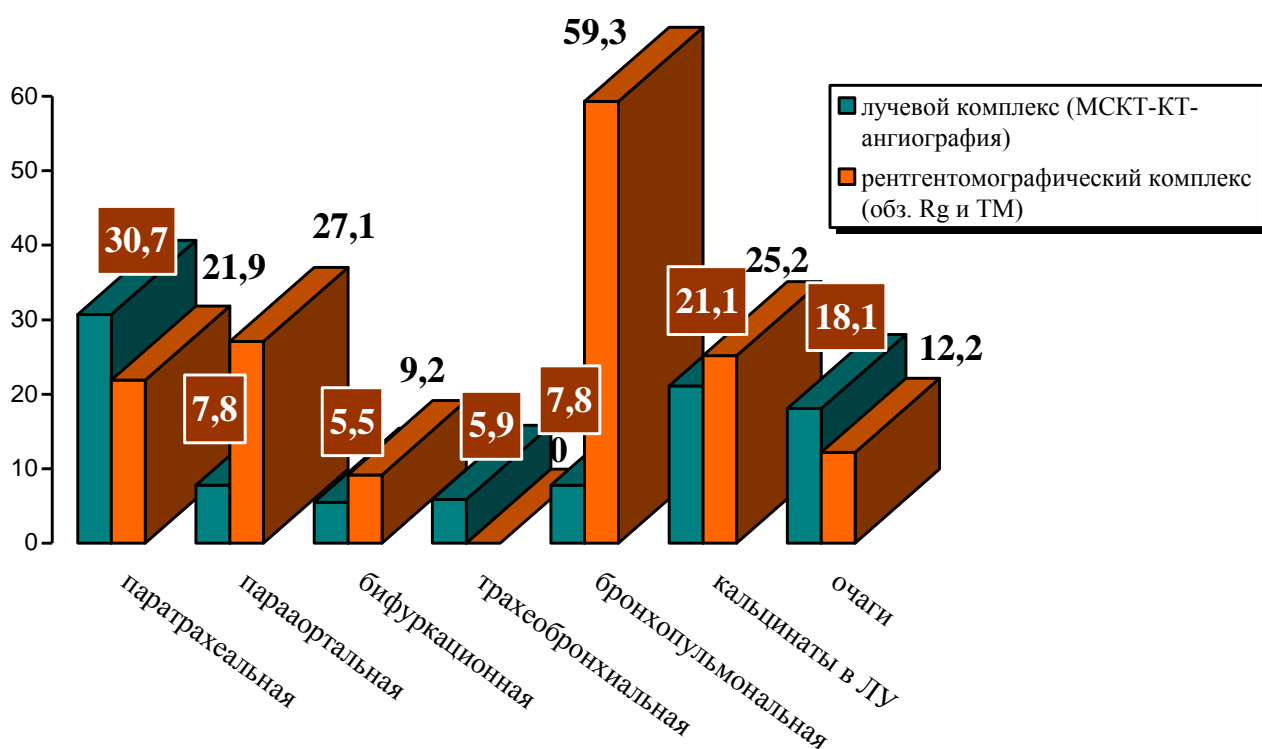


Рис. 4.2.1 Сравнение результатов стандартного комплекса обследования и современных методов лучевой диагностики (МСКТ и КТ-ангиографии)

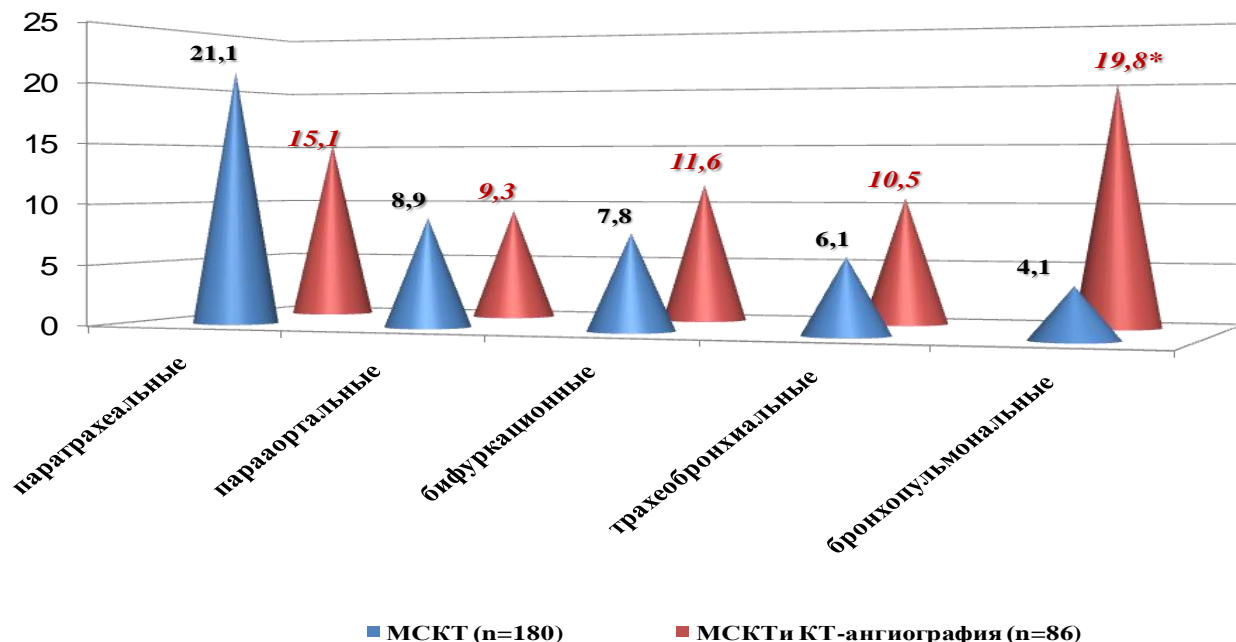
Выявлена гипердиагностика бронхопупьмональной группы ЛУ в 40% случаев по «косвенным признакам», так как ЛУ данной группы визуализировались только в 7,8% случаев более 0,5см (59,3% против 7,8%) при введении контрастного вещества.

В 3 раза чаще определялись ЛУ парааортальной группы при стандартном исследовании (27,1% против 7,8%), гиподиагностика паратрахеальной группы (21,9% против 30,7%), тогда как ЛУ

трахеобронхиальной группы не визуализируются вовсе (при лучевом исследовании в 5,9% случаев). Отложение извести во ВГЛУ диагностировано примерно в одинаковом проценте случаев (25,2% против 21,1%), однако при стандартном рентгенографическом обследовании в 66,2% выявляется парааортальный кальцинат, который по МСКТ в 90% является кальцинированной аортальной связкой.

В комплексе лучевого обследования КТ-ангиография проводилась у 86 детей с подозрением на увеличение бронхопупмональной группы ЛУ при стандартном комплексе обследования.

Результаты сравнения, полученные при МСКТ и КТ-ангиографии, с целью определения их информативности в диагностике разных групп ВГЛУ у детей, представлены на рисунке 4.2.2.



\* $p < 0,001$  достоверные различия при сравнении комплекса лучевой диагностики (МСКТ и КТ-ангиографии) и МСКТ

Рис. 4.2.2. Сравнение результатов диагностики ВГЛУ при проведении МСКТ и КТ-ангиографии у детей

Сравнение результатов МСКТ и КТ-ангиографии (КТ-АГ) выявило по МСКТ гиподиагностику бронхопульмональной (4,1% против 19,8%,  $p < 0,001$ ), гипердиагностику паратрахеальной (15,1% против 21,1%) и достоверно частую диагностику отложения извести (37,8% против 19,8%,  $p < 0,001$ ).

В 69,4% (107) диагностирована малая форма туберкулеза внутригрудных лимфатических узлов с поражением одной или двух групп. В 30,6%(47) отмечались специфические изменения в трех и более группах ЛУ.

Получены данные лучевой диагностики в группах обследованных из семейного и неустановленного контакта у инфицированных МБТ (I А+Б подгруппе  $n=116$ ) и больных туберкулезом (II А+Б подгруппа  $n=154$ ) детей.

Характеристика выявленных ВГЛУ разных групп у инфицированных МБТ (I) детей представлена в таблице 4.2.1.

Таблица 4.2.1.

#### Сравнение результатов МСКТ и КТ-ангиографии в I (А+Б) подгруппе

Группы ЛУ	Размеры ВГЛУ у детей разного возраста (см, %, n, $M \pm m$ )			
	3 до 6 лет (n=60)		7 до 14 лет (n=56)	
	< 0,5см	$\geq 0,5$ см	< 0,5см	$\geq 0,5$ см
паратрахеальная	38,3(23)	1,7(1)	42,9(24)	-
парааортальная	10,0(6)	1,7(1)	5,3(3)	-
бифуркационная	13,3(8)	-	14,3(8)	-
трахеобронхиальная	8,3(5)	-	3,6(2)	1,8(1)
Бронхопульмональная	5,0(3)	-	1,8(1)	-

Достоверно часто визуализировались ЛУ 0,3-0,4 см ( $p>0,01$ ) (измерение проводилось по поперечному размеру узла), единичные, обычной плотности, чаще всего паратрахеальной (41,3%) группы. Значительно реже определялись ЛУ в бифуркационной (13,8%), парааортальной (7,7%), трахеобронхиальной (6,9%) группах. Практически не диагностировались бронхопульмональные ЛУ (3,4%).

Сравнение ЛУ разных групп у детей с туберкулезом ВГЛУ в различных возрастных периодах представлено в таблице 4.2.2.

Таблица 4.2.2.

**Сравнение размеров ВГЛУ разных групп у детей разного возраста  
во II подгруппе**

Группы ЛУ	Размеры ВГЛУ у детей разного возраста (% , n, см)			
	3 до 6 лет (n=54)		7 до 14 лет (n=100)	
	<0,5см	≥ 0,5см	< 0,5см	≥ 0,5-2,1см
паратрахеальная	27,8(15)	31,5(17)	18,0(18)	21,0(21)
парааортальная	12,9(7)	11,1(6)	21,0(21)	16,0(16)
бифуркационная	5,6(3)	12,9(7)	17,0(17)	17,0(17)
трахеобронхиальная	9,0(6)	<b>16,7(9)*</b>	6,0(6)	6,0(6)
бронхопульмональная	26,6(16)	7,4(4)	2,0(2)	17,0(17)

\*  $p>0,05$  – в сравнении групп наблюдения детей младшего (3-6 лет) и старшего (7 до 14 лет) возраста

У пациентов разного возраста по размерам ЛУ, существенных различий не выявлено, кроме достоверно частой визуализации ЛУ трахеобронхиальной группы у пациентов младшего возраста.

Большинство детей имели размеры ЛУ не более 1,0см. Только в 2,5% случаев размеры ЛУ были более 1,0см, без изменения структуры, которые при отсутствии активности туберкулезной инфекции требуют наблюдения в динамике.

Отложение извести во внутригрудных лимфатических узлах не подтвердилось ни у одного человека, у 11 детей отмечались расположенные субплеврально очаги в легочной ткани до 0,3см, у 4 человек кальцинированные.

Во II группе (n=154) визуализировались единичные и множественные ЛУ, которые различались по размеру (от 0,3 до 2,1см) (измерение проводилось по поперечному размеру узла), структуре и плотности (от +20 до +80 НУ). Чаще всего определялись ЛУ паратрахеальной - в 24,7%, реже бифуркационной - 15,6%, параортальной - 14,3%, бронхопульмональной - 13,6% и трахеобронхиальной (9,7%) групп.

Отложение извести во ВГЛУ определялось более чем у половины обследованных (53,2%;82) (при размерах ЛУ  $m=0,4\pm 0,4$  см и плотности кальцинатов от +80 до 100 и более НУ), при этом множественные кальцинаты выявлены у каждого четвертого ребенка (26,8%; 22).

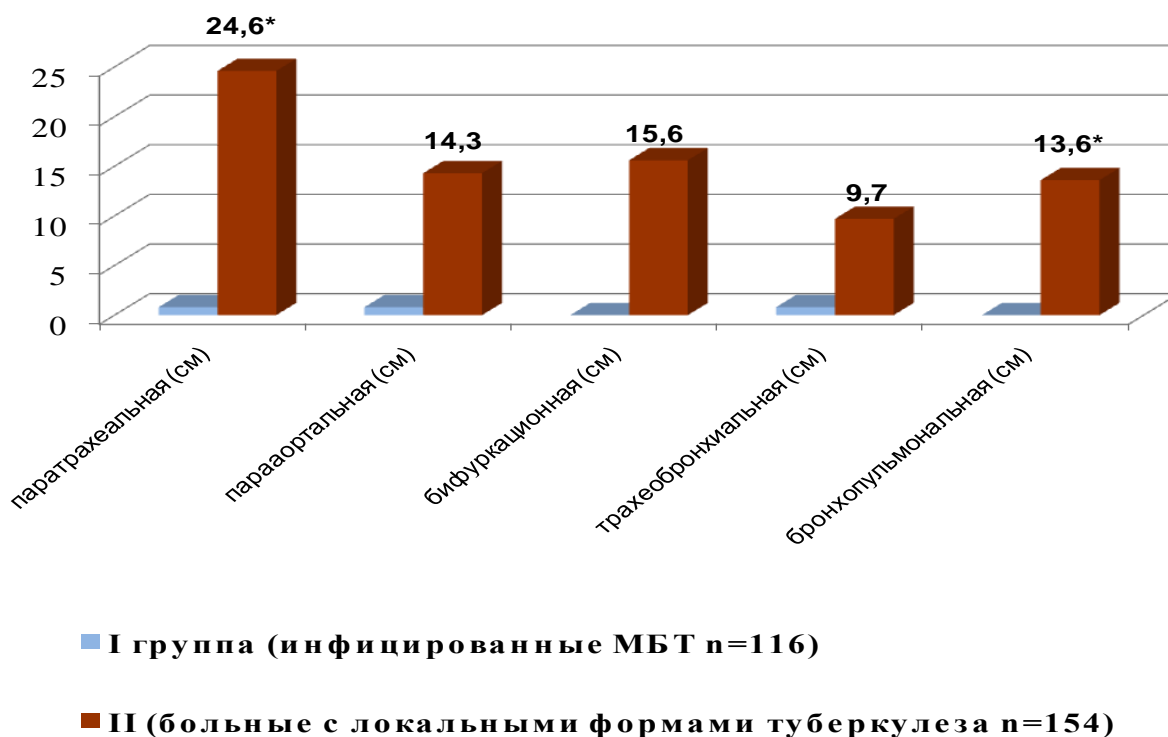
Очаги отсевов, чаще всего расположенные субплеврально, визуализировались в 37,6 % (58) случаев, у половины детей множественные (52,7%;30), у каждого четвертого кальцинированные (36,2%;21). Поражение одной или двух групп ЛУ отмечалось в 64,3%(99) случаев, в 35,7%(55) диагностированы распространенные и осложненные формы специфического процесса, 12 человек имели инфильтративные изменения в легочной ткани, у 3 - выпот в плевральную полость.

С целью сравнения размеров ЛУ по степени выраженности с учетом уровня статистической значимости различий использовался критерий Стьюдента ( $p=0,05$ ). Выявлены статистически значимые различия при увеличении ЛУ во

второй подгруппе ( $p > 0,01$ ) по сравнению с I подгруппой, где размеры узлов были более 0,6см.

Проведена корреляционная зависимость между размерами ЛУ в разных группах ЛУ. Использовался ранговый коэффициент корреляции Спирмена. Корреляционный анализ выполнялся отдельно в I и II подгруппе. Значения коэффициентов корреляции, статистически значимые на уровне  $p = 0,05$ . Статистически значимыми оказались корреляции, которые по своим значениям больше 0,51 или меньше  $-0,51$ . Тесная корреляционная зависимость выявлена при размерах ЛУ бронхопьюмональной группы от 0,6см и более и визуализацией ЛУ размерами от 0,6 и более парааортальной ( $r = 0,64$ ), бифуркационной ( $r = 0,77$ ) и трахеобронхиальной ( $r = 0,67$ ) групп.

Сравнение результатов лучевого обследования у детей I и II подгруппы представлены на рисунке 4.2.3.



\* $p < 0,001$  достоверные различия при сравнении результатов лучевой диагностики в I и II подгруппе



Рис. 4.2.3. Сравнение результатов лучевой диагностики ВГЛУ в I и II подгруппе при размерах ЛУ более 0,5см

Как в I, так и во II подгруппе значительных отличий по размерам ЛУ у детей младшего и старшего возраста не получено. Однако размеры визуализируемых ЛУ были достоверно больше во II подгруппе и чаще определялись более 0,5см, чем в I подгруппе.

Увеличение внутригрудных лимфатических узлов у детей II подгруппы потребовало проведения фибробронхоскопии (n=91) для определения поражения трахеобронхиального дерева. Выявлены патологические изменения в половине случаев (58,2%;53).

Полученные данные позволили рассчитать показатели диагностической значимости методов рентгенологического обследования, которые представлены в таблице 4.2.3.

Таблица 4.2.3.

**Сравнение показателей диагностической значимости рентгенологических методов у детей с различными проявлениями туберкулезной инфекции**

Методы исследования	ДЧ ( % )	ДС (%)	ДЭ (%)
Обзорная рентгенограмма (n=180)	93,5	9,4	<b>51,4</b>
Линейные томограммы (n=180)	85,7	23,3	<b>54,5</b>
МСКТ (n=180)	90,9	97,3	<b>94,0</b>
КТ-ангиография (n=86)	95,5	95,1	<b>95,3</b>

Наиболее информативным методом в диагностике специфических изменений представляется КТ-ангиография. Показатели диагностической значимости МСКТ незначительно отличаются по сравнению с КТ-ангиографией, которая является значимой только при диагностике бронхопульмональной группы ЛУ. В сравнении с лучевыми методами информативность обзорной рентгенограммы и линейных томограмм в два раза ниже, чем объясняется в 40% гипер- и в 10% гиподиагностика увеличения ВГЛУ при применении данных методов.

**Таким образом,** проведенное сравнение результатов стандартного комплекса рентгенологического обследования и лучевых методов выявило высокий процент гипердиагностики (59,3% против 7,8% соответственно) бронхопульмональной группы, в тоже время в 10% происходит гиподиагностика паратрахеальной, трахеобронхиальной групп. При сравнении информативности МСКТ и КТ-ангиографии выявлены нарушения в оценке паратрахеальной группы ЛУ, их увеличение подтверждается только в 15% из 21%, а также недооцениваются ЛУ бронхопульмональной и трахеобронхиальной групп. По КТ-ангиографии достоверно чаще выявляются изменения в бронхопульмональной группе ( $p < 0,001$ ), в то же время МСКТ является методом выбора при диагностике специфических изменений на фазе обратного развития ( $p < 0,01$ ).

Проведенная оценка ВГЛУ в различных возрастных группах, где достоверных отличий не выявлено, однако ЛУ у детей больных туберкулезом достоверно чаще имеют более 0,6см в поперечном размере.

Расчет показателей диагностической значимости представленных методов подтверждают высокую информативность в диагностике специфических изменений во ВГЛУ и легочной ткани МСКТ (94,0%) и МСКТ-ангиографии (95,3%), в сравнении с низкой информативностью обзорной рентгенограммы (51,4%) и линейных томограмм (54,5%). Выбор лучевых методов должен зависеть от изменений, визуализируемых при стандартном

рентгенологическом обследовании (обзорной рентгенограммы). Проведение линейных томограмм в современных условиях не целесообразно в связи с низкой информативностью и высоким уровнем гипер- и гиподиагностики. Изменения, полученные при любом рентгенологическом обследовании, должны трактоваться в комплексе с данными анамнеза, клинической симптоматикой и иммунологическими методами определения активности туберкулезной инфекции.

### **4.3. Алгоритм диагностики туберкулеза у детей с включением современных иммунологических и лучевых методов**

Проведение комплексного обследования с включением иммунологических и лучевых методов позволяет определить наличие истинной активности туберкулезной инфекции, исключить или выявить специфическое поражение ВГЛУ и легочной ткани, что позволяет обоснованно поставить диагноз туберкулеза у ребенка с определением распространенности, фазы специфического процесса.

Проведенное исследование доказывает необходимость применения современных иммунологических тестов (Диаскинтеста, при необходимости КФ-теста) для определения активности туберкулезной инфекции.

Наиболее информативными методами в диагностике специфических изменений во ВГЛУ и легочной ткани представляется комплекс лучевой диагностики (МСКТ и МСКТ-ангиография). Выбор лучевых методов должен зависеть от изменений, визуализируемых при стандартном рентгенологическом обследовании.

На рисунке 4.3.1. представлен разработанный алгоритм диагностики туберкулеза у детей, который учитывает все полученные в ходе исследования данные при применении современных иммунологических и лучевых методов.

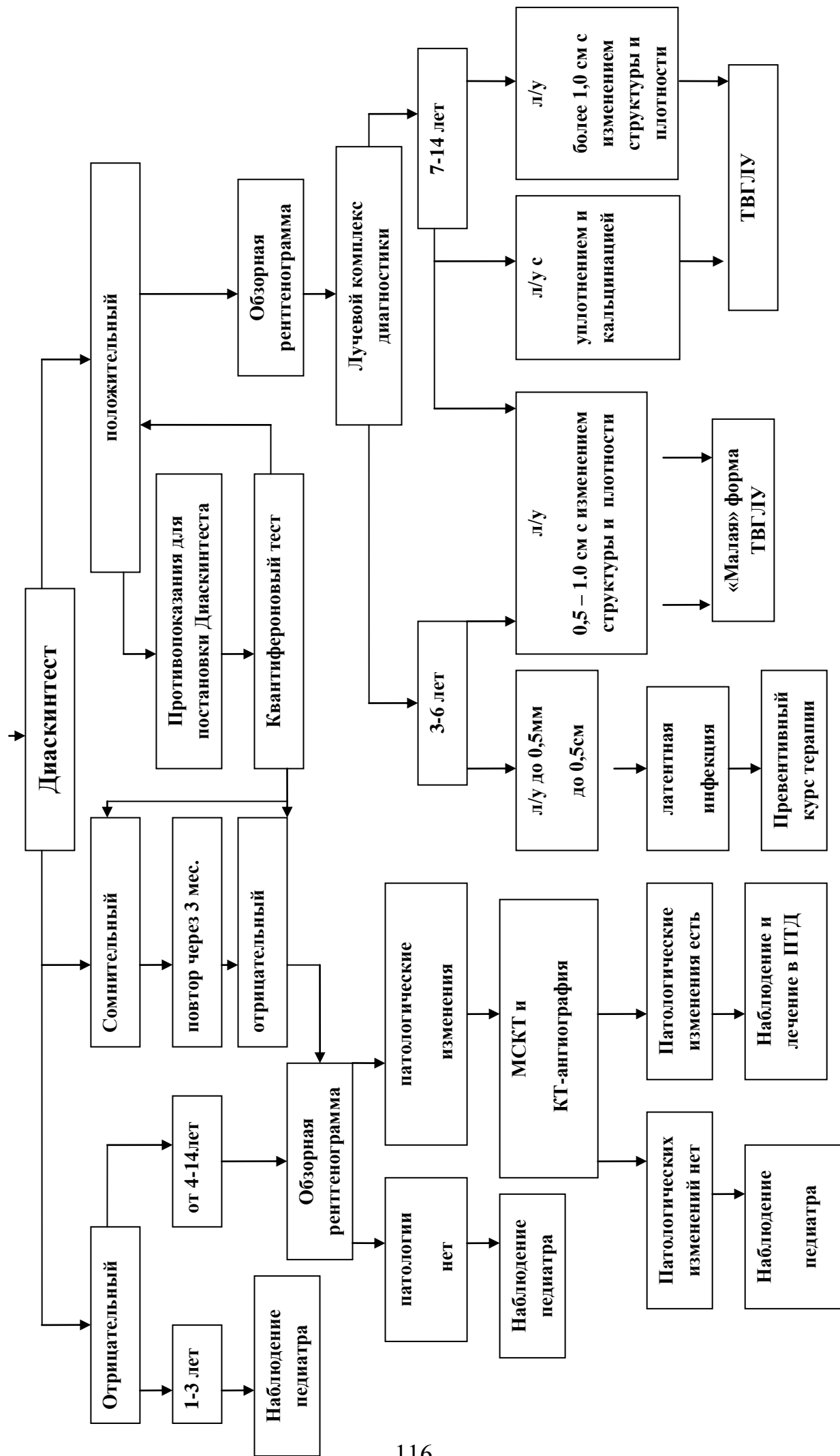


Рис. 4.3.1 Алгоритм диагностики туберкулеза у детей по результатам ДСТ

Изменения, полученные при рентгенологического обследовании, должны трактоваться в комплексе с данными анамнеза, клинической симптоматики и данными иммунологических реакций.

Отрицательный ДСТ позволяет не проводить диагностических мероприятий по исключению туберкулезной инфекции у детей младшего возраста (1-3лет) и требует наблюдения у педиатра, так как имеет место поствакцинная аллергия на фоне вакцинации БЦЖ.

**1. отрицательный ДСТ.** В возрасте от 4 до 14 лет ребенку с отрицательным ДСТ необходимо проведение обзорной рентгенограммы грудной клетки. Отсутствие патологических изменений также дает возможность не наблюдать ребенка в ПТД. Подозрение на патологические изменения во ВГЛУ и легочной ткани диктует необходимость продолжения рентгенологического обследования и назначения МСКТ. При исключении специфических изменений ребенок направляется для наблюдения в общую лечебную сеть. Исключение специфических изменений во ВГЛУ и легочной ткани на фоне отрицательного ДСТ позволяет дает возможность не наблюдать в ПТД и не назначать курс химиотерапии. Выявленные патологические изменения при лучевой диагностике на фоне отсутствия данных об отсутствии активности (отрицательный ДСТ) требует динамического наблюдения и проведения повторного обследования в динамике.

**2. сомнительный ДСТ (до 5мм)** Необходимо повторить постановку ДСТ через 3 месяца. При повторном отрицательном тесте возможно наблюдение у педиатра, сомнительный тест диктует необходимость проведения обзорной рентгенограммы. Отсутствие патологических изменений дает возможность наблюдения ребенка в условиях ПТД по «0» группе ДУ, без проведения МСКТ. Наличие на обзорной рентгенограмме расширения и деформации тени верхнего средостения, нарушения или нарушения структуры корней легких требует проведения МСКТ и КТ-ангиографии.

**3. положительный ДСТ** (КФ-тест) свидетельствует о наличии активности туберкулезной инфекции. Отсутствие изменений по результатам лучевых методов или визуализация множественных мелких (0,2-0,5см) лимфатических узлов свидетельствует о латентном течении туберкулезной инфекции и диктует необходимость проведения превентивного курса терапии. При реакции ВГЛУ от 0,6 до 1,0 см с возможным изменением структуры и численности у детей от 3 до 6 лет и увеличении более 0,7см у детей от 7 до 14 лет одной или двух групп ЛУ свидетельствует о «малой» форме внутригрудной аденопатии. Выявление лимфатических узлов свыше 1,0 см в диаметре, в соответствии с клинико-лабораторными показателями, а также наличие обызвествлений в лимфатических узлах свидетельствует о ТВГЛУ и требует проведения ФБС. Лечение проводится в соответствии со степенью выраженности специфических изменений и возможных осложнений туберкулезного воспаления.

**Клинический пример №1.** Ребенок С., 5 л. (и/б №352) , направлен в отделение терапии туберкулеза легких у детей с подозрением на ТВГЛУ бронхопульмональной группы в фазе инфильтрации. Ребенок из неустановленного тубконтакта, эффективно вакцинирован БЦЖ в род. доме. Симптомы интоксикации отсутствовали. Выявлена высокая чувствительность к туберкулину (р16мм), однако отрицательный ДСТ и КФ-тест не подтвердил наличие специфической сенсibilизации. При стандартном рентгенологическом исследовании заподозрено увеличение ВГЛУ, что не нашло своего подтверждения по результатам МСКТ и КТ-ангиографии. По результатам комплексного обследования у ребенка с выраженной чувствительностью к туберкулину данные об активности туберкулезной инфекции не получены. Увеличение ВГЛУ по результатам рентгенологического обследования не получено (рис.4.3.1). Диагноз туберкулеза ВГЛУ не нашел своего подтверждения.

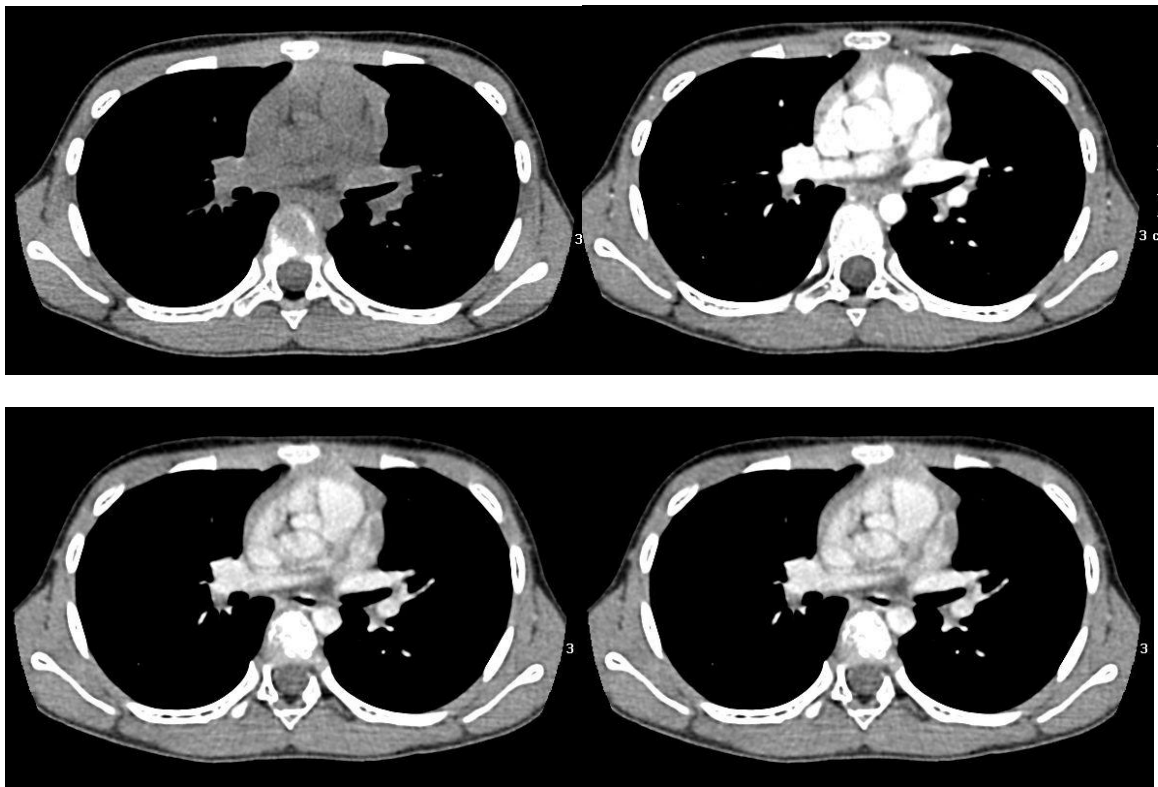


Рисунок 4.3.1. МСКТ и МСКТ- ангиография пациента С., 5 лет.

**Клинический пример №2.** Ребенок П.(4л.) (и/б №1845) из семейного с большим туберкулезом отцом (МБТ (+) МЛУ, эффективно вакцинирован БЦЖ, рубчик 5мм. Симптомы интоксикации выражены умеренно. Выявлена по контакту. По результатам рентгеномографического обследования в ПТД заподозрена реакция со стороны ВГЛУ. Высокая степень специфической сенсibilизации с гиперергической реакцией на туберкулин нашла свое подтверждение по результату ДСТ - гиперергический (p22мм). При проведении МСКТ и КТ-ангиографии визуализируются лимфатические узлы паратрахеальной до 0,1см (не представлены на рисунке), бифуркационной до 0,5см, бронхопультмональной группы справа и слева в поперечном размере от 3,5 до 1,0 см (рис.4.3.2.).

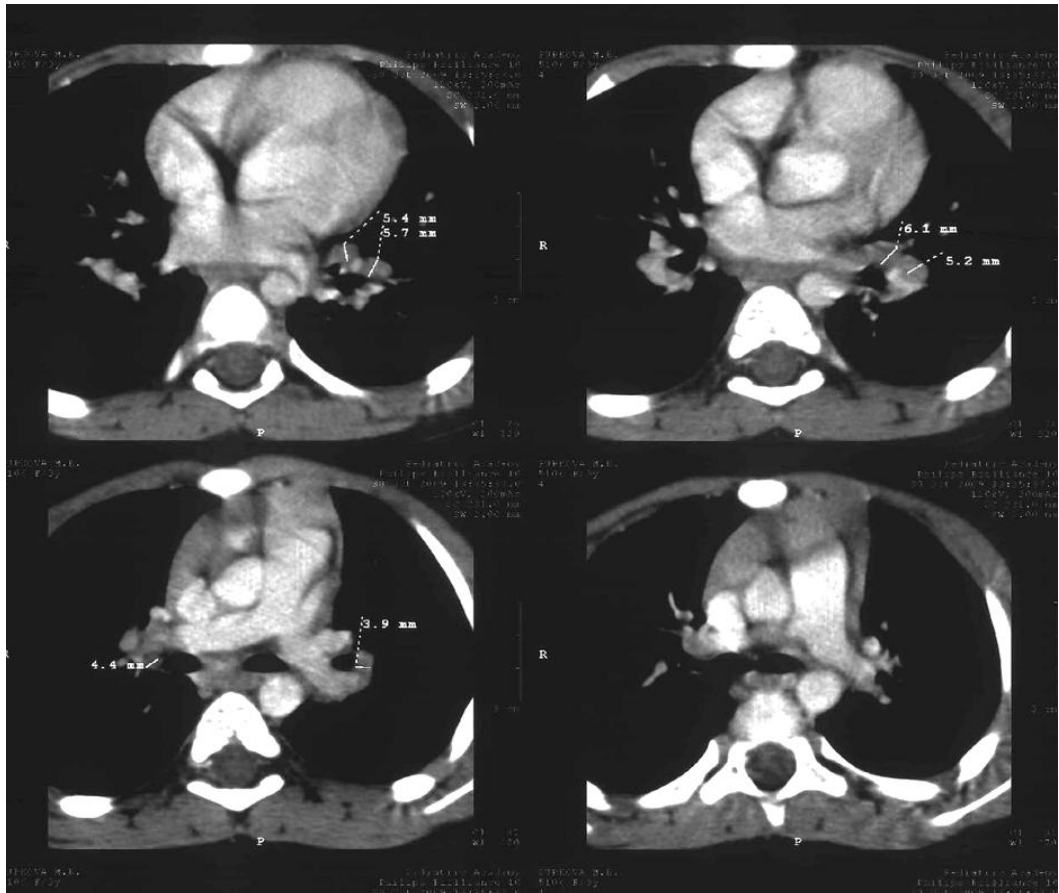


Рис. 4.3.2. МСКТ – ангиография пациентки П., 5 лет.

Поставлен ДЗ: туберкулез внутригрудных лимфатических узлов паратрахеальной, бифуркационной бронхопульмональной группы в фазе инфильтрации.

**Клинический пример №3.** Ребенок Д.(4г.) (и/б №1359), выявлен по контакту с матерью, которая переносит внелегочный туберкулез, эффективно вакцинирован БЦЖ, п.Манту 2ТЕ: 2008-р10, 2009-р 14, 2011-р15; ДСТ-р20, КФ-тест положительный. Симптомы интоксикации выражены умеренно, периферическая полиадения. При стандартном рентгенологическом комплексе обследования структура корней прослеживается (рис.4.3.3.). При МСКТ – множественные кальцинаты в паратрахеальной, бифурационной, бронхопульмональной группах (рис.4.3.4.).



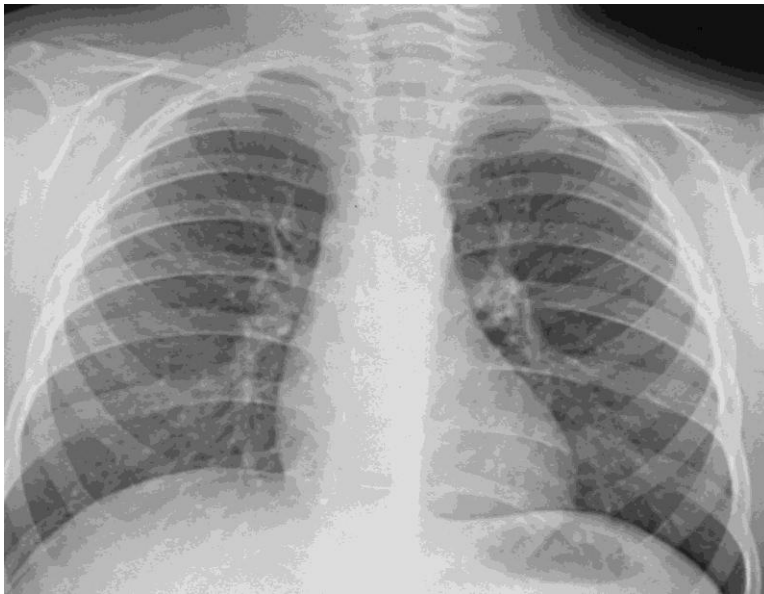


Рис.4.3.3 – обзорная рентгенограмма ребенка 4 лет.

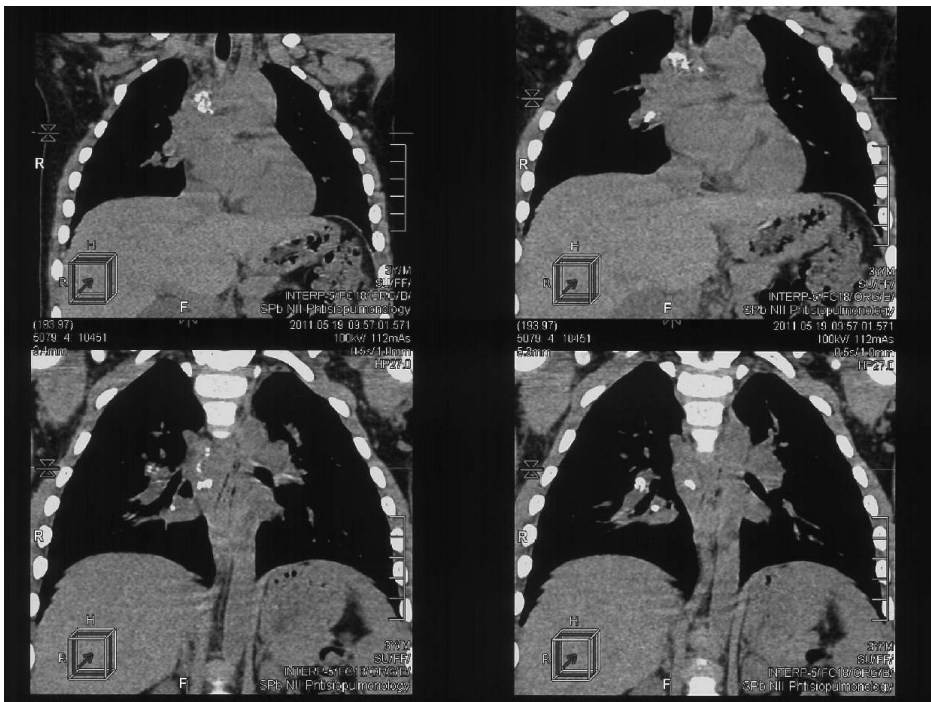


Рис.4.3.4. МСКТ ребенка 4лет с множественными кальцинатами в паратрахеальной, бифуркационной , бронхопульмональной группах

ДЗ: туберкулез внутригрудных лимфатическху узлов паратрахеальной, бифуркационной, бронхопульмональной групп в фазе кальцинации с признаками активности.

**Клинический пример №4.** Ребенок Ч. (14л.) (и/б № 1599) Выявлена в 2005г. Вакцинирована БЦЖ при рождении, эффективно. В п.Манту 2ТЕ в 2011-р 14мм. При рентгеномографическом обследовании было обнаружено отложение извести в бронхопульмональной группе справа. Симптомы интоксикации отсутствуют, признаки активности туберкулезной инфекции отсутствуют, п. Манту V отр; п.Манту- VI отр; ДСТ- отриц. При МСКТ было отложение извести в бронхопульмональной группы справа, кальцинированный очаг отсева (рис.4.3.5).

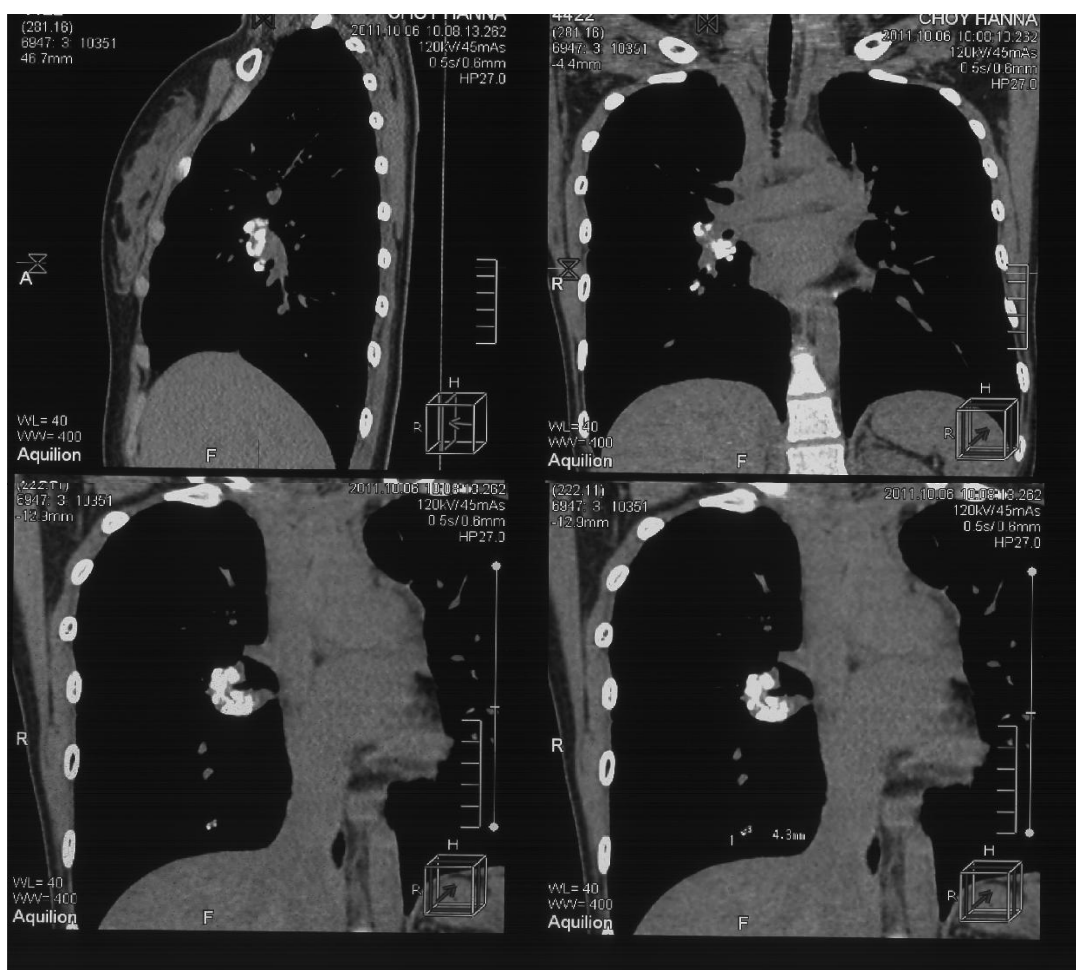


Рис.4.3.5. МСКТ -ребенка 14 лет с множественными кальцинатами в бронхопульмональной группе справа

Диагноз: туберкулез внутригрудных лимфатических узлов в фазе кальцинации без признаков активности

Данный комплекс обследования позволяет:

- избежать гипердиагностики инфицирования МБТ у детей младшего возраста;
- своевременно выявить больных туберкулезом, особенно у детей из семейного тубконтакта, с определением распространенности, фазы специфического процесса и позволит правильно подобрать режимы терапии;
- обоснованно снять подозрения на диагноз туберкулеза.

#### 4.4. Комплексное обследование детей из семейного очага инфекции с применением современных иммунологических (Диаскин-тест и Квантифероновый тест) и лучевых (МСКТ и КТ-ангиографии) методов

В комплекс обследования детей из семейного контакта введен Диаскинтест (ДСТ) (n=80) и Квантифероновый тест (КФ) (n=46). Данные представлены на рисунке 4.4.1

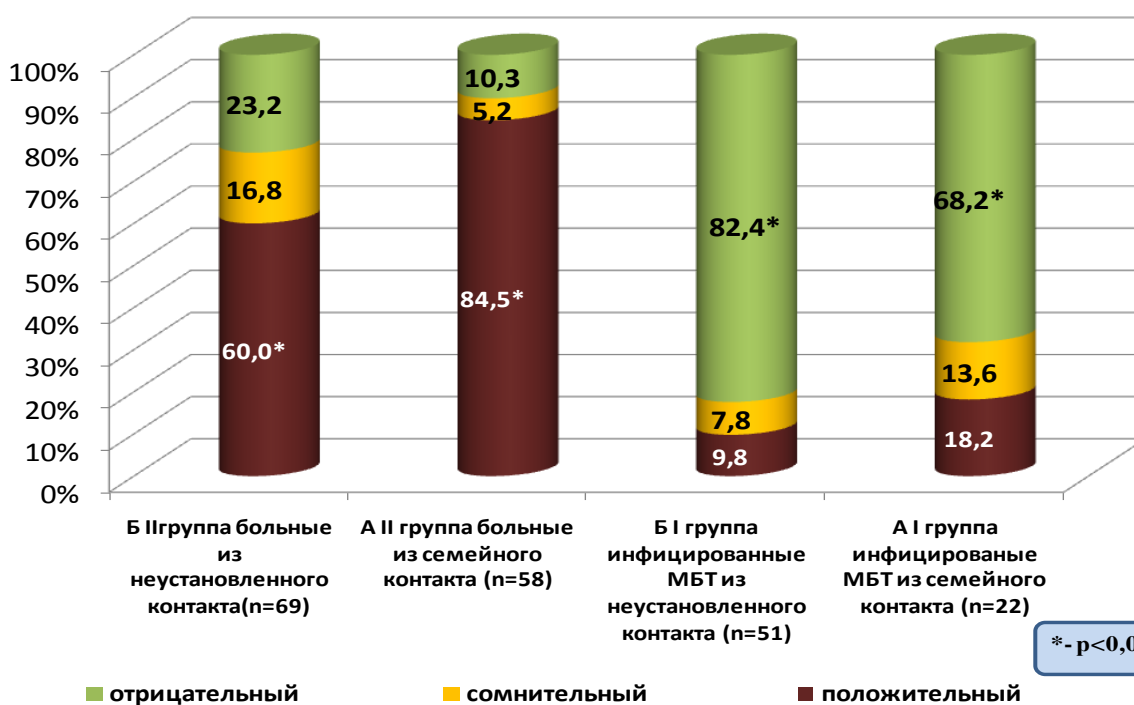


Рис.4.4.1. Определение активности туберкулезной инфекции при проведении Диаскинтеста у детей из семейного очага инфекции (А) и группой сравнения (Б).

Проведено сравнение результатов Диаскинтеста у 80 детей из семейного контакта (А) и у 120 пациентов из неустановленного контакта (Б) с целью определения истинной активности туберкулезной инфекции и сравнения полученных данных.

По результатам постановки теста можно говорить о достоверно высоком показателе отрицательных результатов в АІ подгруппе – инфицированных МБТ детей в сравнении с больными туберкулезом из семейного контакта АІІ (68,2% против 10,3%).

Положительный результат Диаскинтест в АІ подгруппе свидетельствовал о наличии активности туберкулезной инфекции у инфицированных МБТ детей из семейного контакта и требовал сопоставления с другими клинико-лабораторными показателями.

Сравнение результатов теста среди инфицированных МБТ детей из семейного контакта и группой сравнения выявил достоверно высокое число положительного ДСТ у больных туберкулезом пациентов (АІІ) в сравнении со здоровыми детьми в АІ подгруппе из семейного контакта (84,5% против 18,2%) со средним размером папулы  $m=16,2\pm 0,3$ мм. В АІІ подгруппе отмечался отрицательный тест в 10,3% (6) или в 5,2% (3) случаев сомнительный ДСТ, что свидетельствовало либо об отсутствии активности туберкулезной инфекции.

С целью подтверждения результатов Диаскинтеста нами введен Квантифероновый тест (КФ) (n=46). Сравнение результатов иммунологических тестов в данной группе наблюдения представлено в таблице 4.4.1.

Таблица 4.4.1.

**Сравнение результатов постановки п.Манту 2ТЕ, Диаскинтеста и Квантиферонового теста у детей из семейного очага инфекции**

Группа наблюдения	п.Манту 2ТЕ (n, %, M±m)			Диаскинтест			Квантифероновый тест		
	низкая	средняя	высокая	отриц.	сомнит	положит.	отриц	сомнит	полож.
AI (n=11)	27,3(3) m=4,0±0,2	63,6 (7) m=13,2±0,3	9,1(1) m=16,0±0,2	90,9(10)* $\chi^2=24,9$ p<0,001	9,1(1) m=3,0	-	100(11)**	-	-
AII (n=35)	8,6(3) m=7,6±0,2	54,3(19) m=13,2±0,3	37,1(13) m=17,4±0,3	11,5(4)	2,8(1) m=3,0	85,7(30)* m=16,5±0,2	22,9(8)	-	77,1(27)*

\*p <0,001-показатель достоверности в сравнении группы AI и AII

При сравнении полученных результатов обращает внимание высокий процент совпадения (73,7%) отрицательных результатов ДСТ и КФ-теста, а также совпадение их положительных результатов в 90,0% случаев, что подтверждает отрицательные и положительные значения ДСТ и свидетельствует о небольших различиях отклонении при их применении.

Показатели диагностической значимости применяемых методов у пациентов из семейного очага инфекции представлены в табл. 4.4.2.

Таблица 4.4.2.

**Сравнение показателей диагностической ценности п. Манту 2ТЕ, Диаскинтеста и Квантиферонового теста при определении активности туберкулеза у детей из семейного очага инфекции**

Метод исследования	ДЧ (%)	ДС (%)	ДЭ (%)	ПЦОР (%)	ПЦПР (%)
п.Манту 2ТЕ	75,0	10,8	<b>49,2</b>	<b>45,1</b>	<b>31,6</b>
Диаскинтест	78,8	84,1	<b>81,5</b>	<b>68,2</b>	<b>84,5</b>
Квантифероновый тест	77,1	100	<b>88,5</b>	<b>57,8</b>	<b>100</b>

Диаскинтеста и Квантифероновый тест имеют высокую диагностическую значимость как методы определения активности туберкулезной инфекции, которые превышают таковые показатели по п.Манту 2ТЕ в два раза.

С целью выявления скрытой активности туберкулезной инфекции проводился анализ данных полученных при проведении углубленной туберкулинодиагностики (п.Манту в V и VI разведениях), а также комплекса сероиммунологических реакций (РНГА, РПГ, РПК, ИФА). Для определения

информативности данных методов проведено их сравнение с новыми иммунологическими методами (Диаскинтест и КФ-тест).

Найдены достоверные различия между группами наблюдения. Отмечается достоверное преобладание отрицательных результатов у здоровых инфицированным МБТ детей из семейного контакта (АІ) (35,1 против 9,7) в сравнении с больными туберкулезом пациентами (АІІ) при постановке п.Манту V (табл. 4.4.3.).

Таблица 4.4.3.

**Сравнение результатов чувствительности к туберкулину по градуированной пробе Манту в V и VI разведениях у детей из семейного контакта**

Группа наблюдения	п.Манту V (% , n)			п.Манту VI (% , n)		
	Отриц.	Полож.	Гипер.	Отриц.	Полож.	Гипер.
АІ подгруппа (n=37)	<b>35,1(13)*</b>	29,8(11)	35,1(13)	43,2(16)	27,1(10)	29,7(11)
АІІ подгруппа (n=103)	9,7(10)	43,7(45)	46,6(48)	<b>13(12,6)*</b>	44 (42,7)	46 (44,7)

\*p <0,01-показатель достоверности в сравнении группы АІ и АІІ

Аналогичные достоверности получены по п.Манту VI при сравнении отрицательных результатов в АІ и АІІ подгруппе. Число отрицательных результатов у здоровых инфицированных МБТ детей (АІ) достоверно выше (43,2% против 12,6%,  $\chi^2=15,5$  p<0,001) в сравнении с АІІ подгруппой.

У детей из подгруппы АІІ установлена стойкая корреляционная связь (r=0,66) между выявлением ВГЛУ в фазе обратного развития и уплотнения специфического процесса и длительностью инфицирования МБТ. Таким

образом, чем длительный срок инфицирования МБТ, тем чаще диагностируются следы перенесенного специфического процесса, что подтверждает поздний срок диагностики заболевания у детей данной группы риска в настоящих условиях.

Расчет показателей диагностической ценности данных проб при определении активности туберкулезной инфекции незначительно выше п.Манту 2ТЕ, однако существенно ниже Диаскин-теста и КФ-теста и составляет для п.Манту V: ДЧ=79,5%, ДС=35,1%, ДЭ=57,3%, ПЦОР=56,5%; ПЦПР=68,8; для п. Манту VI – ДЧ=87,4, ДЧ=43,2; ДЭ=65,3; ПЦОР=55,1%; ПЦПР=81,1%.

Получена стойкая корреляционная связь гиперергического ДСТ ( $r=0,68$ ) и положительного КФ-теста ( $r=0,81$ ) с гиперергической чувствительностью по п. Манту в VI разведении в АП группе. Стойкая корреляционная связь получена у детей с гиперергической чувствительностью по V ( $r=0,61$ ) и VI ( $r=0,69$ ) разведениях, при контакте с больным туберкулезом родственником с МЛУ МБТ.

**Таким образом,** включение в комплекс фтизиатрического обследования современных иммунологических тестов (ДИАСКИНТЕСТ® и Квантифероновый тест), которые в несколько раз превышают информативность туберкулинодиагностики, позволят существенно повысить выявление активности туберкулезной инфекции у наиболее уязвимой категории детей - из семейного очага инфекции.

Положительные результаты Диаскинтеста и Квантиферонового теста, свидетельствующие о наличии активности туберкулезной инфекции в сочетании с установленными факторами риска (низким уровнем жизни, близкородственный бактериальный контакт), требуют незамедлительной изоляции ребенка и проведения комплексного обследования с включением МСКТ И КТ-ангиографии



#### **4.5. Сравнение информативности стандартного и разработанного комплекса диагностики туберкулеза у детей из семейного и неустановленного контакта**

Проведенное обследование детей позволило сравнить информативность стандартного обследования (п.Манту 2ТЕ, обзорная рентгенограмма и линейные томограммы) и предлагаемого комплекса диагностики с включением современных иммунологических и лучевых методов, а также определить критерии диагностики специфических изменений и рассчитать показатели диагностической значимости представленных методов в сравнении со стандартными.

При проведении стандартного комплекса обследования детей из семейного контакта (n=160) с подозрением на туберкулез различных локализаций диагностика осуществлялась на основании данных туберкулинодиагностики и рентгенологического обследования (рис. 4.5.1.).

Оценивались признаки активности туберкулезной инфекции по данным клинических методов, которые отражали выраженность интоксикационного синдрома, чувствительности к туберкулину по п.Манту 2ТЕ и ГКП. Рентгенологический комплекс обследования позволял выявить специфические изменения во ВГЛУ на основании «косвенных признаков», оценить очаговые и инфильтративные изменения в легочной ткани.

В 54,4% у детей было выявлено заболевание туберкулезом, при этом ТОД – в 48,1% и генерализованный туберкулез в 6,3% случаев. При этом в инфильтрация легочной ткани выявлена в 3,7% случаев, очаговые изменения в 5,6%, отложение извести во ВГЛУ- в 10,6%.



Рис.4.4.1. Стандартный комплекс диагностики и наблюдения детей из семейного очага туберкулезной инфекции

Далее стандартный комплекс диагностики дополнен современными иммунологическими (Диаскинтест, Квантифероновый тест, комплекс серологических реакций (РНГА, РПГ, РПК, ИФА, IgA, IgG, IgM) и определение показателей иммунного ответа) и рентгенологическими методами (обзорная рентгенограмма, МСКТ и КТ-ангиографии) (рис.4.4.2.).

Этапы диагностики не претерпели значительного изменения: оценка клинического статуса, определение активности туберкулезной инфекции иммунологическими методами, диагностика специфических изменений при во ВГЛУ и легочной ткани, однако включенные в исследование методы качественно изменили оценку и подходы полученных результатов.

Наличие симптомов интоксикации, на фоне положительного Диаскинтеста, Квантиферонового теста и высокого титра специфических АТ по РНГ,

РПК, ИФА, IgA, IgG в комплексе с оценкой иммунологических показателей свидетельствуют о наличии активности туберкулезной инфекции.



Рис.4.4.2 Современный комплекс диагностики туберкулезной инфекции детей из семейного контакта

Внутригрудные лимфатические узлы размером более 0,5см при проведении МСКТ и КТ-ангиографии считались увеличенными на фоне активности туберкулезной инфекции, что характерно для «малой» формы внутригрудной аденопатии. Оценивали размеры, численность и плотность ВГЛУ, а также очаговые и инфильтративные изменения в легочной ткани.

Таким образом, туберкулез диагностирован в 75,0% (120) случаев против 54,4% при стандартном комплексе диагностики, что на 20,6% больше. Локальные изменения в легочной ткани в виде инфильтрации визуализировались 7,5% случаев (в два раза чаще), очаговые изменения в четыре раза чаще – в 21,2% (против 5,6%), отложение извести во ВГЛУ два раза чаще – в 23,7% случаев (против 10,6%), что значительно улучшает

качество диагностики и меняет тактику ведения данных больных. Предложенный комплекс диагностики позволяет диагностировать латентное течение туберкулезной инфекции, которое зафиксировано в 2,5 % случаев.

Результаты проведения стандартного комплекса обследования детей из неустановленного контакта представлены на рисунке 4.4.3.

Из 160 детей специфические изменения выявлены у 38 (32%) человек, из них у 35 (92,1%) был ТОД, у 3 (7,9%) - генерализованный туберкулез.



Рис.4.4.3. Результаты стандартного комплекса диагностики у детей из неустановленного контакта с подозрением на туберкулез

Проведено сравнение стандартного и современного комплекса обследования. Результаты, полученные после проведения предложенного комплекса диагностики у детей из неустановленного контакта с включением современных иммунологических и лучевых методов, представлены в рисунке 4.4.4.



Рис.4.4.4. Результаты нового комплекса диагностики с внедрением Диаскинтеста и лучевых методов (МСКТ и КТ-ангиографии)

Туберкулез диагностирован в 50,6% (81) случаев, что на 19,4% выше, чем при стандартном комплексе, при этом выявление детей с генерализованными формами в 10 раз выше. Сравнение полученных результатов при проведении стандартного и предложенного комплексов диагностики у пациентов из семейного очага инфекции и неустановленного контакта показало высокий удельный вес диагностики туберкулеза, превышающий стандартный на 20% у детей из семейного очага инфекции и на 25% - из неустановленного контакта, т.е. у каждого четвертого ребенка диагноз не ставится.

**Таким образом,** стандартный комплекс диагностики туберкулеза у детей в настоящих условиях напряженной эпидемической ситуации требует совершенствования путем внедрения новых и замены старых менее информативных методов.

## **ГЛАВА 5. ОСОБЕННОСТИ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ АЛЛЕЛЕЙ ГЕНА HLA-DRB1\* У ДЕТЕЙ С РАЗЛИЧНЫМИ ПРОЯВЛЕНИЯМИ ТУБЕРКУЛЕЗНОЙ ИНФЕКЦИИ, ИХ ЗНАЧЕНИЕ В РАЗВИТИИ СПЕЦИФИЧЕСКОГО ПРОЦЕССА В ОЧАГЕ ТУБЕРКУЛЕЗНОЙ ИНФЕКЦИИ**

Учитывая особую важность изучения иммуногенетического статуса у детей, в особенности из семейного очага туберкулезной инфекции, а также значимость изучения влияния аллелей гена HLA- DRB1\* на развитие и течение туберкулеза, проведено типирование аллелей гена HLA- DRB1\* у 188 пациентов с различными проявлениями туберкулезной инфекции.

### **5.1. Определение иммуногенетической предрасположенности к развитию туберкулеза у детей Северо-Западного региона России**

Проведено типирование аллелей гена HLA- DRB1\* и определение их встречаемости в группе инфицированных МБТ (здоровых) детей группы А и Б (I подгруппа n=90) и больных туберкулезом детей (II подгруппа n=98). Сравнение частоты распределения аллелей гена HLA- DRB1\* проводилось с группой контроля (n=346).

В таблице 5.1.1. представлены данные распределения аллелей гена HLA- DRB1\* у больных туберкулезом детей (II (А+Б)) в сравнении с группой контроля. Полученные данные свидетельствуют о достоверно высокой встречаемости \*04 аллеля в подгруппе II (А+Б), что указывает на его предрасполагающую роль в развитии туберкулезного процесса. Расчет показателей относительного риска (RR=2,17) и этиологической фракции (EF=0,19) позволили подтвердить полученные данные.

Наряду с высокой встречаемостью 04\* аллеля отмечалось низкое распределения \*07 и \*15 аллелей генотипа HLA-DRB1\* ( $p<0,01$ ), что свидетельствует о протективной их роли в развитии специфического процесса, которое подтверждено расчетом показателя PF (0,15 и 0,12, соответственно).

Таблица 5.1.1.

**Распределение аллелей гена HLA- DRB1\* у больных туберкулезом детей  
(II (A+B)) в сравнении с группой контроля**

HLA специфи- чность	Распределение аллелей HLA- DRB1* (% , n)		X <sup>2</sup>	p	RR	EF (%)	PF (%)
	Больные туберкулезом (II)(n=98)	группа контроля (n=346)					
DRB1*01	28,6(28)	24,0(84)	0,74	-	-	-	-
DRB1*03	11,2(11)	16,5(57)	1,62	-	-	-	-
<b>DRB1*04</b>	<b>36,7(36)</b>	<b>21,1(73)</b>	<b>10,08</b>	<b>p&lt;0,01</b>	<b>2,17</b>	<b>0,19</b>	-
<b>DRB1*07</b>	<b>14,3(14)</b>	<b>27,5(95)</b>	<b>7,15</b>	<b>p&lt;0,01</b>	<b>0,44</b>	-	<b>0,15</b>
DRB1*08	6,1(6)	6,1(21)	0,001	-	-	-	-
DRB1*09	4,1(4)	2,3(8)	0,9	-	-	-	-
DRB1*10	1,1(1)	2,6(9)	0,86	-	-	-	-
DRB1*11	22,4(22)	22,3(77)	0,001	-	-	-	-
DRB1*12	6,1(6)	4,1(14)	0,7	-	-	-	-
DRB1*13	28,6(28)	23,7(82)	0,97	-	-	-	-
DRB1*14	0	3,8(13)	3,79	-	-	-	-
<b>DRB1*15</b>	<b>18,4(18)</b>	<b>28,3(98)</b>	<b>3,92</b>	<b>p&lt;0,01</b>	<b>0,56</b>	-	<b>0,12</b>
DRB1*16	7,1(7)	7,2(25)	0,001	-	-	-	-

Сравнение распределения аллелей генотипа HLA-DRB1\* в подгруппах: инфицированных МБТ (I A+B) детей, больных туберкулезом (II (A+B)) и группой контроля представлены в таблице 5.1.2.

**Распределение аллелей гена HLA-DRB1\* в группе инфицированных МБТ (I) детей в сравнении с больными туберкулезом детьми (II) и группой контроля**

HLA специфичность	Распределение аллелей HLA-DRB1* (% , n)				
	Больные туберкулезом (n=98)	X <sup>2</sup>	Инфицированные МБТ (n=90)	группа контроля (n=346)	X <sup>2</sup>
DRB1*01	28,6(28)	0,0085	26,7(24)	24,0(84)	0,21
DRB1*03	11,2(11)	0,43	14,5(13)	16,5(57)	0,21
DRB1*04	<b>36,7(36)**</b>	<b>9,55</b>	<b>16,7(15)</b>	<b>21,1(73)</b>	0,87
DRB1*07	<b>14,3(14)</b>	1,51	<b>21,1(19)</b>	<b>27,5(95)</b>	1,48
DRB1*08	6,1(6)	1,18	7,8(7)	6,1(21)	0,34
DRB1*09	4,1(4)	1,59	1,1(1)	2,3(8)	0,5
DRB1*10	1,1(1)	0,004	1,1(1)	2,6(9)	0,7
<b>DRB1*11</b>	22,4(22)	2,77	<b>33,3(30)*</b>	<b>22,3(77)</b>	4,7
DRB1*12	6,1(6)	0,027	5,5(5)	4,1(14)	0,39
DRB1*13	28,6(28)	0,14	31,2(28)	23,7(82)	2,07
DRB1*14	0	0	0	3,8(13)	3,48
DRB1*15	<b>18,4(18)</b>	0,43	<b>22,2(20)</b>	<b>28,3(98)</b>	1,35
DRB1*16	7,1(7)	0,19	5,5(5)	7,2(25)	0,31

\*-  $p < 0,05$  – достоверные различия между подгруппой II и группой контроля

\*\* -  $p < 0,01$  – достоверные различия между II и I подгруппой

Среди DRB1\* генотипов статистически достоверно часто встречался 11\* аллель в I подгруппе в сравнении с группой контроля (33,3% против 22,3% соответственно), также как и во II подгруппе (33,3% против 22,4%), что может



характеризовать его как протективный. Отмечался высокий уровень встречаемости в I подгруппе \*07 и 15\* аллелей, что является закономерным при их протективном влиянии.

Значимые различия в представленных группах получены по распределению аллелей гена HLA-DRB1\* у детей с различными проявлениями туберкулезной инфекции (I и II подгрупп) только по встречаемости \*04 аллеля, который у больных туберкулезом пациентов определялся достоверно часто (36,7% против 16,7% соответственно). Отмечалась тенденция к низкому уровню распределения \*07 и \*15 аллелей HLA- DRB1\*.

С целью выявления значимости различного влияния генотипа HLA-DRB1\* в развитии туберкулеза органов дыхания (ТОД) (n=51) и генерализованных (n=47) форм специфического процесса проведено сравнение распределения генотипа DRB1\* у детей с данными формами туберкулеза между собой, а также группой контроля.

Результаты распределения аллелей гена HLA-DRB1\* у пациентов с ТОД в сравнении с группой контроля отражены в таблице 5.1.3.

По полученным данным отмечается достоверное преобладание \*01, \*04 и \*13 аллелей у больных детей с ТОД. Расчет показателя относительного риска \*04 аллеля (RR=4,2) подтвердил высокий риск развития ТОД у детей с данным аллелем в генотипе. RR \*04 аллеля был в два раза выше, чем RR \*01 и \*13 аллеля, однако EF сопоставимый. Таким образом, встречаемость данных аллелей, в особенности \*04 аллеля гена HLA-DRB1\*, в генотипе инфицированных МБТ детей может свидетельствовать о предрасположенности к развитию ТОД.

Таблица 5.1.3.

**Распределение аллелей генотипа DRB1 у больных детей с туберкулезом органов дыхания в сравнении с группой контроля**

HLA специфичность	Распределение аллелей (% , n)		X <sup>2</sup>	p	RR	EF (%)	PF (%)
	ТОД (n=51)	группа контроля (n=346)					
<b>DRB1*01</b>	<b>32,8(24)</b>	<b>24,0(84)</b>	<b>11,64</b>	<b>P&lt;0,001</b>	<b>2,8</b>	<b>0,30</b>	-
DRB1*03	10,9(8)	16,5(57)	0,02	-	-	-	-
<b>DRB1*04</b>	<b>36,9(27)</b>	<b>21,1(73)</b>	<b>23,91</b>	<b>p&lt;0,001</b>	<b>4,2</b>	<b>0,39</b>	-
DRB1*07	10,9(8)	27,5(95)	3,2	-	-	-	-
DRB1*08	5,5(4)	6,1(21)	2,1	-	-	-	-
DRB1*09	4,1(3)	2,3(8)	2,1	-	-	-	-
DRB1*10	1,9(1)	2,6(9)	0,07	-	-	-	-
DRB1*11	19,2(14)	22,3(77)	0,67	-	-	-	-
DRB1*12	4,1(3)	4,1(14)	0,36	-	-	-	-
<b>DRB1*13</b>	<b>32,8(24)</b>	<b>23,7(82)</b>	<b>12,39</b>	<b>p&lt;0,001</b>	<b>2,86</b>	<b>0,31</b>	-
DRB1*14	0	3,8(13)	1,9	-	-	-	-
DRB1*15	19,2(14)	28,3(98)	0,02	-	-	-	-
DRB1*16	5,4(4)	7,2(25)	0,03		-	-	-

Как видно из таблицы 5.1.3, встречаемость \*07 и \*15 аллелей, которые являются протективными, не достоверно низка у больных с ТОД, однако прослеживается тенденция к снижению частоты их распределения (в два раза \*07 аллеля (10,9% против 21,1%) и \*15 аллеля (19,2% против 22,2%)).

В таблице 5.1.4. представлены данные по распределению аллелей HLA-DRB1\* у больных с генерализованными формами туберкулеза.

Таблица 5.1.4.

**Сравнение встречаемости аллелей гена DRB1\* у больных детей с генерализованными формами туберкулеза и группой контроля**

HLA специфичность	Распределение аллелей (% , n)		X <sup>2</sup>	p	RR	EF (%)	PF (%)
	генерализованные формы туберкулеза (n=47)	группа контроля (n=346)					
<b>DRB1*01</b>	<b>14,8(4)</b>	<b>24,0(84)</b>	<b>5,75</b>	<b>p&lt;0,05</b>	<b>0,29</b>	-	<b>0,18</b>
DRB1*03	11,1(3)	16,5(57)	3,25	-	-	-	-
DRB1*04	33,3(9)	21,1(73)	0,09	-	-	-	-
DRB1*07	3,7(8)	27,5(95)	2,3	-	-	-	-
DRB1*08	7,4(2)	6,1(21)	0,37	-	-	-	-
DRB1*09	3,7(1)	2,3(8)	0,02	-	-	-	-
DRB1*10	0	2,6(9)	1,25	-	-	-	-
DRB1*11	29,6(8)	22,3(77)	0,66	-	-	-	-
DRB1*12	11,1(3)	4,1(14)	0,54	-	-	-	-
DRB1*13	25,9(7)	23,7(82)	1,8	-	-	-	-
DRB1*14	0	3,8(13)	1,8	-	-	-	-
<b>DRB1*15</b>	<b>11,1(3)</b>	<b>28,3(98)</b>	<b>10,43</b>	<b>p &lt;0,01</b>	<b>0,17</b>	-	<b>0,22</b>
DRB1*16	11,1(3)	7,2(25)	0,04		-	-	-

Из таблицы 5.1.4. видно, что при сопоставлении результатов типирования аллелей гена HLA-DRB1\* у пациентов с генерализованными формами туберкулеза в сравнении с группой контроля отмечается редкое распределение

\*01 и \*15 ( $p < 0,05$  и  $p < 0,01$ , соответственно). Доказательством превентивной значимости данных аллелей служит низкое значение (менее 1,0) показателя относительного риска и превентивной фракции (\*01 (PF=0,18), \*15 (PF=0,22)), которые характеризуют силу отрицательной HLA-ассоциации.

Сравнительный анализ распределения аллелей у пациентов с ТОД и генерализованными формами представлены в таблице 5.1.5.

Таблица 5.1.5.

**Распределение генотипа DRB1\* у больных детей с ТОД и генерализованными формами туберкулеза**

HLA специфичность	Распределение аллелей (% , n)		X <sup>2</sup>	p
	ТОД (n=51)	генерализованный туберкулез (n=47)		
<b>DRB1*01</b>	<b>32,8(24)</b>	<b>14,8(4)</b>	<b>17,80</b>	<b>p&lt;0,001</b>
DRB1*03	10,9(8)	11,1(3)	2,12	-
<b>DRB1*04</b>	<b>36,9(27)</b>	<b>33,3(9)</b>	<b>12,01</b>	<b>p&lt;0,01</b>
<b>DRB1*07</b>	<b>10,9(8)</b>	<b>3,7(8)</b>	0,03	-
DRB1*08	5,5(4)	7,4(2)	0,54	-
DRB1*09	4,1(3)	3,7(1)	0,88	-
DRB1*10	1,9(1)	0	0,9	-
DRB1*11	19,2(14)	29,6(8)	1,5	-
DRB1*12	4,1(3)	11,1(3)	0,01	-
<b>DRB1*13</b>	<b>32,8(24)</b>	<b>25,9(7)</b>	<b>11,07</b>	<b>p&lt;0,001</b>
DRB1*14	0	0	0	-
<b>DRB1*15</b>	<b>19,2(14)</b>	<b>11,1(3)</b>	<b>7,5</b>	<b>p&lt;0,01</b>
DRB1*16	5,4(4)	11,1(3)	0,07	

По представленным в таблице 5.1.5. данным, достоверно редко встречается протективные \*01, \*07, \*13 и \*15 аллели у детей с тяжелым генерализованным специфическим процессом в сравнении с пациентами с ТОД. Данная закономерность также подтверждает протективную роль аллелей при развитии генерализованных формами специфического процесса.

Проведено сравнение распределения аллелей гена HLA-DRB1\* у детей с различными проявлениями туберкулезной инфекции, которое представлено в таблице 5.1.6.

Таблица 5.1.6.

### Распределение аллелей гена HLA-DRB1\* в группах сравнения

HLA специфичность	Распределение аллелей в подгруппах (А+Б) с различными проявлениями туберкулезной инфекции (% , n)			
	Инфицированные МБТ (I подгруппа) (n=90)	Больные туберкулезом (II подгруппа) (n=98)	Больные туберкулезом	
			ТОД (n=51)	генерализованный туберкулез (n=47)
DRB1*01	26,7(24)	28,6(28)	<b>32,8(24)</b>	<b>14,8(4)</b>
<b>DRB1*04</b>	<b>16,7(15)</b>	<b>36,7(36)</b>	<b>36,9(27)</b>	<b>33,3(9)</b>
<b>DRB1*07</b>	<b>21,1(19)</b>	<b>14,3(14)</b>	<b>10,9(8)</b>	<b>3,7(8)</b>
<b>DRB1*15</b>	<b>22,2(20)</b>	<b>18,4(18)</b>	<b>19,2(14)</b>	<b>11,1(3)</b>

Как видно из таблицы 5.1.6., значимые в развитии туберкулезной инфекции у детей специфичности имеют четкую направленность в распределении. Прослеживается четкая тенденция к снижению распределения \*07, 15\* аллелей генотипа DRB1\* у больных туберкулезом в сравнении с инфицированными МБТ (здоровыми детьми) и еще более низкий показатель их встречаемости у пациентов с генерализованными формами туберкулеза. В два

раза встречается распределение \*01 аллеля при развитии тяжелых форм заболевания, что также может характеризовать его как протективный.

По полученным данным наличие в генотипе у инфицированного МБТ ребенка \*04 аллеля гена DRB1\* приводит к риску развития туберкулеза ТОД, в то же время наличие \*07 и \*15 специфичностей защищают от развития специфического процесса. У детей, имеющих в своем генотипе \*01 аллель, снижается риск развития генерализованных форм заболевания.

## **5.2. Значение генотипов HLA- DRB1\* в развитии туберкулезной инфекции у детей из семейного очага туберкулезной инфекции**

С целью выявления возможных особенностей генотипа HLA- DRB1\* у детей с отягощенной наследственностью по заболеванию в семейном очаге туберкулезной инфекции и определения его значения в развитии туберкулеза проведено сравнение распределения аллелей гена HLA- DRB1\* в группе А (n=41) у инфицированных МБТ детей из семейного и Б (n=49) неустановленного контакта, а также - больных туберкулезом из семейного (АII n=51) и неустановленного контакта (БII n=47). Проведено сравнение их генотипов между подгруппами и группой контроля.

Особенности распределения аллелей генов HLA-DRB1\* в группе пациентов из семейного очага туберкулезной инфекции больных туберкулезом (АII n=51) в сравнении с группой контроля представлено в таблице 5.2.1.

Во АII подгруппе \*04 аллель генотипа HLA- DRB1\* встречался достоверно часто ( $p < 0,01$ ), тогда как редко встречались \*07 и \*15 аллели DRB1\* ( $p < 0,05$ ), что свидетельствует об их протективном влиянии и совпадает с результатами, полученными в общей группе больных туберкулезом (II А+Б) детей.

Таблица 5.2.1.

**Распределение аллелей гена HLA DRB1\* у больных туберкулезом детей (АИ) из семейного очага туберкулезной инфекции в сравнении с группой контроля**

HLA специфичность	Распределение аллелей гена HLA-DRB1*(%, n)		X <sup>2</sup>	p	RR	EF (%)	PF (%)
	дети из семейного очага инфекции (АИ) (n=51)	группа контроля (n=346)					
DRB1*01	31,4(16)	24,0(84)	1,29			-	
DRB1*03	7,8(4)	16,5(57)	2,54	-	-	-	-
<b>DRB1*04</b>	<b>41,2(21)</b>	<b>21,1(73)</b>	<b>9,9</b>	<b>p&lt;0,01</b>	<b>2,6</b>	<b>0,25</b>	-
<b>DRB1*07</b>	<b>13,7(7)</b>	<b>27,5(95)</b>	<b>4,38</b>	<b>p&lt;0,05</b>	<b>0,42</b>	-	<b>0,15</b>
DRB1*08	7,8(4)	6,1(21)	0,23	-	-	-	-
DRB1*09	0	2,3(8)	1,20	-	-	-	-
DRB1*10	1,9(1)	2,6(9)	0,07	-	-	-	-
DRB1*11	13,7(7)	22,3(77)	1,93	-	-	-	-
DRB1*12	5,8(3)	4,1(14)	0,36	-	-	-	-
DRB1*13	33,3(17)	23,7(82)	2,2	-	-	-	-
DRB1*14	0	3,8(13)	1,98	-	-	-	-
<b>DRB1*15</b>	<b>13,7(7)</b>	<b>28,3(98)</b>	<b>4,86</b>	<b>p&lt;0,05</b>	<b>0,44</b>	-	<b>0,16</b>
DRB1*16	9,8(5)	7,2(25)	0,42		-	-	-

В таблице 5.2.2. представлены данные о распределении аллелей в генотипе HLA- DRB1\* у детей с различными проявлениями туберкулезной инфекции из семейного и неустановленного контакта.

Таблица 5.2.2.

**Распределение аллелей генов HLA- DRB1\* в группах детей из семейного и неустановленного контакта с различными проявлениями туберкулезной инфекции**

HLA специфи- чность	Распределение аллелей в группах обследованных детей (% , n)		
	Больные из семейного контакта (АII) (n=51)	Больные из неустановленного контакта (БII) (n=47)	инфицированные МБТ дети из семейного контакта (АI)(n=41)
DRB1*01	31,4(16)	25,5(12)	34,2(14)
DRB1*03	7,8(4)	14,9(7)	19,5(8)
<b>DRB1*04</b>	<b>41,2(21)</b>	<b>31,9(15)</b>	<b>17,1(7)</b>
<b>DRB1*07</b>	<b>13,7(7)</b>	<b>14,9(7)</b>	<b>19,5(8)</b>
DRB1*08	7,8(4)	4,3(2)	0
<b>DRB1*09</b>	<b>0</b>	<b>8,5(4)</b>	0
DRB1*10	1,9(1)	0	2,4(1)
<b>DRB1*11</b>	<b>13,7(7)</b>	<b>31,9(15)</b>	26,8(11)
DRB1*12	5,8(3)	6,4(3)	2,4(1)
DRB1*13	33,3(17)	23,4(11)	26,8(17)
DRB1*14	0	0	0
<b>DRB1*15</b>	<b>13,7(7)</b>	<b>23,4(11)</b>	<b>26,8(11)</b>
DRB1*16	9,8(5)	4,3(2)	7,3(3)

Как видно из таблицы 5.2.2., полученные данные позволяют проследить закономерности распределения протективных (\*07, \*15) и предрасполагающего (\*04) аллелей гена HLA- DRB1\* в группах. Так в АII и БII подгруппе преобладает носительство \*04 аллеля, при этом в АII данный аллель встречается на 10% чаще.



Однако сочетание неблагоприятных факторов риска в виде тесного семейного контакта и носительства предрасполагающего к заболеванию туберкулезом \*04 аллеля увеличивает риск развития специфического инфекционного процесса, что делает возможным сформировать группу высокого риска по развитию туберкулеза у детей. Отмечается практически одинаковый процент носительства протективных аллелей \*07 и \*15 во АII и БII подгруппах, на фоне более высокой частоты носительства данных аллелей в AI подгруппе.

Таким образом, носительство протективных аллелей \*07 и \*15 генотипа HLA-DRB1\* защищает от развития ТОД, а \*01 аллеля - от генерализации специфического процесса. В то же время наличие предрасполагающего \*04 аллеля гена HLA- DRB1\* в генотипе ребенка является значительным фактором риска в развитии заболевания туберкулезом и позволяет формировать группу риска, где особое место занимают дети из семейного очага туберкулезной инфекции.

### **5.3. Распределение аллелей гена HLA- DRB1\* у детей и их родственников в очаге туберкулезной инфекции**

Классическим методом доказательства существования генов, контролирования ими какого-либо признака, сцепления их с другими генами, являются семейные исследования [189]. Трудность в проведении таких исследований заключается в отсутствии возможности обследования всех членов семьи, что необходимо для проведения наиболее точного анализа. Большой интерес представляют семьи с множественными семейными контактами. Основная задача состоит в выявлении генов предрасположенности и их возможной передаче в семьях с больными туберкулезом родственником.

В структуре данного исследования проведено сравнение генотипов HLA-DRB1\* у 82 взрослых родственников детей из семейного очага инфекции, из которых 56 больных туберкулезом и 26 здоровых. Особенности распределения

аллелей гена HLA- DRB1\* у родственников, больных туберкулезом детей и группой контроля, представлено в таблице 5.3.1.

Таблица 5.3.1.

**Распределение аллелей генотипа HLA- DRB1\* у взрослых больных туберкулезом родственников в сравнении с группой контроля**

HLA специфичности	Распределение аллелей в группах (% , n)		X <sup>2</sup>	p	RR	EF (%)	PF (%)
	больные туберкулезом родственники детей из семенного очага туберкулезной инфекции (АИ n=56)	группа контроля (n=346)					
DRB1*01	25,0(14)	24,0(84)	0,01			-	
DRB1*03	5,4(3)	16,5(57)	4,6	-	-	-	-
DRB1*04	19,6(11)	21,1(73)	0,06	-	-	-	-
<b>DRB1*07</b>	<b>1,8(1)</b>	<b>27,5(95)</b>	<b>17,47</b>	<b>p&lt;0,001</b>	<b>0,04</b>	-	<b>0,19</b>
DRB1*08	3,2(2)	6,1(21)	0,55	-	-	-	-
DRB1*09	0	2,3(8)	1,30	-	-	-	-
DRB1*10	1,8(1)	2,6(9)	0,13	-	-	-	-
DRB1*11	21,4(12)	22,3(77)	0,01	-	-	-	-
DRB1*12	0	4,1(14)	2,3	-	-	-	-
DRB1*13	19,6(11)	23,7(82)	0,44	-	-	-	-
DRB1*14	1,8(1)	3,8(13)	0,55	-	-	-	-
DRB1*15	35,7(20)	28,3(98)	1,2	-	-	-	-
DRB1*16	3,6(2)	7,2(25)	1,02	-	-	-	-

Как видно из таблицы 5.3.1., закономерностей по распределению аллелей генотипа DRB1\* в группе взрослых пациентов, которые выявлены у детей больных туберкулезом, отмечается только по достоверно редкой встречаемости \*07 аллеля. Расчет показателей относительного риска и

превентивной фракции, как и у детей, позволяет доказать его протективное значение.

Сравнение генетического статуса у больных туберкулезом детей из семейного очага и их больными родственниками представлено в таблице 5.3.2.

Таблица 5.3.2.

**Распределение аллелей HLA DRB1\* в очаге туберкулезной инфекции у больных туберкулезом детей и взрослых**

HLA специфичности	Встречаемость аллелей в группах (%/n)		X <sup>2</sup>	p
	больные туберкулезом взрослые родственники (n=56)	больные туберкулезом дети из семейного контакта (АП n=51)		
DRB1*01	25,0(14)	31,4(16)	0,53	
DRB1*03	5,4(3)	7,8(4)	0,26	-
<b>DRB1*04</b>	<b>19,6(11)</b>	<b>41,2(21)</b>	<b>5,9</b>	<b>p&lt;0,05</b>
<b>DRB1*07</b>	<b>1,8(1)</b>	<b>13,7(7)</b>	<b>5,5</b>	<b>p&lt;0,05</b>
DRB1*08	3,2(2)	7,8(4)	0,9	-
DRB1*09	0	0	0	-
DRB1*10	1,8(1)	1,9(1)	0,004	-
DRB1*11	21,4(12)	13,7(7)	1,08	-
DRB1*12	0	5,8(3)	3,3	-
DRB1*13	19,6(11)	33,3(17)	2,5	-
DRB1*14	1,8(1)	0	0,9	-
<b>DRB1*15</b>	<b>35,7(20)</b>	<b>13,7(7)</b>	<b>6,8</b>	<b>p&lt;0,01</b>
DRB1*16	3,6(2)	9,8(5)	1,64	-

Определено достоверное преобладание носительства предрасполагающим \*04 аллеля. Встречаемость \*07 аллеля у больных туберкулезом детей, было также достоверно частым, также как и \*15 аллеля гена HLA -DRB1\*.

Нами проанализировано распределение аллелей гена HLA-DRB1\* в нескольких семьях с отягощенной наследственностью по туберкулезу, которое позволяет наглядно продемонстрировать значимость носительства предрасполагающего и протективных аллелей гена HLA-DRB1\* в условиях тесного семейного контакта.

**Клинический пример №1.** Ребенок Н. (5л.), и.б. № 104 выявлен по нарастанию чувствительности к туберкулину, после проведенного углубленного обследования поставлен диагноз ТВГЛУ, осложненное течение. По результатам типирования гена HLA-DRB1\* прослежена передача предрасполагающего \*04 аллеля гена HLA-DRB1\* как по линии матери, так и по линии отца (рис.5.3.1.).

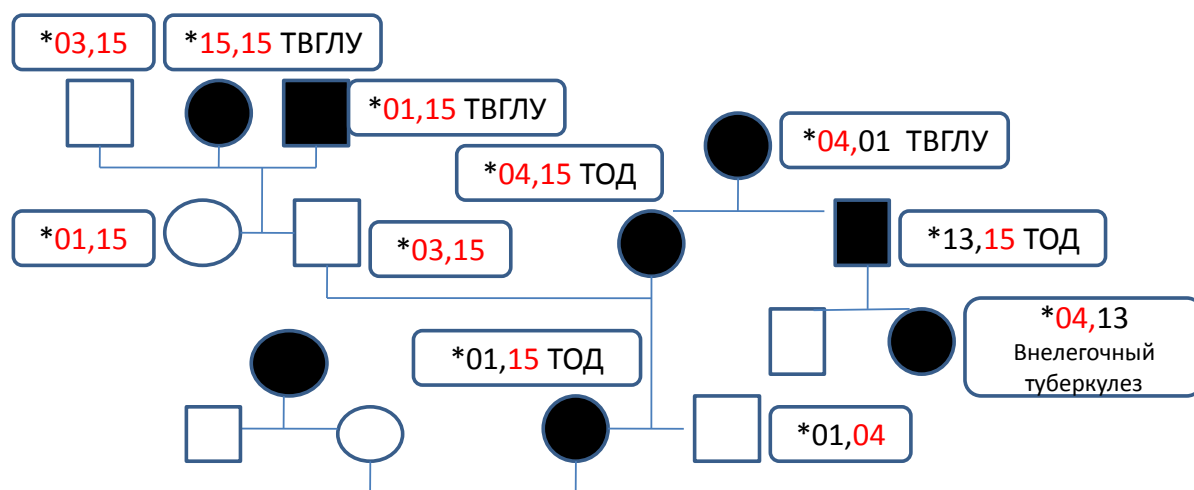


Рисунок 5.3.1. Распределение аллелей гена HLA-DRB1\* в семье с отягощенной наследственностью по туберкулезу

- - больные женского пола;    ■ - больные мужского пола;
- - здоровые женского пола;    □ - здоровые мужского пола;

Родители ребенка перенесли туберкулез органов дыхания (ТОД) - инфильтративный туберкулез легких (МБТ+) до его рождения. При этом мать

является носителем предрасполагающего \*04 аллеля, который передался ребенку. Бабушка со стороны отца, с генотипом \*04,\*13, перенесла внелегочную форму туберкулеза. Предрасполагающий 04\* аллель по материнской линии передался от дедушки \*01,\*04. Бабушка, по материнской линии, перенесла инфильтративный туберкулез легких. Брат матери (\*03,\*15) и его жена (\*01,\*15) не болели туберкулезом, однако их двое детей: девочка 8 лет (\*15,\*15) и мальчик 13 лет (\*01,\*15) перенесли малую форму туберкулеза внутригрудных лимфатических узлов, течение заболевания было стертым с незначительными клиническими проявлениями интоксикационного синдрома, также как у их двоюродной сестры, несмотря на наличие множественного тесного семейного контакта.

**Клинический пример №2.** Девочка Н. (12лет), и.б. № 212 с осложненным течением туберкулеза ВГЛУ была выявлена в 2007г. по нарастанию чувствительности к туберкулину из семейного контакта с больной туберкулезом матерью (рис.5.3.2). Мать, имея в генотипе \*15 аллель, перенесла инфильтративный туберкулез легких. Предрасполагающий \*04 аллель передался ребенку от отца, который был здоров.

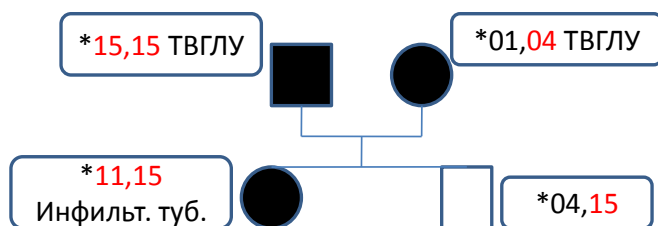


Рисунок 5.3.2. Распределение аллелей гена HLA-DRB1\* в семье с отягощенной наследственностью по туберкулезу ребенка Н.(12лет).

Брат был выявлен по нарастанию чувствительности к туберкулину и направлен на обследование через 7 лет после выявления заболевания у сестры. Мальчик не находился в контакте с матерью. После углубленного обследования у ребенка

диагностирована малая форма ТВГЛУ в фазе кальцинации, которая протекала бессимптомно.

**Клинический пример №3.** Ребенок 5 лет, и.б. №1478 выявлен по контакту с больным туберкулезом отцом. После комплексного фтизиатрического обследования с включением МСКТ диагностирован двусторонний туберкулез ВГЛУ. Носителем предрасполагающего гена явился отец (\*04,\*11), который перенес туберкулез органов дыхания (ТОД) (рис.5.3.3.). Данный пример демонстрирует наличие заболевания у одного ребенка с предрасполагающим \*04 аллелем гена HLA-DRB1\* из тесного семейного контакта, наряду с отсутствием заболевания у сестры (\*11,15), которая находилась в тех же условиях, однако имела в генотипе протективный \*15 аллель.

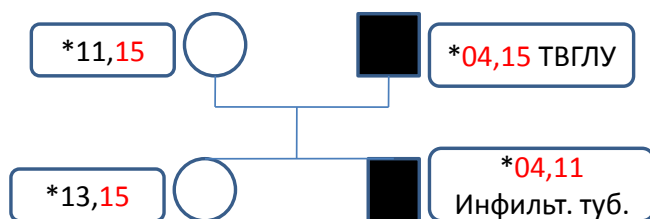


Рисунок 5.3.3. Распределение аллелей гена HLA-DRB1\* в семье ребенка И.(5 лет) из семейного контакта с больным туберкулезом отцом.

**Клинический пример №4.** Ребенок С. 4 года, и.б. №45 выявлен по нарастанию чувствительности к туберкулину (рис.5.3.4). Диагностирован ТВГЛУ. В семье имеет место отягощенная наследственность по туберкулезу, так как бабушка перенесла в юности туберкулез периферических ЛУ. Типирование выявило наличие \*01 и \*13 аллелей. Предрасполагающий \*04 аллель передался от отца.

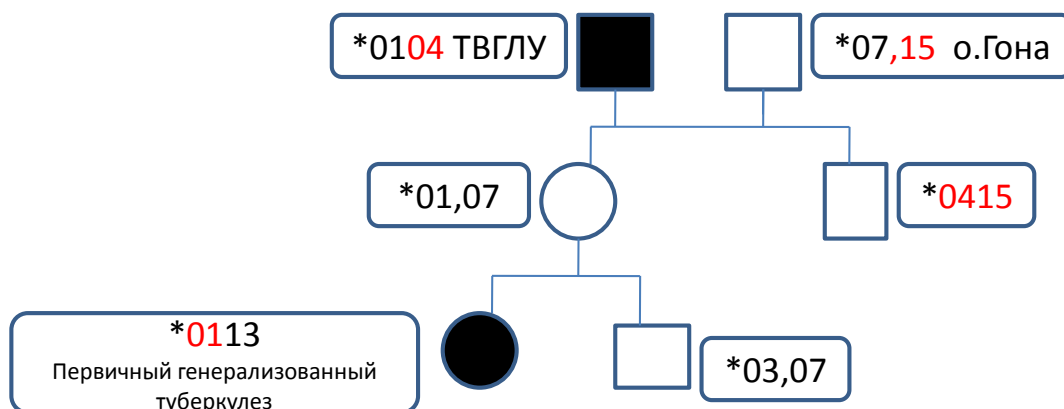


Рис. 5.3.4. Распределение аллелей гена HLA-DRB1\* в семье ребенка 4 лет с отягощенной наследственностью по туберкулезу.

**Таким образом,** полученные данные и представленные клинические примеры демонстрируют значимость генетического статуса в развитии туберкулезной инфекции у детей. Наличие в генотипе HLA-DRB1\* \*04 аллеля свидетельствует о предрасположенности к развитию специфического процесса у детей Северо-Западного региона, тогда как \*07 и \*15 аллели имеют протективное значение для развития туберкулеза. Наличие в генотипе \*01 аллеля может иметь протективное влияние на развитие генерализованных форм специфического воспаления. В условиях тесного семейного контакта при наличии в генотипе предрасполагающего \*04 аллелей гена HLA -DRB1\* необходимо формирование группы высокого риска по развитию туберкулеза у детей из семейного очага туберкулезной инфекции.

## **ГЛАВА 6. ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ДЕТЕЙ С РАЗЛИЧНЫМИ ПРОЯВЛЕНИЯМИ ТУБЕРКУЛЕЗНОЙ ИНФЕКЦИИ, ИХ ВЗАИМОСВЯЗЬ С ГЕНЕТИЧЕСКИМ СТАТУСОМ**

Возникновение и развитие туберкулеза легких практически всегда инициируется явлениями дисбаланса со стороны иммунной системы. Спектр иммунологических нарушений при этом в каждом отдельном случае отличается большим разнообразием. Исследования нарушений в системе Т- и В-звеньев иммунитета при туберкулезе у взрослых показали, что наличие специфического процесса сопровождается комплексом нарушений иммунного статуса, степень выраженности которых коррелирует с тяжестью заболевания, его длительностью и активностью [185]. Генетические факторы влияют на течение туберкулеза, осуществляя свое действие через иммунные механизмы, регулируя иммунный ответ на микобактериальные антигены. Исследований по изучению иммунологических показателей у больных туберкулезом взрослых достаточно много, в детской практике их практически не проводилось. Появление новых методов диагностики туберкулеза у детей, а также определения иммунологических характеристик дают возможность получения новых знаний в области иммунологии туберкулеза у детей.

### **6.1. Изменение иммунологических показателей у детей с различными проявлениями туберкулезной инфекции**

Иммунокомпетентные клетки реагируют на протекающие в организме воспалительные процессы путем изменения степени экспрессии, появления или исчезновения поверхностных или функциональных молекул. В связи с этим, нами изучены иммунологические показатели у детей, инфицированных МБТ (семейный (А) и неустановленный контакт (Б) (I (А+Б) подгруппа) n=66) и больных с туберкулезом органов дыхания (ТОД) (II (А+Б) подгруппа n=69). В таблице 6.1.1. представлены средние значения относительного числа популяции CD-клеток у детей с различными проявлениями туберкулезной инфекции.



**Относительные значения субпопуляционного состава лейкоцитов у детей семейного и неустановленного контакта с различными проявлениями специфического процесса**

Иммунологические показатели	Норма		Дети из семейного и неустановленного контакта (А+Б)	
			Инфицированные МБТ (I подгруппа n=66)	ТОД (II подгруппа n= 69)
		М	М±m	М±m
CD3+%	62,0-76,0	69,0	50,79±0,6	51,71±0,9
CD4+%	30,0-41,0	35,5	32,32±0,6	32,82±0,8
CD8+%	25,0-35,0	30,0	22,16±0,74	22,40±1,16
CD4/CD8	1,0-1,6	1,3	1,63±0,06	1,68±0,06
CD16+%	8,0-16,0	12,0	17,25±0,41	17,0±0,5
CD20+%	12,0-28,0	20,0	17,6±0,41	17,76±0,55
CD25+%	8,0-16,0	12,0	17,04±0,43	16,96±0,49↑
HLAII%	19,5-39,0	29,25	23,58±0,65	25,06±1,08
CD95+%	9,0-15,0	12,0	17,04±0,51	16,59±0,7

Как видно из таблицы 6.1.1., средние значения показателей CD3+, CD4+ и CD8+ снижены как в I, так и во II подгруппе. Также показатели CD16+, CD25+, CD95+ были несколько повышены, что свидетельствует об одинаковой направленности изменений в субпопуляционном составе с момента инфицирования МБТ.

С целью выявления изменений субпопуляционного става лейкоцитов при инфицировании МБТ и заболевании туберкулезом пациенты были разделены на подгруппы по возрасту: а- младшего и в- старшего.

Младшую возрастную подгруппу (от 3 до 6 лет) детей из семейного и неустановленного контакта составили 52 ребенка: Ia - инфицированные МБТ (n=33) и IIa больные с туберкулезом органов дыхания (n=19). Полученные данные по изменению уровня CD- клеток представлены в таблице 6.1.2.

Таблица 6.1.2.

**Относительное содержание популяции CD-клеток у детей младшего возраста с различными проявлениями туберкулезной инфекции**

Показатели субпопуляционного состава лейкоцитов (относ.%)	Нормальные значения		Дети младшего возраста (А+В) (от 3 до 6 лет)	
			Инфицированные МБТ – Ia подгруппа (n=33)	ТОД – IIa подгруппа (n=19)
		М	М±m	М±m
CD3+	62,0-69,0	65,5	50,96±1,25	49,25±1,79
CD4+	30,0-40,0	35,0	31,85±1,24	31,93±2,14
CD8+	25,0-32,0	28,5	23,85±2,12	23,12±1,8
CD4/CD8	1,0-1,6	1,3	1,58±0,07	1,64±0,1
CD16+	8,0-15,0	11,5	17,28±0,04	18,06±1,05
CD20+	21,0-28,0	24,5	18,21±0,62	19,56±1,06
CD25+	8,0-12,0	10,0	17,10±0,76	18,31±0,9
HLAII	27,0-38,0	32,5	24,57±1,0	25,31±1,54
CD95+	9,0-15,0	12,0	17,25±0,82	18,62±2,11

У детей младшей возрастной подгруппы, как видно из таблицы 6.1.2., достоверных различий в подгруппах, не выявлено, однако сохраняется общая тенденция к увеличению содержания CD16+ (NK-клеток), которые являются

клетками адаптивного иммунитета. CD25+ и CD95+ - маркеры активного воспаления регистрируются уже на стадии инфицирования МБТ (I). Содержание общего числа CD20+ было снижено.

Данные по изменению относительного содержания субпопуляций лейкоцитов у детей старшей возрастной группы: инфицированные МБТ (Ib подгруппа n=30) и ТОД (IIb подгруппа n=50), представлены в таблице 6.1.3.

Таблица 6.1.3.

**Относительное содержание популяции CD-клеток у детей старшего возраста с различными проявлениями туберкулезной инфекции**

Показатели субпопуляционного состава лейкоцитов (относ.%)	Нормальные значения		Дети старшего возраста (от 7 до 14 лет) (А+Б)	
			Инфицированные МБТ– Ib подгруппа (n=30)	ТОД – IIb подгруппа (n=50)
		М	М±m	М±m
CD3+	66,0-76,0	71,0	50,23±1,09	52,54±1,03
CD4+	33,0-41,0	37,0	33,29±1,07	33,12±0,94
CD8+	27,0-35,0	31,0	22,41±0,94	22,16±1,44
CD4/CD8	1,0-1,4	1,2	1,56±0,09	1,69±0,07
CD16+	9,0-16,0	12,5	17,20±0,83	16,64±0,56
CD20+	12,0-22,0	17,0	17,32±0,78	17,16±0,63
CD25+	10,0-16,0	13,0	16,85±0,87	16,52±0,57
HLAII	19,5-39,0	29,25	22,32±1,12	24,97±1,36
CD95+	15,0-23,0	19,0	16,38±0,77	15,91±0,61

У больных старшего возраста определяется сниженное CD8+, что свидетельствует о снижении адаптивного иммунитета.

Таким образом, полученные данные по изменению состава субпопуляций лейкоцитов в разных возрастных периодах у инфицированных МБТ и больных туберкулезом детей характеризуют начало активации клеточного звена иммунитета уже на этапе инфицирования МБТ.

Наряду с изучением лимфоцитарного звена иммунитета, проведен анализ функциональной активности нейтрофилов у детей с различными проявлениями туберкулезной инфекции (табл. 6.1.4).

Таблица 6.1.4.

**Фагоцитарная активность нейтрофилов у детей с различными проявлениями туберкулезной инфекции (n=65)**

Показатели функциональной активности	Норма (%)	Среднее значение	Дети из семейного и неустановленного контакта (А+Б)	
			Инфицированные МБТ (n=38)(I подгруппа)	Больные с ТОД (n=27) (II подгруппа)
		М	M±m	M±m
Фагоцитарный индекс (ФИ) (30)	60-80%	70	27,26±1,7↓	21,81±1,9 ↓
Фагоцитарный индекс (ФИ) (120)	60-80%	70	27,47±1,9↓	27,8±1,9↓
Фагоцитарное число (ФЧ) (30)	4-9%	6,5	3,6±0,2↓	<b>3,8±0,4↓</b>
Фагоцитарное число (ФЧ) (120)	4-9%	6,5	3,6±0,18↓	<b>4,1±0,27</b>
Завершенность фагоцитоза	>1		<b>1,04±0,05</b>	<b>0,9±0,06 ↓*</b>

\*- достоверная разница при сравнении показателей I и II группы

Как видно из таблицы 6.1.4, среднее значение ФИ через 30 и 120 минут характеризующего процент фагоцитирующих клеток в подгруппах не отличаются, также как ФЧ через 30 и 120 минут (среднее количество фагоцитированных микробных частиц), которые характеризует

функциональную активность нейтрофилов. Наличие размножения бактериального агента не приводит к активации фагоцитирующих клеток у пациентов больных туберкулезом (II). Данный показатель несколько выше в II, чем в I подгруппе. При этом именно индекс завершенности фагоцитоза (ИЗФ), свидетельствующий о завершении процесса переваривания, достоверно снижен у детей с заболеванием туберкулезом, что подтверждает полученный вывод о наличии иммуносупрессии на этапе инфицирования МБТ, которое далее продолжается при развитии инфекционного процесса.

Полученные данные о функциональной активности нейтрофилов представлены у детей разных возрастных группах у больных и инфицированных МБТ из семейного и неустановленного контакта.

Показатели функциональной активности нейтрофилов у детей младшего возраста представлены в таблице 6.1.5. Отмечается снижение функциональной активности нейтрофилов у пациентов младшего возраста, больных туберкулезом (IIb), о чем свидетельствует низкий процент фагоцитирующих клеток и сниженный ИЗФ.

**Фагоцитарная активность нейтрофилов у детей младшего возраста с различными проявлениями туберкулезной инфекции**

Показатели	Дети младшего возраста (3 – 6) (n=65)		
	норма	Инфицированные МБТ (Ia подгруппа ) (n=24) M±m	Больные ТОД (IIa подгруппа) (n=9) M±m
Фагоцитарный индекс (ФИ) (30)	60-80%	28,37±2,33	21,66±1,5↓
Фагоцитарный индекс (ФИ) (120)	60-80%	27,12±2,4	26,33±3,5 ↓
Фагоцитарное число (ФЧ) (30)	4-9%	3,5±0,3	3,8±0,7
Фагоцитарное число (ФЧ) (120)	4-9%	3,6±0,2	4,09±0,25↑
Завершенность фагоцитоза	>1	1,001±0,07	0,96±0,13↓

Аналогичная закономерность прослеживается и у больных туберкулезом пациентов старшего возраста из семейного и неустановленного контакта (табл. 6.1.6.).

В старшей возрастной группе можно говорить о еще большем нарушении переваривающей функции, так как среднее значение ИЗФ значительно ниже.

**Фагоцитарная активность нейтрофилов у детей старшего возраста с различными проявлениями туберкулезной инфекции**

Показатели активности нейтрофилов	Дети старшего возраста (А+Б) (7 – 14 лет)		
	норма	Инфицированные МБТ (Ib подгруппа) (n=14) M±m	Больные ТОД (IIb подгруппа) (n=18) M±m
Фагоцитарный индекс (ФИ) (30)	60-80%	25,35±2,55	21,88±2,7
Фагоцитарный индекс (ФИ) (120)	60-80%	28,07±3,2	28,66±3,2
Фагоцитарное число (ФЧ) (30)	4-9%	3,7±0,2	3,7±0,5
Фагоцитарное число (ФЧ) (120)	4-9%	3,8±0,3	4,2±0,39↑
Завершенность фагоцитоза	>1	1,06±0,08	<b>0,8±0,07↓</b>

Клиническая картина и особенности течения инфекционных заболеваний напрямую зависит от уровня продукции про- и противовоспалительных цитокинов, их влияния на иммунорегуляторные и эффекторные иммунные механизмы [195].

В данном исследовании нами проведено изучение индуцированных иммуноглобулинов в подгруппах и представлены в таблице 6.1.7.

**Уровень индуцированных цитокинов у детей с различными проявлениями туберкулезной инфекции**

Цитокины	Дети из семейного и неустановленного контакта (А+Б)	
	Инфицированные МБТ (n=66) (I подгруппа) M±m	ТОД (II подгруппа) (n= 69) M±m
TNF-α (инд.) пг/мл	723,6±109,53	<b>849,69±87,5↑</b>
IL-2(инд.) пг/мл	225,97±38,2↓	231,98±26,9
IL-4 (инд.) пг/мл	1,36±0,14	1,54±0,13↑
IFNγ (инд.) пг/мл	17421,22±2202,06	<b>21035,44±1432,53↑</b>

Уровень индуцированных TNF-α и IFNγ у больных туберкулезом детей (II), в сравнении с I подгруппы, отражает наличие воспалительного процесса. Высокий уровень TNF-α у инфицированных МБТ детей I подгруппы свидетельствует о запуске цитокинового каскада. Получение данные о повышенном содержании индуцированного IFNγ, основного медиатора туберкулезного воспаления, определяет преобладание клеточных механизмов (Th1) иммунного ответа над гуморальными (Th2) и позволяет констатировать иммунного ответа, связанного с размножением M.tuberculosis у детей на стадии инфицирования МБТ.

Проведен анализ изменений уровня цитокинов в I и II подгруппе в различных возрастных периодах (а и b).

У детей младшей возрастной группы от 3 до 6 лет (табл. 6.1.8.), которые характеризовались изменением уровня продукции индуцированных TNF-α и IFNγ.



**Уровень индуцированных цитокинов у детей младшего возраста с различными проявлениями туберкулезной инфекции из семейного и неустановленного контакта**

Уровень цитокинов	Дети младшего возраста (от 3 – 6 лет) (А+Б) М±m	
	Инфицированные МБТ (Ia подгруппа)	ТОД (IIa подгруппа) (n=19)
TNF- $\alpha$ (инд.) пг/мл	994,12±153,5	867,5±182,48↓
IL-2(инд.) пг/мл	241,61±35,2	264,96±62,87
IL-4 (инд.) пг/мл	1,43±0,15	1,23±0,18
IFN $\gamma$ (инд.) пг/мл	20741,48±1946,48	22527,22±2916,6↑

Во II подгруппе отмечается снижение уровня индуцированного TNF- $\alpha$  и повышение выработки IFN $\gamma$ , что вероятно связано с угнетением выработки цитокинов в данном возрастном периоде.

Данные по определению уровня индуцированных цитокинов у детей старшего возраста представлены в таблице 6.1.9.

В старшей возрастной группе у больных туберкулезом и инфицированных МБТ детей (А+Б) отмечается повышение уровня TNF- $\alpha$  и IFN $\gamma$ , что характеризует закономерное развитие воспалительного процесса.

**Уровень индуцированных цитокинов у детей старшего возраста с различными проявлениями туберкулезной инфекции из семейного и неустановленного контакта**

Уровень цитокинов	Дети старшего возраста (от 7 – 14 лет ) из семейного и неустановленного контакта М±m	
	Инфицированные МБТ (Ib подгруппа) (n=33)	Больные туберкулезом (Ib подгруппа)(n=50)
TNF-α (инд.) пг/мл	743,61±79,0	<b>844,19±101,03</b>
IL-2(инд.) пг/мл	234,28±4,04	221,77±29,7
IL-4 (инд.) пг/мл	1,58±0,1	1,64±0,15↑
IFNγ (инд.) пг/мл	15245,85±2141,9	<b>20573,7±1746,2↑</b>

Определение титра специфических антител в комплексе сероиммунологических реакций у детей больных туберкулезом является информативным и изученным методом. Однако изменение диагностики специфического процесса у детей, расширение спектра реакций изменение подходов к результатам и их значимость в диагностическом комплексе.

Полученные результаты по титру антител по применяемым в комплексе реакциям с целью выявления наиболее информативной представлены в таблице 6.1.10.

**Титр специфических антител в комплексе сероиммунологических реакций у детей с различными проявлениями туберкулезной инфекции из семейного и неустановленного контакта**

Иммунологические реакции	норма	Пациенты из семейного и неустановленного контакта (А+Б)					
		Инфицированные МБТ (n=66) (I подгруппа)			ТОД(n= 66) (II подгруппа)		
		M±m	<(n/%)	>>(n/%)	M±m	<(n/%)	>>(n/%)
РНГА	1/4-	4,8±0,3	59,1 (39)	40,9 (27)	6,9±1,0↑	57,6 (38)	42,4 (28)
РПК	< 12,0	10,2±1,16	<b>71,2*</b> (47)	<b>28,8</b> (19)	<b>17,69±1,8↑</b>	<b>48,5</b> (32)	<b>51,5*</b> (36)
РПГ	< 5,0	5,0±0,3	72,7 (48)	27,3 (18)	<b>10,12±1,5↑*</b>	59,1 (39)	<b>40,9*</b> (29)
ИФА	<0,2	0,114±0,02	72,7 (48)	27,3 (18)	<b>0,315±0,09↑</b>	<b>72,7</b> (48)	<b>27,3</b> (18)

\* -  $p < 0,01$  достоверные различия в подгруппах I и II

В I подгруппе (n=66) в достоверно высоком проценте случаев (68,2% против 45,5%, где  $\chi^2=6,94$ ,  $p < 0,01$ ) в комплексе серологических реакции титр специфических антител (ПТАТ) был ниже диагностического,

Во II подгруппе (n=66) он был достоверно выше титр ПТАТ (54,5% против 31,8%, где  $\chi^2=6,94$ ,  $p < 0,01$ ), что характеризует наличие активности туберкулезной инфекции.

Высокий титр специфических антител определялся по всему спектру применяемых реакций у детей больных туберкулезом, однако достоверные данные получены только по реакции РПК в I подгруппе обследованных, где число отрицательных реакций было значительно выше в сравнении со II подгруппой. Достоверно часто определялся высокий титр АТ по РПГ в группе пациентов с наличием специфического процесса (II).

Полученные данные позволяют рекомендовать данные реакции в общем комплексе диагностики для определения активности туберкулезной инфекции.

В комплекс серологических реакций нами внедрены новые иммунологические тесты с целью более качественной оценки активности туберкулезной инфекции: anda-TB ELISA и Квантифероновый тест (ELISA).

Данные полученные при определении антител класса IgA, IgG, IgM к микобактериям в сыворотке крови (anda-TB ELISA) у 87 пациентов с различными проявлениями туберкулезной инфекции из семейного и неустановленного контакта представлены в таблице 6.1.11.

### Определение уровня специфических IgA, IgG, IgM

у детей с различными проявлениями туберкулезной инфекции из семейного и неустановленного контакта

Иммуно-глобулины	норма	Пациенты из семейного и неустановленного контакта (А+Б)					
		Инфицированные МБТ (n=39) (I подгруппа)			ТОД (n= 48) (II подгруппа)		
		M±m	<(n/%)	>(n/%)	M±m	<(n/%)	>(n/%)
Ig A пг/мл	<200	58,79±5,2	100% (39)	-	63,10±7,1	95,8 (46)	4,2 (2)
Ig G пг/мл	<125	74,86±5,72	92,3 (36)	7,7 (3)	97,49±10,7	77,1 (37)	<b>22,9*</b> (11)
Ig M пг/мл	<1,0	1,44±0,06	<b>74,4↑</b> (29)	25,6 (10)	1,45±0,07	54,2 (26)	<b>45,8*</b> (22)

\* -  $p < 0,01$  достоверные различия в подгруппах I и II

Существенных различий по уровню Ig A и IgG в подгруппах найдено не было, однако уровень Ig G у больных туберкулезом детей (II подгруппе) был в три раза выше, чем у инфицированных МБТ (I подгруппе). Содержание IgA - снижено как в I, так и во II подгруппе, что означает отсутствие выработки соответствующего данного иммуноглобулина на размножение инфекционного агента - *M. tuberculosis*.

Низкий уровень Ig G (77,1%) в подгруппе больных туберкулезом пациентов свидетельствует о низком иммунном ответе на персистенцию микробного агента, что подтверждает данные полученные ранее по активации клеточного ответа. Содержание IgM было достоверно выше во II подгруппе у

больных туберкулезом детей, который отражает наличие активации иммунного ответа и привлечения фагоцитов в очаг инфекции.

Результаты применяется Квантиферонового теста у пациентов с различными проявлениями туберкулезной инфекции из семейного и неустановленного контакта представлены в таблице 6.1.12.

Таблица 6.1.12.

**Результаты применения Квантиферонового теста у детей с различными проявлениями туберкулезной инфекции**

Иммуно-логические реакции	норма	Пациенты из семейного и неустановленного контакта (А+Б)					
		Инфицированные МБТ (n=64) (I подгруппа)			ТОД (n= 63) (II подгруппа)		
		M±m	≤(n, %)	≥(n,%)	M±m	≤(n,%)	≥(n, %)
Квантиферо-новый тест (МЕ/мл)	<8,0	53,07±24,45	<b>76,6*</b> <b>(49)</b>	23,4 (15)	1013,346±802,61	31,7 (20)	<b>68,3*</b> <b>(43)</b>

\* - p<0,001 достоверные различия в группах I и II

Полученные результаты Квантиферонового теста (КФ) ниже диагностического титра встречались в I подгруппе у здоровых пациентов. У больных туберкулезом детей (II) достоверно часто тест был положительным.

Проведена оценка уровня специфических АТ в комплексе сероиммунологических реакций у детей младшего возраста с разными проявлениями туберкулезной инфекции; данные представлены в таблице 6.1.13.

**Титр специфических антител в комплексе иммунологических реакций у пациентов младшего возраста с различными проявлениями туберкулезной инфекции из семейного и неустановленного контакта**

Иммунологические реакции	Пациенты младшего возраста (А+Б) (3 до 6 лет)		
	норма	Ia подгруппа Инфицированные МБТ(n=33)	IIa подгруппа Больные туберкулезом (n=19)
РНГА	1/4-	4,8±0,4	<b>5,5±0,8</b>
РПГ	<12,0	9,5±1,5	<b>14,25±2,8*</b>
РПК	<5,0	4,06±0,5	<b>7,0±2,4</b>
ИФА	<0,2	0,11±0,03	<b>0,33±0,25</b>

Как видно из таблицы 6.1.13., высокий титр специфических АТ отмечался по всему спектру реакций у больных туберкулезом пациентов (II), однако достоверные различия получены только между подгруппами только по РПГ.

Титр специфических АТ в комплексе серологических реакций у детей старшей возрастной группы имел высокие значения у больных туберкулезом во IIб подгруппе (табл. 6.1.14).

**Титр специфических антител в комплексе иммунологических реакций у пациентов старшего возраста с различными проявлениями туберкулезной инфекции из семейного и неустановленного контакта**

Иммунологические реакции	Пациенты старшего возраста А+Б (7 до 14 лет)		
	норма	Инфицированные МБТ (Ib) (n=33)	Больные туберкулезом (IIb) (n=50)
РНГА	1/4-	5,25±0,55	7,4±1,4↑
РПГ	<12,0	9,6±1,4	<b>18,8±2,21↑*</b>
РПК	<5,0	5,21±1,2	<b>11,19±1,8↑*</b>
ИФА	<0,2	0,11±0,02	<b>0,32±0,09</b>

\* -  $p < 0,01$  достоверные различия в группах Ib и IIb

Значительно выше титр специфических АТ зафиксирован во IIb подгруппе по РПГ и РПК (7,0±2,4 против 11,19±1,8).

Полученные результаты позволяют говорить об отсутствии существенных различий между результатами иммунологических реакции в разных возрастных группах у больных туберкулезом детей.

Проведено сравнение показателей иммунологических тестов у пациентов II подгруппы больных туберкулезом из семейного и неустановленного контакта; данные представлены в 6.1.15.



**Титр специфических антител в комплексе иммунологических реакций у пациентов больных туберкулезом из семейного и неустановленного контакта**

Иммунологические реакции	норма	Пациенты из семейного (А) и неустановленного (Б) контакта			
		Больные туберкулезом из семейного контакта (АИ) (n=120)		Больные туберкулезом из неустановленного контакта (БИ) (n=80)	
		≤(n/%)	≥(n/%)	≤(n/%)	≥(n/%)
РНГА	1/4-	41,7 (50)	58,3 (70)	68,7 (55)	31,3 (25)
РПК	< 12,0	62,5 (75)	37,5 (45)	63,7 (44)	36,3 (29)
РПГ	< 5,0	68,3 (82)	31,7 (38)	73,8 (59)	26,2 (21)
ИФА	<0,2	79,2 (95)	20,8 (25)	82,5 (66)	17,5 (14)

По представленным в таблице данным уровень титра специфических АТ по всему спектру реакции у больных туберкулезом детей из неустановленного и семейного контакта существенно не различаются.

## **6.2. Изменение иммунологических показателей у детей из семейного и неустановленного контакта с туберкулезом органов дыхания**

Изменение иммунологических показателей отражают не только воспалительный процесс, но и фазу специфического процесса [184] при туберкулезе у взрослых, у детей подобных исследований не проводилось.

Пациенты из семейного и неустановленного с туберкулезом органов дыхания II (А+Б) подгруппы (n=69) были разделены по наличию фазы инфильтрации (IIa) (n=23), фазы обратного развития и кальцинации (IIb) (n=29), а также фазы инфильтрации и кальцинации, которое характеризует хроническое течение специфического процесса (IIc) (n=17). Сравнивались показатели иммунного ответа у пациентов из II подгруппы (А+Б) с данными, полученными в I подгруппе (А+Б) у инфицированных МБТ детей и между собой.

Изменение значений субпопуляционного состава лейкоцитов у детей из семейного и неустановленного контакта на разных фазах специфического процесса представлено в таблице 6.2.1.

**Иммунологические показатели у детей больных туберкулезом из семейного и неустановленного контакта на разных фазах специфического процесса**

CD-клетки (%)	Норма		Дети с ТОД II (А+Б) подгруппа (n= 69)		
		М	Фазы специфического процесса		
			IIa инфильтрация (n=23)	IIb кальцинация (n=29)	IIc инфильтрация и кальцинация (хроническое течение) (n=17)
			М±m	М±m -	М±m
CD3+	62,0-76,0	69,0	52,0±1,88	51,85±1,16	51,1±1,96
CD4+	30,0-41,0	35,5	31,65±1,97	33,07±1,15	33,87±1,59
CD8+	25,0-35,0	30,0	<b>20,85±1,54</b>	24,51±2,31	<b>20,68±1,15</b>
CD4/CD8	1,0-1,6	1,3	1,8±0,13	1,59±0,09	1,60±1,02
CD16+	8,0-16,0	12,0	<b>17,45±0,81</b>	16,71±0,72	16,93±1,23
CD20+	12,0-28,0	20,0	18,05±0,93	17,35±0,89	18,12±1,12
CD25+	8,0-16,0	12,0	<b>17,05±0,97</b>	<b>17,42±0,76</b>	16,06±0,8
HLAII	19,5-39,0	29,25	24,03±1,92	24,60±1,16	26,81±3,06
CD95+	9,0-15,0	12,0	<b>17,9±1,68</b>	<b>16,03±0,88</b>	15,93±1,10

При сравнении средних значений относительного числа популяции CD<sup>+</sup>- клеток достоверных изменений во II подгруппе на разных фазах воспаления не получено, однако результаты позволяют проследить некоторые тенденции характеризующие фазы специфического процесса. Во всех подгруппах снижено среднее значение содержания CD8<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>, CD20<sup>+</sup>, HLAII и повышено CD25<sup>+</sup> лимфоцитов, при этом на фазе кальцинации

отмечается снижение CD3+- маркеров активного воспалительного процесса и распознавания антигена, а при хроническом течении процесса - повышение CD95+, клеток экспрессирующих рецептор апоптоза.

При хроническом течении специфического процесса отмечается достоверное снижение CD16+ (NK-клеток) (67,7%) на фоне высокого уровня CD20+ клеток (82,4%), активация которых вызывает апоптоз В-клеток. Прослеживается зависимость между высоким уровнем популяции CD3+ и CD4+ лимфоцитов на фазе инфильтрации ( $r=0,81$ ). Также как во IIa и IIb, во IIc подгруппе наблюдаются тесные корреляционные связи между нарастанием содержания В- лимфоцитов CD20+ и CD16+(NK) ( $r=0,85$ ), CD25+и CD20+ ( $r=0,57$ ), CD95+ и CD20+ ( $r=0,87$ ). Приведенный анализ субпопуляционного состава лейкоцитов может быть полезен при анализе активности туберкулезной инфекции у детей с наличием специфического воспаления и пониманием процессов происходящих в организме с целью прогноза его течения, а также подбора терапии.

Анализ уровня индуцированных цитокинов у 66 пациентов II подгруппы в сравнении с I подгруппой ( $n=66$ ), представлен в таблице 6.2.2. Отмечается умеренное преобладание средних значений на разных фазах специфического воспаления и характеризуется повышением содержания TNF- $\alpha$  (инд.) и INF- $\gamma$  (инд.) во II подгруппе. Синергизм действия TNF- $\alpha$  (инд.) и INF- $\gamma$  (инд.) усиливает гибель микобактерий и способствует формированию гранулем, ограничивающих микобактериальную инфекцию [184].

**Иммунологические показатели у детей больных туберкулезом на разных фазах специфического процесса из семейного и неустановленного контакта**

Цитокины	Инфицированные МБТ (I подгруппа n=66) M±m	Пациенты с ТОД (II подгруппа А+Б) (n= 66) M±m		
		IIa фаза инфильтрации (n=20)	IIb фаза Обратного развития и кальцинации (n=29)	IIc фаза инфильтрация и кальцинация (хроническое течение) (n=17)
TNF- $\alpha$ (инд.) пг/мл	723,6±109,53	865,67±249,28	816,74±92,05	891,89±167,64
IL-2(инд.)	225,97±38,2↓	219,71±48,19	259,27±44,45	196,06±44,28
IL-4 (инд.) пг/мл	1,36±0,14	1,3±0,14	1,6±0,21↑	1,6±0,27↑
IFN $\gamma$ (инд.) пг/мл	17421,22± 2202,06	19319,64± 3234,07	23696,49± 2090,99↑	18024,38± 2680,83

Увеличение средних значений IL-4 (инд.) зафиксировано только на у пациентов из IIb и IIc подгруппы, что дает возможность использовать данные показатели цитокинового профиля как прогностические при переходе специфического воспалительного процесса на фазу обратного развития и кальцинации, а также при хроническом его течении.

Изменение уровня специфических АТ в подгруппах детей представлено в таблице 6.2.3.

**Показатели серологических реакций у детей больных туберкулезом из семейного и неустановленного контакта на разных фазах специфического процесса**

Иммуно-логические реакции	I подгруппа Инфицированные МБТ (n=66)	Пациенты с ТОД ( II подгруппа (А+Б) (n= 69)		
		Фазы специфического процесса		
		IIa инфильтрации (n=23)	IIb обратного развития и кальцинации (n=29)	IIc инфильтрации и кальцинации (хроническое течение) (n=17)
		M±m	M±m	M±m
РНГА	4,8±0,3	10,2±3,5↑	5,5±0,6	5,75±0,81
РПГ	10,2±1,16	<b>19,6±3,7↑*</b>	15,5±2,6↓	<b>19,43±3,09↑</b>
РПК	5,0±0,3	<b>12,2±3,4↑*</b>	7,07±1,6	<b>12,5±3,34↑***</b>
ИФА	0,114±0,02	0,349±0,2↑	0,354±0,15↑	0,243±0,90↓

\*-  $p < 0,05$  достоверные показатели при сравнении I и IIa

\*\* -  $p < 0,05$  достоверные показатели при сравнении I и IIb

\*\*\* -  $p < 0,001$  достоверные показатели при сравнении I и IIc

Преобладание высокого титра АТ во IIa подгруппе (фаза инфильтрации) зафиксировано по РПГ ( $p=0,02$ ), РПК ( $p=0,05$ ). Во IIc подгруппе отмечалось повышение титра специфических АТ по РПГ и РПК, совпадающие по результатам со IIa подгруппой.

Полученные данные определяют значимости серологических реакций РПК и РПГ в прогнозировании течения специфического процесса от фазы инфильтрации и при переходе на фазу уплотнения и кальцинации, характеризующуюся угасанием выработки специфических АТ.

Уровень сенсibilизированных иммуноглобулинов специфическим антигеном у детей на разных фазах туберкулезного воспаления представлен в таблице 6.2.4.

Таблица 6.2.4.

**Определение уровня специфических иммуноглобулинов у детей с туберкулезом органов дыхания на разных фазах специфического процесса**

Иммунологические реакции	инфицированные МБТ ( I подгруппа (А+Б) (n=66)	Пациенты с ТОД (II подгруппа (А+Б) (n= 48)		
		Фаза специфического процесса		
		IIa инфильтрации (n=14)	IIb Обратного развития и кальцинации (n=19)	IIc инфильтрации и кальцинации (хроническое течение) (n=15)
	M±m	M±m	M±m	M±m
Ig A пг/мл	53,01±4,3	97,72±17,19↑	49,03±7,3↓	48,62±9,3↓
Ig G пг/мл	74,86±5,72	<b>106,08±19,18↑*</b>	98,63±20,4	88,02±15,25
Ig M пг/мл	1,44±0,06	1,28±0,125	1,6±0,11	1,4±0,13

\*-  $p < 0,01$  достоверные показатели при сравнении I и IIa

У пациентов IIa подгруппы уровень IgG ( $p=0,01$ ), IgG ( $p=0,05$ ) был достоверно выше, что характерно для начала специфического воспаления и может служить прогностическим критерием.

Показатели изменения результатов квантиферонового теста на разных фазах специфического воспаления представлены в таблице 6.2.5.

**Результаты квантиферонового теста у детей с ТОД на разных фазах специфического процесса из семейного и неустановленного контакта**

Иммуно-логические реакции	инфицированные МБТ (I (A+B) подгруппа (n=66)	Пациенты с ТОД (II подгруппа (A+B) (n= 69)		
		Фазы специфического процесса		
		IIa инфильтрации (n=23)	IIb Обратного развития и кальцинации (n=29)	IIc инфильтрации и кальцинации (хроническое течение) (n=17)
		M±m	M±m	M±m
Кванти-фероновый тест (МЕ/мл)	54,47±25,06	57,09±52,33	<b>1908,98±1703,73*</b>	<b>389,67±133,65**</b>

\*-  $p < 0,001$  достоверные показатели при сравнении I и IIa

\*-  $p < 0,01$  достоверные показатели при сравнении I и IIa

Высокие значения квантиферонового теста достоверно часто определялись во IIb и IIc подгруппах, что характеризует переход на фазу обратного развития специфический процесс и его хроническое течение.

Самые высокие значения КФ-теста отмечались на фазе кальцинации ( $p=0,001$ ) и тесно коррелирует с диагностикой ВГЛУ на фазе обратного развития по результатам МСКТ ( $r=0,63$ ).

Проведен анализ активности нейтрофилов у 26 детей больных туберкулезом на разных фазах специфического воспаления представлены в таблице 6.2.6.



**Показатели нейтрофильного звена иммунитета у детей больных  
туберкулезом на разных фазах специфического процесса**

Фагоцитарная активность	Инфицирован- ные МБТ (I подгруппа (А+Б) (n=66)	ТОД (II подгруппа (А+Б) (n= 26)	
		Фазы специфического процесса	
		IIa подгруппа Инфильтрация (n=16)	IIb подгруппа Обратного развития и кальцинации (n=10)
Фагоцитарный индекс (ФИ) (30)(60-80%)	27,26±1,7	<b>25,68±3,8 ↑</b>	20,9±3,8 ↓
Фагоцитарный индекс (ФИ) (120)(60-80%)	27,47±1,9	<b>30,06±13,4↑</b>	23,6±3,1↓
Фагоцитарное число (ФЧ) (30) (4-9)	3,6±0,2	<b>4,04±0,5 ↑</b>	3,8±0,6 ↓
Фагоцитарное число (ФЧ) (120) (4-9)	3,6±0,18	<b>4,72±0,4 ↑</b>	3,4±0,2 ↓
Завершенность фагоцитоза (ИЗФ) (>1)	1,04±0,05	<b>0,8±0,1↓</b>	1,0±0,08

В фазе инфильтрации (IIa) отмечается нарастание активности нейтрофилов и увеличение их числа, однако завершения фагоцитоза не происходит. В то же время в фазе обратного развития и кальцинации отчетливо наблюдается снижение переваривающей (ФЧ) и поглотительной (ФИ) способности нейтрофилов, при этом фагоцитоз становится завершенным.

Изменение нейтрофильного звена иммунитета в комплексе с нарастанием титра специфических АТ и уровнем CD-клеток характеризуют активность туберкулезной инфекции. Сопоставление данных клинических и

рентгенологических необходимо при осуществлении оценки течения и прогнозе специфического процесса у детей с туберкулезом органов дыхания.

### **6.3. Ассоциированные с иммунологическими показателями аллели гена HLA-DRB1\* у детей с различными проявлениями специфического процесса**

В последние годы возросший интерес исследователей к фундаментальным и прикладным аспектам врожденного иммунитета открыл новые перспективы в изучении механизмов реализации генетической предрасположенности, ассоциированной с HLA, а именно взаимосвязи врожденного и адаптивного иммунного ответа. Целесообразность такого рода исследований обусловлена доказанной сильной корреляционной связью между иммунной реактивностью организма и восприимчивостью к инфекционным заболеваниям, сопровождающимся гранулематозным характером воспалительного процесса [323].

Связь генетического статуса и иммунологической реактивности доказана на примере других инфекционных, в том числе гранулематозных, заболеваний, например лепры у взрослого населения [188]. При туберкулезе у детей такие исследования практически отсутствуют.

Расчет частоты встречаемости аллелей гена HLA-DRB1\* у больных туберкулезом детей из семейного и неустановленного контакта с высоким титром специфических АТ представлен в таблице 6.3.1.

**Распределение аллелей гена HLA-DRB1\* у детей больных туберкулезом с высоким титром специфических антител из семейного и неустановленного контакта в сравнении с группой контроля**

HLA специфичность	Распределение аллелей в группах (% , n)		X <sup>2</sup>	p
	Дети больные туберкулезом с высоким титром антител (А+Б) (n=62)	группа контроля (n=346)		
DRB1*01	33,9(21)	24,0(84)	2,53	
DRB1*03	12,9(8)	16,5(57)	0,50	
<b>DRB1*04</b>	<b>38,9(21)</b>	<b>21,1(73)</b>	<b>4,83</b>	<b>p&lt;0,05</b>
<b>DRB1*07</b>	<b>12,9(8)</b>	<b>27,5(95)</b>	<b>5,9</b>	<b>p&lt;0,05</b>
DRB1*08	6,5(4)	6,1(21)	0,01	
DRB1*09	3,2(2)	2,3(8)	0,18	
DRB1*10	1,6(1)	2,6(9)	0,21	
DRB1*11	16,1(10)	22,3(77)	1,17	
DRB1*12	8,1(5)	4,1(14)	1,91	-
DRB1*13	32,3(20)	23,7(82)	2,05	
DRB1*14	0	3,8(13)	2,41	
<b>DRB1*15</b>	<b>16,1(10)</b>	<b>28,3(98)</b>	<b>4,01</b>	<b>p&lt;0,05</b>
DRB1*16	8,1(5)	7,2(25)	0,05	

При расчете встречаемости аллелей генотипа DRB1\* у больных детей с высоким титром специфических АТ выявлено достоверно высокое содержание предрасполагающего к развитию туберкулеза \*04 аллеля, а также достоверно низкого содержания протективных \*07 и \*15 аллелей. Данные аллели

ассоциированы с активностью гуморального и клеточного ответа, что, вероятно, и определяет развитие специфического воспаления, как заболевания, развивающегося на фоне измененного иммунного ответа.

Уровень специфической сенсибилизации у детей по пробе Манту 2 ТЕ является одним из основных критериев наличия активности туберкулезной инфекции до настоящего времени, которая расценивается как значительная при развитии средней и высокой чувствительности.

Математический расчет распределения аллелей гена HLA-DRB1\* у детей больных туберкулезом со средней и высокой чувствительностью к туберкулину приведены в таблице 6.3.2.

У пациентов с высокой и средней чувствительностью к туберкулину по п.Манту 2ТЕ определяется достоверно высокий процент содержания \*04 предрасполагающего аллеля, низкая встречаемость \*07 и \*15 протективных аллелей генотипа DRB1\*, которые определяют низкий уровень специфической сенсибилизации при развитии заболевания туберкулезом и \*04 аллель определяет высокий уровень сенсибилизации.

**Распределение аллелей гена HLA-DRB1\* у больных туберкулезом детей с высоким и средним уровнем специфической сенсibilизации по п.Манту 2ТЕ из семейного и неустановленного контакта в сравнении с группой контроля**

HLA специфичность	Распределение аллелей в группах (% , n)		X <sup>2</sup>	p
	Дети больные туберкулезом с высоким и средним уровнем специфической сенсibilизации (А+Б) (n=56)	группа контроля (n=346)		
DRB1*01	33,9(19)	24,0(84)	2,35	
DRB1*03	12,5(7)	16,5(57)	0,56	
<b>DRB1*04</b>	<b>33,9(19)</b>	<b>21,1(73)</b>	<b>4,49</b>	<b>p&lt;0,05</b>
<b>DRB1*07</b>	<b>14,3(8)</b>	<b>27,5(95)</b>	<b>4,38</b>	<b>p&lt;0,05</b>
DRB1*08	7,1(4)	6,1(21)	0,09	
DRB1*09	12,5(7)	2,3(8)	13,92	<b>p&lt;0,001</b>
DRB1*10	1,8(1)	2,6(9)	0,13	
DRB1*11	17,9(10)	22,3(77)	0,54	
DRB1*12	7,1(4)	4,1(14)	1,08	-
DRB1*13	35,7(20)	23,7(82)	3,67	
DRB1*14	0	3,8(13)	2,17	
<b>DRB1*15</b>	<b>12,5(7)</b>	<b>28,3(98)</b>	<b>6,25</b>	<b>p&lt;0,05</b>
DRB1*16	8,9(7)	7,2(25)	0,20	

Таким образом, в соответствии с полученными данными основные иммунологические изменения, которые имеют место при заболевании туберкулезом у детей: нарушение фагоцитарной активности нейтрофилов,

высокий уровень специфической сенсибилизации и специфических антител - тесно связаны с генетическим статусом ребенка. Наличие \*04 аллеля гена HLA-DRB1\* определяет активацию гуморального иммунного ответа, что непосредственно отражается на развитии заболевания туберкулезом.

Полученные результаты дают возможность глубокого понимания иммуногенетических процессов происходящих в организме ребенка, уже на уровне инфицирования МБТ и при развитии специфического туберкулезного воспаления.

## ГЛАВА 7. АЛГОРИТМ ОБСЛЕДОВАНИЯ ДЕТЕЙ ИЗ СЕМЕЙНОГО КОНТАКТА С ПРИМЕНЕНИЕМ СОВРЕМЕННЫХ ИММУНОГЕНЕТИЧЕСКИХ И ЛУЧЕВЫХ МЕТОДОВ ОБСЛЕДОВАНИЯ

Полученные в ходе исследования данные позволяют дифференцированно подходить к обследованию детей из семейного и неустановленного контакта с учетом факторов риска и наличия активности туберкулезной инфекции.

К факторам высокого риска отнесены: близкородственный бациллярный контакт, в особенности с больными туберкулезом матерями, выделяющими МБТ, низкий социальный уровень проживания семей, генетическая предрасположенность. Отсутствие близкородственного бациллярного контакта, средний и высокий социальный уровень жизни, носительство протективных \*07, \*15 аллелей гена HLA-DRB1\* - являются факторами низкого риска развития туберкулезной инфекции.

На рисунке 7.1. отражен стандартный комплекс обследования детей из контакта в условиях ПТД.

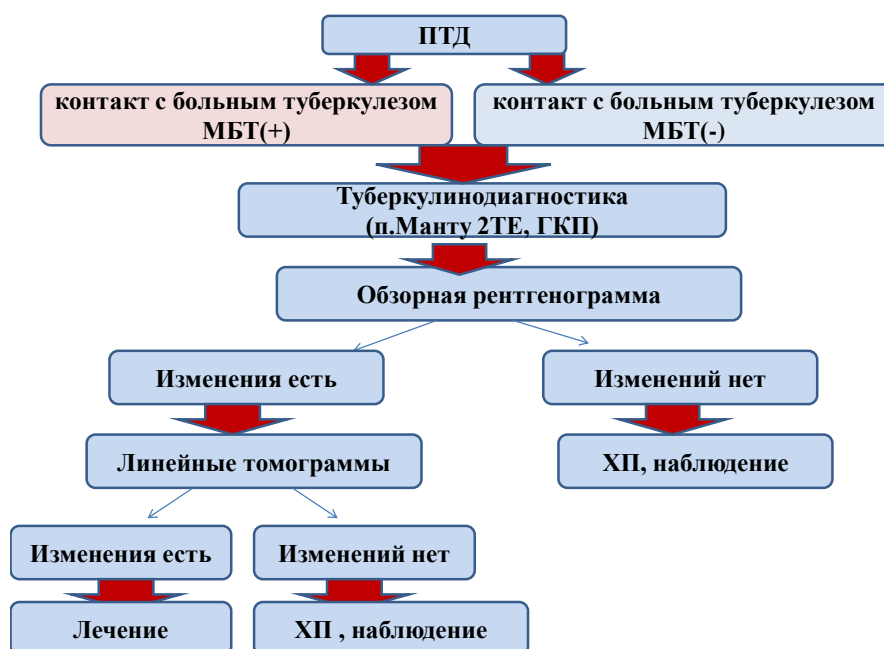


Рис.7.1. Стандартный алгоритм обследования и наблюдения детей из контакта

Как видно на рисунке 7.1, в настоящее время в условиях ПТД ребенок наблюдается и проходит обследование только с учетом бактериовыделения у больного туберкулезом, т.е. без учета других характеристик контакта и факторов риска. Большая часть пациентов получает курсы химиопрофилактики (ХП), которые, как доказано в главе 3, не имеют существенного терапевтического эффекта и приводят к выявлению специфического процесса уже на фазе обратного развития и кальцинации, которая характеризует хроническое течение и как доказано, приводит к появлению вторичных форм заболевания.

Полученные в ходе настоящего исследования данные позволили сформировать новый подход в обследовании и наблюдении пациентов из семейного очага инфекции с применением современных иммунологических и лучевых методов, который отражен на рис.7.6.



Рис.7.2. Предлагаемый алгоритм обследования и наблюдения детей из семейного очага инфекции



При поступлении под наблюдение ПТД у ребенка необходимо оценить степень риска развития специфического процесса - высокий и низкий.

Высокий риск – наличие близкородственного контакта (мать, отец, брат и сестра), контакта с бактериовыделителем, в особенности с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ), низкого социального уровня жизни (семьи с низким прожиточным уровнем, в условиях низкого комфорта (коммунальные квартиры, общежития и т.д.), с родителями, ведущими асоциальной образ жизни).

Низкий риск - контакт с дальними родственниками, проживающими отдельно (бабушка, дедушка, дядя, тетя), отсутствие бактериовыделения МБТ, высокий социальный уровень жизни (семьи с высоким прожиточным уровнем, организованные, проживающие в комфортных условиях (отдельные квартиры, дома и т.д.)).

На уровне ПТД проводится разделение потоков пациентов, с определением схемы наблюдения и обследования.

Детям с высоким риском развития заболевания необходимо углубленное обследование без проведения предварительных профилактических мероприятий. Наличие низкого уровня риска диктует необходимость проведения диагностических мероприятий, где наличие активности туберкулезной инфекции определяет дальнейшую тактику ведения ребенка.

При активности туберкулезной инфекции - проведение МСКТ (КТ-ангиография при необходимости). Выявление специфических изменений по данным лучевой диагностики требуют проведения фибробронхоскопии (ФБС) в условиях стационара.

Отсутствие активности туберкулезной инфекции разделяет тактику ведения детей разного возраста.

Пациенты до 4 лет, вакцинированные БЦЖ и с отрицательным Диаскинтестом, может наблюдаться педиатром по месту жительства.

Отрицательный Диаскинтест у детей в возрасте от 5 до 14 лет свидетельствует об отсутствие активности туберкулезной инфекции на фоне

инфицирования МБТ, что требует проведения обзорной рентгенограммы грудной клетки для исключения специфических изменений.

Отсутствие изменений по обзорной рентгенограмме грудной клетки на фоне отсутствия активности туберкулезной инфекции и низком риске развития специфического процесса также дает возможность не наблюдать ребенка в условиях ПТД.

Выявление изменений на обзорной рентгенограмме требует проведения ребенку МСКТ, с целью выявления локализации специфического процесса. Изменения, выявленные при лучевом обследовании, требуют проведения соответствующего дообследования в условиях специализированного стационара, с последующим курсом специфической терапии.

Отсутствие специфических изменений во ВГЛУ, легочной ткани и других органах на фоне отсутствия активности туберкулезной инфекции также дает возможность не наблюдать ребенка в ПТД.

Тактика обследования и наблюдения детей с высоким риском развития туберкулезной и инфекции описана на рисунке 7.3.



Рис.7.3. Обследование пациентов из семейного очага в условиях специализированного стационара при наличии высокого уровня активности туберкулезной инфекции

Высокий риск развития туберкулезной инфекции на фоне выраженной активности туберкулезной инфекции (клинические проявления интоксикационного синдрома, положительный Диаскинтест) требует разобщения бациллярного контакта и проведения углубленного обследования ребенка с определением аллелей гена HLA-DRB1\*.

Диагностика и тактика ведения ребенка определяется полученными в результате обследования данными. Оценка генетического статуса ребенка позволяет прогнозировать риск развития и особенности течения туберкулезной инфекции. Тактика ведения пациентов при определении генетического статуса представлена на рисунке 7.4.



Рис. 7.4. Влияние особенностей генетического статуса HLA- DRB1\* на развитие специфического процесса

Как было доказано в главе 5 настоящего исследования \*07, \*15 аллели гена HLA DRB1\* являются протективными и позволяют прогнозировать благоприятное течение у инфицированных МБТ детей. Наличие в генотипе ребенка \*04 аллеля гена HLA-DRB1\* даже при отсутствии дополнительных факторов риска, предрасполагает к развитию туберкулеза органов дыхания (ТОД), в связи с чем необходимо формирование группы риска с длительным

наблюдением, а в случае заболевания - более интенсивным курсом терапии и проведением ежегодного обследования.

Определение активности и фазы специфического процесса необходимо определять только в комплексе с современными лучевыми методами исследования, при этом именно клинические и иммунологические реакции первыми будут реагировать на развитие специфического процесса.

Внедрение в современный комплекс диагностики новых иммунологических методов обследования в совокупности с оценкой выраженности интоксикационного синдрома, которые представлены на рисунке 7.5., является первостепенной задачей.

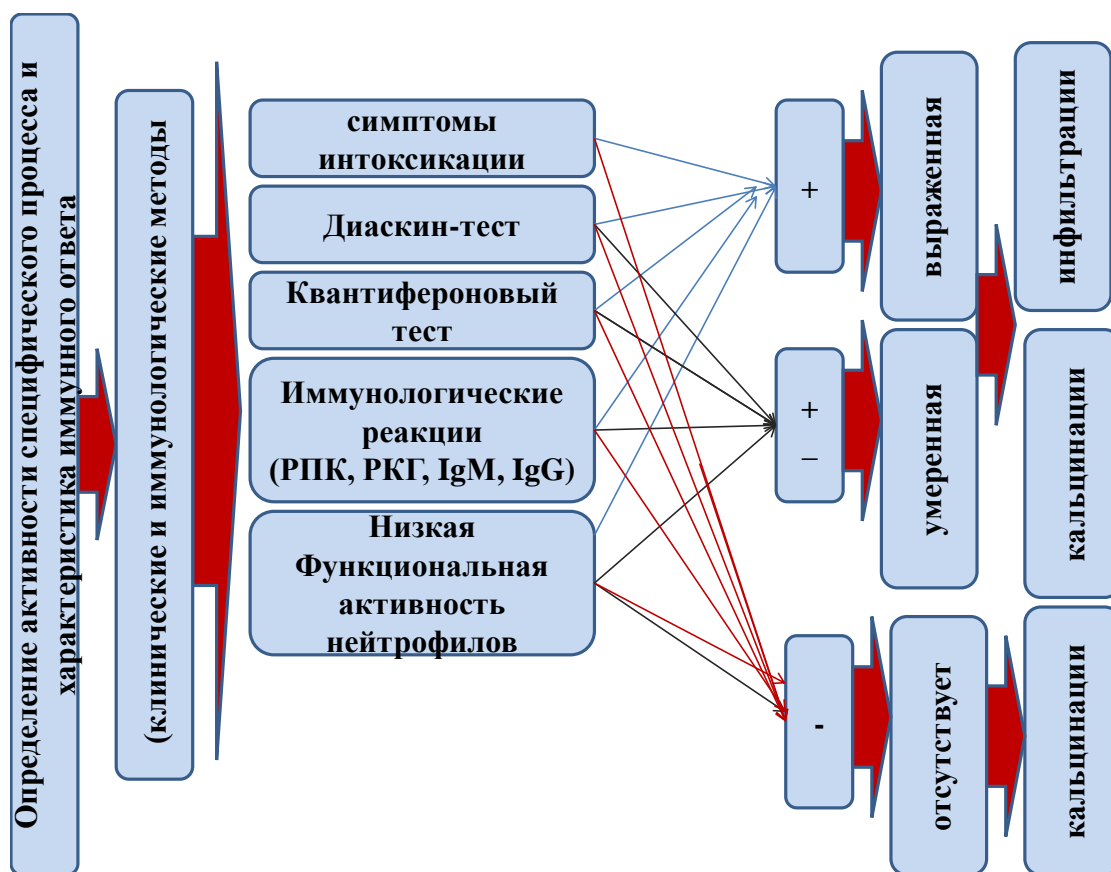


Рис.7.5. Определение активности туберкулезной инфекции и особенностей иммунного ответа ребенка в условиях специализированного стационара.

При оценке активности туберкулезной инфекции выраженность интоксикационного синдрома имеет существенное значение, в особенности при

сочетании с положительными иммунологическими тестами (Диаскинтест, Квантифероновый тест) и высоким титром специфических АТ.

Доказано достоверное преобладание выраженного интоксикационного синдрома у пациентов с положительным Диаскинтестом и Квантифероновым тестом, которые характеризуют выраженную активность туберкулезной инфекции. Сомнительный результат тестов требует их перестановки через 3 месяца.

В комплексе сероиммунологических реакций наиболее значимы РПК, РПГ, IgM, IgG. Нарастание титра специфических антител отмечается в фазе инфильтрации по РПК, РПГ, IgM, IgG. При сочетании фазы инфильтрации и кальцинации об активности туберкулезной инфекции следует судить по РПК, РПГ. Остальные сероиммунологические реакции реагируют на наличие специфического воспаления достоверно реже. В фазе кальцинации отмечается завершение специфического воспаления и, как следствие, снижение титра АТ.

Фагоцитарная активность нейтрофилов возрастает в фазе инфильтрации, при этом фагоцитоз остается незавершенным, что существенно влияет на нейтрализацию инфекционного агента.

Таким образом, сочетание умеренного или выраженного интоксикационного синдрома, положительных иммунологических тестов и незавершенности фагоцитоза свидетельствует о наличии активности туберкулезной инфекции.

Отсутствие симптомов интоксикации на фоне отрицательных иммунологических тестов (Диаскин тест, Квантифероновый тест), низкого уровня специфических антител РПК, РПГ и уровня IgM, IgG, завершенности фагоцитоза характеризуют отсутствие специфического воспаления, либо завершении фазы обратного развития с отсутствием активности туберкулезного процесса.

Основной клинической формой туберкулеза у детей является поражение внутригрудных лимфатических узлов (ВГЛУ), таким образом диагностика

направлена на определение специфического процесса именно в данной локализации.

Высокая информативность лучевых методов (МСКТ и МСКТ-ангиография) в диагностике специфических изменений во ВГЛУ и легочной ткани позволяет определить не только локализацию, но фазу специфического воспаления, что отражено на рисунке 7.6.



Рис.7.6. Определение локализации и фазы специфического процесса при проведении рентгенологического комплекса обследования с применением МСКТ и КТ-ангиографии.

Тактика выбора метода лучевого исследования зависит от изменений на обзорной рентгенограмме грудной клетки. При нормальной тени корней легких и отсутствии изменений в средостении на обзорной рентгенограмме проводилась МСКТ.

Выявление патологических изменений в средостении и корнях легких в момент проведения МСКТ требует принятия решения о необходимости проведения КТ-ангиографии. Выявление на обзорной рентгенограмме

изменений корней легких и средостения является показанием к проведению КТ-ангиографии, для дифференцирования сосудистого компонента, истинного увеличения лимфатических узлов и других патологических изменений средостения.

Выявленные изменения при проведении лучевого комплекса обследования требуют сопоставления с проведенными иммунологическими клиническими методами определением активности туберкулезной инфекции с целью формирования диагноза. Тактика при формировании диагноза представлена на рисунке 7.7.



Рис.7.7. Формирование диагноза туберкулеза у детей после прохождения лучевого комплекса обследования

Как видно на рисунке 7.7, формирование диагноза складывается из полученных в ходе комплексного обследования данных, учитывающих наличие активности туберкулезной инфекции и характера изменений при проведении МСКТ и КТ-АГ:

- 1. нарастание чувствительности к туберкулину по пробе Манту 2ТЕ у ребенка младше 4 лет при **отрицательном** результате иммунологического комплекса обследования соответствует **поствакцинной аллергии**, что дает возможность не наблюдать его в противотуберкулезном диспансере (ПТД). У данной группы пациентов нет показаний к рентгенологическому обследованию;

- 2. у детей инфицированных МБТ старшего возраста (7-14 лет) отсутствие активности туберкулезной инфекции по результатам комплексного иммунологического обследования и отсутствию специфических изменений при рентгенологическом комплексе обследования (МСКТ и КТ-ангиографии) дает возможность не наблюдать ребенка в условиях ПТД. При наличии специфических изменений по результатам рентгенологического обследования в фазе кальцинации диктуют необходимость проведения соответствующих лечебных мероприятий по Приказу РФ.

- 3. наличие **выраженной активности туберкулезной инфекции, независимо от возраста**, на фоне отсутствия изменений по результатам рентгенологического комплекса обследования, требует проведения профилактических мероприятий. Визуализация множественных мелких (0,2-0,5см) лимфатических узлов свидетельствует о латентном течении туберкулезной инфекции (при условии отсутствия перенесенных неспецифических заболеваний вызывающих реакцию лимфатических узлов в течении шести месяцев до обследования) и требует проведения превентивного курса терапии.

Активность туберкулезной инфекции в сочетании с реакцией ВГЛУ от 0,5 до 1,0 см с возможным изменением структуры и численности у детей и свидетельствует о ТВГЛУ («малая» форма). Выявление лимфатических узлов свыше 1,0 см в диаметре, в соответствии с клинико-лабораторными показателями, а также наличие обызвествлений в лимфатических узлах требует постановки диагноза: ТВГЛУ с проведением ФБС. Лечение проводится в соответствии со степенью выраженности специфических изменений и возможных осложнений туберкулезного воспаления.



**Таким образом,** наблюдение и обследование детей из семейного очага инфекции должно проводиться с учетом факторов риска развития заболевания туберкулезом, выраженной степени активности туберкулезной инфекции по результатам комплексного иммунологического обследования, наличия специфических изменений, выявленных при лучевой диагностике (МСКТ и КТ-ангиографии), а также с учетом иммуногенетических особенностей организма ребенка.

Аналогичный комплекс диагностики туберкулеза органов дыхания может быть применен у детей из неустановленного контакта с больным туберкулезом.

Определен риск развития туберкулезной инфекции в данной группе наблюдения с учетом неблагоприятных эпидемических, социальных и иммуногенетических генетических факторов. Разработан комплекс диагностических мероприятий с применением современных иммуногенетических и лучевых методов обследования, на основании которых определены критерии, характерные для специфического воспаления.

Доказан высокий риск развития заболевания у детей из близкородственного бациллярного семейного контакта с больным туберкулезом, где особую группу риска составляют пациенты с бактериовыделением и низким социальным уровнем жизни. Наличие данных факторов риска должно определять разделение потоков детей при поступлении в ПТД и направлять на обследование в специализированный стационар.

## ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

В клиниках ФГБУ «СПб НИИФ» Минздрава РФ (отделение детской фтизиатрии и хирургии костно-суставного туберкулеза у детей и подростков) и Республиканском центре иммунологического типирования тканей ФГБУ «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии» ФМБА с 2008 по 2011 гг. обследовано 748 человек, в том числе 320 детей с различными проявлениями туберкулезной инфекции, 82 взрослых родственника детей из семейного очага инфекции и 346 взрослых доноров (группа контроля при генотипировании HLA-DRB1\*).

Из 320 обследованных детей 141 человек был в возрасте от 3 до 6 лет - (44,1%;  $m=5,2\pm 0,2$ ) и от 7 до 14 лет – 179 пациентов (55,9%;  $m=12,6\pm 0,4$ ). Число мальчиков (53,1%;170) и девочек (46,9%;150) в возрастных группах значительно не отличалось.

По результатам массовой туберкулинодиагностики выявлен 151(47,2%) пациент. Каждый третий ребенок направлен на обследование в ПТД по контакту с больным туберкулезом (34,1%; 109) и каждый четвертый уже с наличием жалоб (17,5%;56), 4 - после проведения рентгенологического обследования. Наличие пациентов с жалобами в возрасте от 3 до 6 лет преобладало в два раза в сравнении с детьми старшего возраста.

В периоде раннего инфицирования МБТ находилась одна треть обследованных (30,9%;99) детей, практически все младшего возраста. Большинство пациентов (52,2%;167) имели срок инфицирования МБТ от 2 до 5 лет, без различий в возрастных группах. Профилактические мероприятия проведены у каждого четвертого ребенка (25,3%;81).

С целью решения поставленных задач пациенты распределены на две группы по наличию контакта: 160 из семейного (А группа) и 160 из неустановленного контакта с больным туберкулезом (Б группа).

Дана характеристика детей из группы А в современных условиях, проведено сравнение ее с группой Б.

Среди выявленных детей только каждый второй ребенок из А группы направлен на обследование в противотуберкулезный диспансер по контакту с больным туберкулезом (56,2%; 91), каждый четвертый по результатам массовой туберкулинодиагностики (23,1%; 37) и в связи с появлением жалоб –(18,1%; 29). В А группе, в сравнении с группой Б, число выявленных по контакту пациентов превалирует, что обосновано, однако высокий процент выявления детей по жалобам свидетельствует о низкой работе в очаге инфекции, низкой информативности методов ранней диагностики заболевания и позднему направлению на обследование в противотуберкулезный диспансер (ПТД).

Анализ сроков инфицирования МБТ в группах наблюдения показал, что одна треть обследованных группы А находилась в раннем периоде инфицирования МБТ (30,9%; 99) - практически все дети младшего возраста (61,6%; 45). Получена достоверное преобладание числа инфицированных МБТ пациентов младшего возраста в группе А, чем в Б (61,6% против 38,2%,  $\chi^2=7,7$   $p<0,01$ ). В Б группе инфицирование МБТ происходило в более поздний период (26,1% против 4,6%,  $\chi^2=15,6$   $p<0,001$ ).

Профилактические мероприятия в группе А и Б проведены в одинаковом проценте случаев, однако дети заболели независимо от ее проведения, что ставит под сомнение необходимость проведения данных мероприятий после проведения стандартного комплекса обследования в ПТД.

По результатам комплексного фтизиатрического обследования с включением лучевых методов (МСКТ и КТ-ангиографии) пациенты разделены на подгруппы: АІ (n=40) и БІ (n=79)- инфицированные МБТ (здоровые), АІІ (n=120) и БІІ (n=81) – больные туберкулезом, что позволило провести их сравнение, выявить особенности и рассчитать показатели диагностической значимости применяемых методов.

Сравнительная оценка социального статуса в подгруппах позволила выявить преобладание низкого социального уровня в АП в два раза в сравнении с больными в БП подгруппе (63,4% (АП) против 35,0% (БП),  $\chi^2=9,8$   $p<0,01$ ), по сравнению с инфицированными МБТ в два (АІ -35,0%) и три раза (БІ - 18,6%) соответственно.

Профилактические мероприятия в семейном очаге инфекции как у инфицированных МБТ (АІ), так и у больных туберкулезом (АП) детей проводились с одинаковой частотой (35,0% (АІ) и 36,7% (АП)), что не повлияло на отсутствие заболевания в АІ и на развитие туберкулезного процесса в АП.

Клинически в подгруппе АП в сравнении с БП преобладал выраженный интоксикационный синдром (69,2% (АП) против 22,2%(БП)), что может быть обусловлено длительностью инфицирования МБТ и тяжестью специфического процесса. Наличие сопутствующей патологии существенного влияния на выраженность клинической симптоматики не оказывала, так как достоверных различий в группах сравнения не выявлено.

У детей, больных туберкулезом из семейного очага инфекции (АП), преобладал близкородственный контакт с бактериовыделителем (63,1%), при этом в 65,6% родители имели осложненные и распространенные формы специфического процесса.

В 61,1%(22) случаев у бактериовыделителей установлена множественная лекарственная устойчивость, что предполагает развитие лекарственно-устойчивого (ЛУ) туберкулеза у детей, находящихся в контакте.

Проведен анализ близкородственного контакта с родственниками первой линии (мама, папа, сестра, брат) и с родственниками второй линии (бабушка, дедушка, дядя и тетя). Учитывалось наличие бактериовыделения и чувствительности МБТ, выделенной родственником.

Среди родителей, особую угрозу, представляют больные туберкулезом матери (62,5% против 37,5%, где  $\chi^2=7,00$ ,  $p<0,01$ ), которые в подавляющем

большинстве являлись бактериовыделителями (68,5%). В структуре клинических форм у детей из семейного контакта с больными туберкулезом матерями преобладает тяжелое и осложненное течение заболевания (37,2%; 13) с переходом в хроническое течение (20,0%; 7) специфического процесса, в 17,1%(6) с бактериовыделением.

Число заболевших детей из семейного контакта (А) значительно выше (75,0% против 50,6%, где  $\chi^2=20,3$ ,  $p<0,001$ ), чем в группе сравнения (Б). В структуре клинических форм заболевания преобладал туберкулез органов дыхания (ТОД) (57,5% (А) против 37,5% (Б)). Генерализованные формы специфического процесса выявлены у каждого пятого ребенка с одинаковой частотой в группах сравнения, что, возможно, связано с иммунологическими особенностями организма ребенка.

Сравнение структуры клинических форм в группе А при наличии бациллярного и абациллярного контакта число заболевших пациентов из бациллярного контакта достоверно выше (82,2% против 62,7%, где  $\chi^2=7,5$   $p<0,01$ , соответственно). В абациллярном контакте в два раза преобладает число инфицированных МБТ детей (37,3% против 18,8%, где  $\chi^2=7,5$   $p<0,01$ ), что свидетельствует о высокой степени риска заболевания туберкулезом ребенка при отсутствии изоляции его из бациллярного контакта.

С целью выявления наиболее информативных иммунологических методов при определении активности туберкулезной инфекции проведено изучение зависимости выраженности интоксикационного синдрома, данных рентгенологического (МСКТ) обследования с различной чувствительностью по п.Манту 2 ТЕ, ДСТ и Квантифероновому тесту у 120 детей из семейного и неустановленного контакта (А+Б).

При анализе проявлений интоксикационного синдрома с результатами проведенных тестов отсутствие интоксикационного синдрома достоверно часто отмечалось при отрицательных ДСТ (66,7%) и КФ (80,9%), тогда как

положительные результаты сопровождались выраженными его проявлениями (ДСТ - 67,3% и КФ- 59,6%). Аналогичной зависимости у детей с различной чувствительностью к туберкулину по п.Манту 2ТЕ не выявлено.

Сравнение результатов иммунологических тестов (Диаскин-тест, п.Манту 2ТЕ) с рентгенологической (МСКТ и КТ-АГ) характеристикой внутригрудных лимфатических узлов у обследованных детей выявило реакцию ВГЛУ более 0,5см при средней чувствительности к туберкулину в половине случаев (52,0%) и в 80% случаев при положительных иммунологических тестах (ДСТ и КФ). У пациентов с отрицательным ДСТ в 43,1% ( $p < 0,01$ ,  $\chi^2 = 8,53$ ) ВГЛУ не визуализировались. ЛУ размером менее 0,5см на фоне положительного ДСТ (31,1%) характеризуют латентное течение туберкулезной инфекции.

Положительный ДСТ в 80,4% случаев сопровождается реакцией ВГЛУ более 0,5см ( $p < 0,001$ ,  $\chi^2 = 33,93$ ), что может быть расценено как «малая форма» ТВГЛУ, в 73,9% ( $p < 0,001$ ) - отложением извести.

Результаты КФ- теста подтверждали данные об активности туберкулезной инфекции по ДСТ у детей с низкой чувствительностью к туберкулину в 28,6% случаев, что незначительно выше показаний ДСТ. При средней чувствительности по п.Манту 2ТЕ у каждого третьего ребенка ДСТ и КФ –тест был положительным (34,7%) и характеризуют о наличии активности туберкулезной инфекции. Отмечались отрицательные результаты тестов (ДСТ (20,8%) и КФ (25,0%)) у каждого четвертого ребенка с высокой чувствительностью к туберкулину, что может свидетельствовать о ложноположительной реакции на туберкулин.

Сопоставление данных Диаскинтеста и Квантиферонового теста зафиксировало совпадение результатов в 95% случаев. Отрицательный КФ-тест в 98,3% случаев сопровождался отрицательным ДСТ и положительный КФ-тест в 87,5% - положительным ДСТ. Таким образом, полученные результаты

дают основание считать диагностическую значимость данных тестов сопоставимой.

В ходе проведенного комплекса фтизиатрического обследования с применением МСКТ и КТ-ангиографии у 51(42,5%) ребенка данные о наличии специфических изменений отсутствовали (I (А+Б) подгруппа - инфицированные МБТ) и у 69 (57,5%) пациентов был поставлен диагноз туберкулеза (II (А+Б) подгруппа).

Проведено сравнение результатов иммунологических методов у инфицированных МБТ и больных туберкулезом детей из семейного и неустановленного контакта (А+Б).

Уровень специфической сенсибилизации по пробе Манту 2ТЕ в I и II подгруппах не отличался. Более чем в 70% случаев у детей как в I (А+Б), так и во II (А+Б) подгруппе определялся низкий и средний характер чувствительности к туберкулину.

По ДСТ получено достоверное преобладание отрицательных результатов у инфицированных МБТ детей (75,0%) и положительных у больных туберкулезом пациентов (75,9%).

Расчет показателей диагностической значимости иммунологических методов выявил низкую информативность пробы Манту2ТЕ (ДЧ=89,4%, ДС=19,7%, ДЭ=54,5%, ПЦПР=53,2%), как метода определения активности туберкулезной инфекции и высокую значимость ДСТ (ДЧ=78,8%, ДС=89,4%, ДЭ=77,5%, ПЦПР=91,1%, ПЦОР=72,4%) и КФ-теста (ДЧ=69,6%, ДС=96,0%, ДЭ=80,0%, ПЦПР=96,0%, ПЦОР=69,6%).

Рентгенологическое обследование является необходимым для определения локализации и фазы специфического процесса. В настоящее время в комплексе стандартного фтизиатрического обследования обязательным является проведение обзорной рентгенограммы и линейных томограмм средостения. Компьютерная томография (КТ) рекомендована как дополнительный метод при

подозрении на малую форму ТВГУ. Расширение опыта применения КТ во фтизиопедиатрической практике позволило констатировать выявление ВГЛУ у детей инфицированных МБТ более чем в половине случаев на фазе обратного развития и кальцинации, что свидетельствует о поздней диагностике специфического процесса при проведении стандартного рентгенологического обследования, который обладает низкими возможностями визуализации и описанием характеристики всех групп ЛУ. Кроме того, в настоящее время нет четких критериев диагностики специфических изменений во ВГЛУ по данным КТ и показаний к применению компьютерной ангиографии (КТ-АГ).

Сравнение диагностических возможностей стандартных (обзорная рентгенограмма и линейные томограммы) и современных рентгенологических методов (МСКТ и КТ-ангиографии) у детей с различными проявлениями туберкулезной инфекции выявил гипердиагностику бронхопульмональной (40%), парааортальной (20%), гиподиагностику паратрахеальной (10%) и отсутствие диагностики трахеобронхиальной групп ЛУ по стандартным методам. Отложение извести во ВГЛУ диагностировано примерно в одинаковом проценте случаев (25,2% против 21,1%), однако при проведении линейных томограмм в 66,2% выявляется парааортальный кальцинат, который по МСКТ у подавляющего большинства (90%) визуализируется как кальцинат аортальной связкой.

Проведен анализ результатов МСКТ и КТ-ангиографии (n=86) в диагностике ТВГЛУ для определения показаний к их назначению и информативности. Доказано, что КТ-ангиография является методом выбора при подозрении на увеличение ЛУ бронхопульмональной группы (19,8% против 0,4%, где  $\chi^2=16,04$ ,  $p<0,001$ ).

Расчет показателей диагностической ценности методов рентгенологического обследования показал, высокую значимость МСКТ и КТ-ангиографии (ДЧ=95,5%, ДС=95,1%, ДЭ=95,3%) в диагностике специфических изменений во ВГЛУ, тогда как данные показатели у обзорной рентгенограммы



(ДЧ=93,5%, ДС=9,4%, ДЭ=51,4%) и линейных томограмм в два раза ниже (ДЧ=85,7%, ДС=23,3%, ДЭ=54,5%).

Полученные данные легли в основу разработанного алгоритма диагностики туберкулеза у детей с включением современных иммунологических и лучевых методов, который позволяет определить наличие истинной активности туберкулезной инфекции, выявить специфическое поражение ВГЛУ и легочной ткани.

Тактику ведения ребенка поступившего под наблюдение ПТД определяет результат Диаскинтеста (при наличии противопоказаний Квантиферонового теста).

Изучение распределения аллелей гена HLA-DRB1\*, а также определение их влияния на развитие и течение туберкулезной инфекции проведено при сравнении генотипа DRB1\* у детей с различными проявлениями туберкулезной инфекции (I (А+В)(n=90) и II (А+В) (n=98) подгруппам) и группой контроля (n=346).

Во II (А+В) подгруппе больных туберкулезом пациентов достоверно часто встречался \*04 аллель при сравнении с группой контроля (36,7% против 21,1%,  $\chi^2=10,08$ ,  $p<0,01$ ), что характеризует его как предрасполагающую, которая подтверждена при расчете показателей относительного риска (RR=2,17) и этиологической фракции (EF=0,19).

Установлена низкая встречаемость \*07 и \*15 аллелей генотипа HLA-DRB1\* во II подгруппе, что определяет их протективную роль, которая подтверждена значениями превентивной фракции (RF), которые составляют 0,15 и 0,12 соответственно.

Значимые в развитии туберкулезной инфекции аллели DRB1\* у детей имеют четкое распределение в виде снижения встречаемости \*07, 15\* аллелей DRB1\* у больных туберкулезом детей в сравнении с инфицированными МБТ и

еще более низкую встречаемость у пациентов с генерализованными формами туберкулеза.

Полученные данные определяют предрасположенность к заболеванию при наличии в генотипе DRB1\*04 аллеля, что увеличивает риск развития туберкулеза органов дыхания (ТОД) у инфицированных МБТ детей Северо-Западного региона. Дети с \*07 и \*15 аллелей являются защищенными от развития туберкулеза, что подтверждено данными, полученными при сравнении генотипов HLA-DRB1\* у пациентов из семейного очага туберкулезной инфекции.

Проведено сравнение генотипов HLA-DRB1\* у 82 взрослых родственников детей из семейного очага инфекции, среди которых 56 больных туберкулезом и 26 здоровых. Распределение аллелей гена HLA- DRB1\* сравнивали у родственников больных туберкулезом детей и группы контроля, а также с генотипом пациентов АII подгруппы. У больных туберкулезом родственников установлена редкая встречаемость \*07 аллеля (1,8% против 27,5%, где  $\chi^2=17,47$ ,  $p<0,01$ ), который также редко определялся во АII подгруппе. Расчет показателей  $RR=0,04$  и  $PF=0,19$ , как и у детей, доказывает его протективную роль в развитии туберкулеза в данной группе.

Полученные результаты позволяют формировать группу высокого риска по развитию туберкулезной инфекции у детей из семейного очага при наличии в генотипе HLA- DRB1\* 04 аллеля.

Определение иммунологических показателей проведено у инфицированных МБТ (I (А+Б) подгруппа  $n=66$ ) и больных туберкулезом органов дыхания (II (А+Б) подгруппа  $n=69$ ). Выявлено снижение относительного числа иммунокомпетентных клеток - CD3+, CD4+ и CD8+ в I подгруппе и повышение CD16+, CD25+, CD95+ во II подгруппе, что свидетельствует о начале иммунного ответа на фоне инфицирования МБТ ребенка.

Анализ функциональной активности нейтрофилов у детей с различными проявлениями туберкулезной инфекции (n=60), выявил значительное снижение завершенности фагоцитоза во II подгруппе ( $0,9 \pm 0,06$  против  $1,04 \pm 0,05$ ), что объясняет невозможность обеспечить качественную нейтрализацию и гибель возбудителя у больного туберкулезом ребенка.

При изучении уровня продукции индуцированных цитокинов, I подгруппа является контрольной (инфицированные МБТ дети). Выявлена стойкая тенденция к повышению уровня TNF- $\alpha$  и IFN $\gamma$  у больных туберкулезом детей (II), которая отражает наличие специфического воспаления. Высокий уровень TNF- $\alpha$  у пациентов в I подгруппе свидетельствует о запуске цитокинового каскада. Повышение содержания индуцированного IFN $\gamma$  - позволяет констатировать активацию воспаления, связанного с размножением *M.tuberculosis* у детей на стадии инфицирования МБТ.

Диагностический титр специфических антител по всему спектру сероиммунологических реакций (РНГА, РПК, РПГ, ИФА) у детей инфицированных МБТ (I n=66) был ниже (68,2% против 45,5%), тогда как во II подгруппе (n=66) достоверно выше (54,5% против 31,8%), что отражает наличие активности туберкулезной инфекции. Доказано, что наиболее информативными в комплексе реакций являлись РПК и РПГ.

Проведено определение уровня специфических антител класса IgA, IgG, IgM в сыворотке крови (anda-TB ELISA) у 87 пациентов с различными проявлениями туберкулезной инфекции. Различий по уровню Ig A в подгруппах не получено. У детей больных ТОД достоверно часто определялся высокий уровень Ig G и Ig M. Низкое содержание Ig G (77,1%) во II подгруппе свидетельствует о сниженном иммунном ответе при активации *M. tuberculosis*, что коррелирует с уровнем клеточного ответа. Высокий уровень IgM в I подгруппе (74,4%) тесно коррелирует с высокой фагоцитарной активностью нейтрофилов и отражает привлечение их в очаг инфекции при наличии активации иммунного ответа. На различных фазах специфического процесса

иммунный ответ имеет свои особенности. В фазе инфильтрации у больных с ТВГЛУ отмечается достоверное преобладание высокого титра специфических антител по РПГ ( $19,6 \pm 3,7$ ,  $p=0,02$ ), РПК ( $12,2 \pm 3,4$ ,  $p=0,05$ ), IgG ( $106,08 \pm 19,18$ ,  $p=0,05$ ), что определяет их значимость при определении активности туберкулезной инфекции на ранних этапах развития специфического процесса. Квантифероновый тест напротив показал достоверное преобладание положительных результатов на фазах на фазе уплотнения и кальцинации ( $57,09 \pm 52,33$  против  $1908,98 \pm 1703,73$   $p=0,001$ ).

Расчет частоты встречаемости аллелей генотипа DRB1\* у больных детей с высоким титром специфических АТ позволил выявить высокий уровень встречаемости \*04 аллеля (38,9% против 21,1%, где  $\chi^2=4,83$ ,  $p<0,05$ ), который определяет активацию гуморального ответа у детей больных туберкулезом (II). Редкое распределение \*07 (12,9% против 27,5%, где  $\chi^2=5,9$ ,  $p<0,05$ ) и \*15 (16,1% против 28,3%, где  $\chi^2=4,01$ ,  $p<0,05$ ) аллелей генотипа DRB1\* у больных туберкулезом с низким уровнем титра специфических антител свидетельствует об отсутствии активации гуморального ответа.

Изучение распределения аллелей гена HLA-DRB1\* у детей больных туберкулезом со средней и высокой чувствительностью к туберкулину по п. Манту 2ТЕ, показал, что у пациентов с высокой и средней чувствительностью к туберкулину определяется высокий процент содержания предрасполагающего \*04 (33,9% против 21,1%, где  $\chi^2=4,49$ ,  $p<0,05$ ), который определяет активацию высокого уровня специфической сенсibilизации.

Результаты исследования позволили сделать вывод о взаимосвязи особенностей генотипа HLA-DRB1\* с характером иммунного ответа у детей с различными проявлениями туберкулезной инфекции.

Полученные характеристики дают возможность глубокого понимания патогенеза воспалительных процессов, происходящих в организме ребенка уже на уровне инфицирования МБТ и при развитии туберкулеза.

Полученные в ходе исследования данные легли в основу разработанной тактики ведения и диагностики наиболее уязвимой категории детей из семейного очага туберкулезной инфекции.

Полученные в ходе исследования данные позволили дифференцированно подойти к обследованию и наблюдению детей, в особенности из семейного очага инфекции с учетом факторов риска развития инфекции.

Факторы риска подразделяются на две группы. К факторам высокого риска отнесены: близкородственный бациллярный контакт, в том числе с матерью больной туберкулезом, низкий социальный уровень проживания семей, генетическая предрасположенность и высокий уровень сенсibilизации. Отсутствие близкородственного бациллярного контакта, средний и высокий социальный уровень жизни, носительство протективных \*07, \*15 аллелей гена HLA-DRB1\* являются факторами низкого риска развития туберкулезной инфекции.

При поступлении ребенка под наблюдение ПТД врачу необходимо оценить степень риска развития специфического процесса, что будет определять тактику обследования, наблюдения и проведения профилактических мероприятий.

Детям с высоким риском развития заболевания необходимо проведение углубленного обследования без предварительных профилактических мероприятий. Наличие низкого уровня риска развития заболевания туберкулезом диктует необходимость проведения диагностических мероприятий для определения активности туберкулезной инфекции и дальнейшей тактике ведения ребенка.

Наличие активности туберкулезной инфекции у детей с низкими факторами риска требует проведения качественного рентгенологического обследования (МСКТ и КТ-ангиография, при необходимости). Специфические

изменения, определяемые при лучевой диагностике, обосновывают проведение углубленного обследования в условиях специализированного стационара.

Отсутствие активности туберкулезной инфекции по данным современных иммунологических тестов определяет изменение тактики ведения детей в разных возрастных периодах.

Пациенты в возрасте от 1 до 4 лет вакцинированные БЦЖ с отрицательным Диаскинтестом могут не наблюдаться в ПТД. Данная категория детей может наблюдаться фтизиопедиатром по IV группе ДУ в поликлинике по месту жительства.

Отрицательный Диаскинтест у детей в возрасте от 5 до 14 лет свидетельствует об отсутствии активности туберкулезной инфекции на фоне инфицирования МБТ, что требует проведения обзорной рентгенограммы грудной клетки для исключения возможных туберкулезных изменений. Отсутствие изменений при рентгенологическом обследовании на фоне отсутствия активности туберкулезной инфекции и низкого риска развития специфического процесса дает возможность не наблюдать ребенка в условиях ПТД.

При наличии изменений на обзорной рентгенограмме органов грудной клетки необходимо проведение лучевого комплекса обследования (МСКТ) с целью выявления возможных специфических изменений. Изменения, обнаруженные при лучевой диагностике, требуют проведения соответствующего дообследования в условиях специализированного стационара с последующим проведением специфической терапии. Отсутствие специфических изменений во ВГЛУ, легочной ткани и других органах на фоне отсутствия активности туберкулезной инфекции также дает возможность не наблюдать ребенка в ПТД.

**Таким образом,** наблюдение и обследование детей из семейного очага инфекции должно проводиться с учетом факторов риска развития заболевания туберкулезом, степени выраженности активности туберкулезной инфекции по результатам комплексного иммунологического обследования, наличия специфических изменений, выявленных при лучевой диагностике (МСКТ и КТ-ангиографии), а также с учетом иммуногенетических особенностей организма ребенка.

Полученные данные и разработанный новый подход раннего выявления, диагностики и профилактики туберкулезной инфекции позволяют предотвратить развитие заболевания у наиболее уязвимой категории детей, что поможет справиться с неблагоприятной эпидемической ситуацией в России и предотвратить рост бациллярного ядра в будущем.

## ВЫВОДЫ

1. Дети из семейного очага инфекции в 65,7% имели близкородственный контакт, в половине случаев с бактериовыделителем (52,7%), где особую группу составляют больные туберкулезом матери.
2. В структуре клинических форм у больных туберкулезом пациентов из семейного контакта преобладает туберкулез органов дыхания, который выявляется в фазе уплотнения и кальцинации (54,3%), характеризуется хроническим течением (20,0%), появлением вторичных форм (5,7%) с бактериовыделением и высоким риском МЛУ МБТ, что свидетельствует о дефектах раннего выявления и диагностики заболевания.
3. Установлена высокая значимость Диаскинтеста (диагностическая чувствительность (ДЧ) - 78,8%; диагностическая специфичность (ДС) - 89,4%) и Квантиферонового теста ( ДЧ - 69,6%, ДС - 96,6%) в сравнении с п.Манту 2 ТЕ (ДЧ - 89,4%, ДС - 19,6%) как методов раннего выявления и определения активности туберкулезной инфекции у детей.
4. Доказана необходимость применения и высокая значимость лучевых методов (многосрезовой компьютерной томографии и компьютерной ангиографии) в диагностике туберкулеза у детей (ДЧ-90,9%, ДС-97,3%, ДЭ-94,0%), где КТ-ангиография является методом выбора при подозрении на увеличение бронхопульмональной группы ЛУ.
5. Определено влияние особенностей генетического статуса в развитии туберкулезной инфекции у детей. Наличие в генотипе \*04 аллеля гена HLA-DRB1\* у больных туберкулезом детей доказывает его предрасполагающую роль, \*07 и \*15 аллели гена HLA-DRB1\* - протективную.
6. Активация гуморального звена иммунитета, а именно высокий уровень специфических антител по реакциям потребления комплемента, пассивного гемолиза, специфических иммуноглобулинов М и G, определяется наличием \*04 аллеля в генотипе HLA-DRB1\*, низкий уровень гуморального ответа ассоциирован с \*07 и \*15 аллелями у больных туберкулезом детей.



7. Выявлены факторы риска развития туберкулезной инфекции у детей из семейного очага инфекции: генетическая предрасположенность, близкородственный бациллярный контакт, где особую группу составляют пациенты из контакта с больными туберкулезом матерями и проживание в семьях с низким социальным уровнем жизни.

## **ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ**

1. Детей из семейного контакта с больными туберкулезом матерями следует рассматривать как группу особого риска по развитию специфического процесса, должны быть изолированы и обследованы с применением современных иммуногенетических и лучевых методов.
2. Наличие у ребенка генетической предрасположенности (\*04 аллель гена HLA-DRB1\*) , тесного семейного бациллярного контакта, проживающих в условиях с низким социальным уровнем жизни, требуют проведения обследования с применением современных иммунологических и лучевых методов диагностики.
3. Дети с отсутствием генетической предрасположенности, из контакта с дальними родственниками, не являющимися бактериовыделителями, не имеющими активности туберкулезной инфекции и изменений по данным рентгенологического обследования, не требует наблюдения в противотуберкулезном диспансере.
4. Современный комплекс обследования на наличие туберкулезной инфекции у детей должен включать проведение иммунологических тестов (ДИАСКИНТЕСТ®, Квантифероновый тест) и лучевой диагностики (МСКТ). Подозрение на увеличение лимфатических узлов бронхопульмональной группы требует проведения КТ-ангиографии.
5. Выявление ЛУ более 0,5 см в поперечном размере по данным рентгенологического обследования (МСКТ и КТ-АГ) на фоне

положительных иммунологических тестов должно трактоваться как проявление ТВГЛУ.

6. Положительные иммунологические тесты при отсутствии выявленных очагов специфического воспаления необходимо расценивать как латентное течение туберкулезной инфекции.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Авербах, М.М. Туберкулезная гранулема. Современный взгляд на иммуногенез и клеточный состав / М.М.Авербах // Туб. и болезни легких.- 2010.- №6.-С.3-9.
2. Аксенова, В.А. Проблемы активного выявления туберкулеза у детей в России / В.А. Аксенова // Туберкулез у детей и подростков в современных условиях: материалы регион. науч.- практ. конф.- СПб., 2001.- С.7-12.
3. Аксенова, В.А. Клинико-рентгенологическая диагностика первичных и вторичных форм туберкулеза у детей и подростков в современных условиях / В.А. Аксенова. Я.В.Лазарева, К.Г. Пучков, С.А. Стерликов, Ф.Э. Гегеева, С.Ю. Медведев, Л.С. Унтанова: пособие для врачей. - М., 2003.- 45с.
4. Аксенова, В.А. Проблемы профилактики туберкулеза при современной эпидемиологической ситуации в России // В.А. Аксенова, Ф.Э. Гегеева, С.Ю. Медведев // 11 Национальный конгресс по болезням органов дыхания: сб. рез. - М., 2003. - С.263
5. Аксенова, В.А. Современные подходы к лечению детей и подростков с латентной туберкулезной инфекцией / В.А. Аксенова, Ю.Л. Мизерницкий, А.Д. Царегородцев // Пульмонология детского возраста: проблемы и решения.- М, 2005. - Вып. 5. - С. 27. - 32.
6. Аксенова, В.А. Эпидемическая ситуация по туберкулезу у детей и подростков в России / В.А. Аксенова, Н.И. Клевно, Т.А. Севастьянова //Туб. и болезни легких.- 2011.-№4. -С.22.
7. Аксенова, В.А. Заболеваемость туберкулезом у детей в России в условиях внедрения современных методов выявления и профилактики заболевания / В.А.Аксенова // Материалы I нац. конгресса ассоциации фтизиатров «Актуальные проблемы и перспективы развития противотуберкулезной службы в Российской Федерации».- СПб., 2012.-С.391-393.

8. Аксенова, В.А. Лекарственно-резистентный туберкулез у детей и подростков / В.А. Аксенова, Е.Ф. Лугинова // Пробл. туб. -2003. -№1. - С.25-28.
9. Аксенова, В.А.Эпидемиологическая ситуация по туберкулезу у детей в Российской Федерации / В.А. Аксенова, Н.И. Клевно, Л.В. Лебедева // Туберкулез в России, год 2007: материалы VIII Российского съезда фтизиатров. - М., 2007.-С.210.
10. Активность Т-хелперов 1 и 2 типа при туберкулезе органов дыхания у детей / Е.В. Чебышева [и др.] // Туберкулез сегодня: VII Рос. съезд фтизиатров: тез. докл.- М., 2003.- С.164.
11. Активность Т-лимфоцитов хелперов 2 типа у больных бронхиальной астмой и туберкулезом легких // С.А. Садыгов [и др.] // Мед. иммунология.-2001.-Т.3, №4.- С.547-550.
12. Александрова, Е.Н. Интерпретация комплексной когортной оценки результатов туберкулинодиагностики / Е.Н.Александрова, Т.И Морозова, Л.Е. Паролина // Проблемы туб. и болезней легких.-2008.-№7.-С.23-26.
13. Александрова, Е.Н. Дефекты профилактики и выявления туберкулеза у детей и подростков на амбулаторном этапе / Е.Н. Александрова, Т.И. Морозова, Н.П. Докторова // Туб. и болезни легких.- 2011.-№1.- С.3-5.
14. Александрова, Е.Н. Клинико-эпидемические аспекты туберкулеза у детей и подростков / Е.Н. Александрова, Т.И. Морозова // Туб. и болезни легких.- 2011.-№4.-С.25.
15. Алексеев, Л.П. Ассоциированная с HLA предрасположенность к заболеваниям и некоторые механизмы ее реализации/ Л.П.Алексеев, И.И. Дедов, В.В. Яздовский // Клин. медицина.-1992.-№9-10.-С.5-10.
16. Алексеев, Д.Ю. Значение субпопуляционных Т-лимфоцитов в комплексной диагностике туберкулеза и саркоидоза органов дыхания: автореф. дис. ...канд. мед. наук / Д.Ю. Алексеев. - СПб., 1998.- 20с.

17. Аллельный полиморфизм генов II класса HLA у 4 популяций различной расовой принадлежности / Л.П. Алексеев [и др.] // Иммунология.-1994.- №5.-С.18-21.
18. Аллели HLA-DRB1, антитела к циклическим цитруллинированным пептидам (АЦЦП) и IGM РФ как маркеры чувствительности и прогрессирования эрозивного поражения суставов при раннем ревматоидном артрите: двухлетнее проспективное исследование / И.А. Гусева и [др.] // Вестник гематологии.-2009.-Т. 5, №4.-С.26-28.
19. Анатомия органов грудной полости у детей в компьютерно-томографическом изображении: пособие для врачей / сост. В.Г. Мазур, В.Г.Холин, И.А. Кондрашов, А.А. Багумел.- СПб., 1999.-20с.
20. Арчакова, Л.И. Совершенствование терапии на основе изучения иммуногенетических факторов в формировании туберкулеза легких: автореф. дис. ...д-ра мед.наук. / Л.И. Арчакова. - СПб., 2009.- 38с.
21. Астрова, Е.А. Пороговая и субпороговая чувствительность к туберкулину у инфицированных *M. tuberculosis* детей в Санкт-Петербурге / Е.А. Астрова // Туберкулез сегодня: VII Рос. съезд фтизиатров: тез. докл.- М., 2003.- С.147.
22. Ахмедова, Т.Е. Проба Манту и Диаскинтест в диагностике туберкулеза у детей / Т.Е. Ахмедова, Е.А.Бородулина, А.Ю. Титугина // Материалы I нац. конгресса ассоциации фтизиатров «Актуальные проблемы и перспективы развития противотуберкулезной службы в Российской Федерации».-СПб., 2012.-С.71-72.
23. Баранов, А.А. Лекарственная устойчивость и молекулярная эпидемиология туберкулеза в четырех административных территориях Северо-Западного федерального округа РФ: автореф. дис. ...канд.мед.наук /А.А. Баранов. - СПб., 2008.-18с.
24. Барышникова, Л.А. Монотонные туберкулиновые пробы у детей при туберкулезе внутригрудных лимфатических узлов / Л.А. Барышникова,

- В.М. Сухов, Л.Е. Мельник // Пульмонология: 10 нац. конгр. по болезням органов дыхания: сб. резюме - СПб., 2000.-С.260.
25. Барышникова Л.А., Сухов В.М., Мельник Л.Е. Туберкулиновая чувствительность у детей при выявлении туберкулеза внутригрудных лимфатических узлов / Л.А. Барышникова, В.М. Сухов, Л.Е. Мельник // Пробл. туб.- 2001.-№1.-С.37-38.
26. Барышникова, Л.А. Особенности туберкулезной инфекции у детей и подростков в современных условиях (эпидемиология, клинические проявления, профилактика): автореф. дис. ...д-ра мед. наук / Л.А.Барышникова. -М., 2011.- 46с.
27. Беликова, Е.В. Организация выявления контактов в профилактике и диагностике туберкулеза у детей / Беликова Е.В. // Новые технологии в эпидемиологии, диагностике и лечении туберкулеза взрослых и детей: науч.-практ. конф.мол.уч. - М.,2011.-С.1-3.
28. Белова, Е.В. Совершенствование комплексной диагностики туберкулезной инфекции у детей и подростков / Е.В. Белова, В.А. Стаханов // Туб. и болезни легких.- 2011.-№4.-С.52.
29. Белушков, В.В. Новые пути диагностики туберкулезной инфекции у детей /В.В. Белушков // Материалы V Российского форума «Здоровье детей: профилактика социально-значимых заболеваний. Санкт-Петербург-2011» .- СПб., 2011.-С.26-30.
30. Богданова, Ю.В. Использование Диаскинтеста в диагностике туберкулеза у детей раннего возраста / Ю.В. Богданова [и др.]// Туб. и болезни легких.- 2011.-№4.-С.57.
31. Болдырева, М.Н. HLA (класс II) и естественный отбор «Функциональный» генотип, гипотеза преимущества «функциональной» гетерозиготности: автореф. дис. ...д-ра мед. наук / М.Н.Болдырева. - М., 2007.-41с.

32. Бубнова, Л.Н. Главный комплекс гистосовместимости человека –к 50-летию открытия / Л.Н.Бубнова // Вестник гематологии.-2009.-Т.5, №4.-С.3-4.
33. Валиев, Р.Ш. Роль пробы «Диаскинтест» в оценке активности туберкулеза и эффективности лечения у детей / Р.Ш. Валиев, З.Х. Фатыхова // Материалы I нац. конгресса ассоциации фтизиатров «Актуальные проблемы и перспективы развития противотуберкулезной службы в Российской Федерации».-СПб., 2012.-С.174-176.
34. Васильева, О.Е. Клинико-эпидемиологическая характеристика туберкулеза у детей раннего возраста / О.Е.Васильева, Л.В.Клочкова // Педиатр.-Т. 1, №1.-2010.-М17.
35. Власова, Е.Ю. Профилактика туберкулеза у детей из групп повышенного риска заболевания с использованием специфических и неспецифических средств: 14.00.09. / Е.Ю. Власова. - СПб., 2009.-18с.
36. Влияние полиморфизмов генов IFN- $\gamma$  и IL-10 на синтез цитокинов при туберкулезе легких у детей и подростков / Пospelов А.Л. [и др.] // Туб. и болезни легких.-2011.-№1.-С.52-56.
37. Влияние интерлейкина -1 $\beta$  на показатели иммунной системы здоровых людей/ Н.Г. Соколова [и др.] // Медицинская иммунология.-1999.-Т.1, №3-4.-С.136.
38. Внедрение Диаскинтеста в повседневную врачебную практику// Морозова Т.И. [и др.] / Новые технологии в эпидемиологии, диагностике и лечении туберкулеза взрослых и детей: науч.-практ. конф.мол.уч.- М., 2011.-С.114-116.
39. Возможности спиральной компьютерной томографии и СКТ-ангиографии в дифференциальной диагностике туберкулёза легких, рака легких и лимфопролиферативных заболеваний / Ю.В.Матушкина [и др.] // Актуальные проблемы клинической онкологии: материалы науч.-практ. конф. – М.: ГВКГ им. Н.Н. Бурденко, 2005. – С. 48-49.

40. Выявление туберкулеза и тактика диспансерного наблюдения за лицами из групп риска с использованием рекомбинантного туберкулезного аллергена – «Диаскинтеста®» // Новая мед. технология: М.И. Перельман, В.А.Аксенова, Д.Т. Леви, Н.И. Клевно, П.В. Сенчихин.- М., 2010.- 15с.
41. Выявление туберкулеза и тактика диспансерного наблюдения за лицами из групп риска по заболеванию туберкулезом с использованием препарата «Диаскинтест» / В.А. Аксенова [и др.] // Туб. и болезни легких. – 2010. – № 2. – С.13–19.
42. Гаврилов, П.В. Возможности МСКТ в оценке изменений во внутригрудных лимфатических узлах при туберкулезе органов дыхания / П.В. Гаврилов, В.Е. Савелло // Новые технологии в эпидемиологии, диагностике и лечении туберкулеза взрослых и детей: науч.-практ. конф. мол.уч.- М., 2011.-С.82-83.
43. Гаврилов, П.В. Клинико-лучевая характеристика изменений внутригрудных лимфатических узлов у больных туберкулезом органов дыхания: автореф. дис....канд. мед.наук / П.В. Гаврилов.- СПб., 2009.-23с.
44. Гегеева, Ф.Э. Клинико-рентгенологическая диагностика "малых" форм туберкулеза внутригрудных лимфатических узлов у детей: автореф. дис. ... канд. мед. наук / Ф.Э. Гегеева. - М., 2006.- 20с.
45. Гегеева, Ф.Э. Сравнительная характеристика рентгенологических методов диагностики малых форм туберкулеза внутригрудных лимфатических узлов // Ф.Э.Гегеева, Я.В.Лазарева, В.А.Аксенова // Пробл. туб. и болезней легких. – 2006. - №5. - С.23-28.
46. Гегеева, Ф.Э. Компьютерная томография в диагностике «малых» форм туберкулеза у детей / Ф.Э. Гегеева // Актуальные вопросы туберкулеза и других гранулематозных заболеваний: сб. материалов науч.-практ. конф. молодых уч.- М., 2005.- С.48.



47. Гегеева, Ф.Э. Сравнительная характеристика рентгенологических методов диагностики «малых» форм туберкулеза внутригрудных лимфатических узлов / Ф.Э. Гегеева // Пробл. туб. и болезней легких.- 2006.- №1.- С.23-28.
48. Генетические маркеры системы HLA, ассоциирующиеся с заболеванием туберкулеза легких в Барум-Хемчинском районе Республики Тыва / Л.Е. Поспелов [и др.] // Пробл. туб. и болезней легких. –2007.- №6.-С.62.
49. Генетическая история алеутов с Командорских островов в результате анализа вариабельности генов HLA класса II / Н.В. Володько [и др.] // Генетика.- 2003.- Т. 39(12).- С.1710-8.
50. Глазанова, Т.В. Иммуногенетические особенности аутоиммунных и лимфопролиферативных заболеваний / Т.В.Глазанова, И.Е.Павлова, Л.Н.Бубнова // Вестник гематологии.-2009.-Т.5, №4.-С.20.
51. Глазанова, Т.В. Фенотипические и функциональные особенности лимфоцитов периферической крови и иммуногенетическая характеристика больных с диффузным токсическим зобом и узловым эутиреоидным зобом // Т.В. Глазанова [и др.] // Медицинская иммунология. -2000.-Т.2, №4.-С.385-393.
52. Григорович, М.С. Антигены главного комплекса гистосовместимости у больных с различными исходами ротавирусной инфекции/ М.С.Григорович, Г.А.Зайцева // Вестник гематологии.-2009.-Т.5.-№4.-С.25.
53. Губкина, М.Ф Основные факторы риска развития туберкулеза у детей и подростков / М.Ф Губкина, Е.С. Овсянкина // Пробл. туб. и болезней легких –2005.- №1.- С.10-13.
54. Губкина, М.Ф. Оценка возможности реализации унифицированных режимов химиотерапии у впервые выявленных больных туберкулезом органов дыхания детей старшего возраста и подростков / М.Ф.Губкина, Н.Г.Ершова // Пробл. туб. и болезней легких.-2009.-№1.-С.33-36.

55. Золоторева, Н.А. Туберкулез органов дыхания у детей старшего возраста в республике Саха(Якутия) / Н.А.Золоторева, В.А.Аксенова // Пробл. туб.-2002.-№1.-С.34-36.
56. Давыдовский, И.В. Общая патология человека / И.В. Давыдовский - М.: Изд-во Медгиз, 1969.- 503с.
57. Даулетова, Я.А. Оптимизация диагностики туберкулеза внутригрудных лимфатических узлов у детей: автореф. дис. ... канд.мед.наук/ Я.А.Даулетова. - Новосибирск, 2009.- 22с.
58. Дегтярева, Е.А.Генетическая система HLA в популяции северных кхантов в сравнении с другими финно-угорскими народами / Е.А.Дегтярева, В.П. Пузырев // Генетика.- 1993.- Т.29, №3.- С.515-519.
59. Диагностическая ценность Диаскинтеста во фтизиатрии / А.А. Шурыгин [и др.] // Совершенствование медицинской помощи больным туберкулезом: Всерос. науч.-практ. конф.-СПб.,2010.-С.140-141.
60. Диагностическая значимость показателей иммунитета у детей с локальными формами первичного туберкулеза // В.З. Жаднов [и др.]/ Пробл. туб.- 2001.- №1.- С.42-44.
61. Диагностика скрытой активности первичного внутригрудного туберкулеза в фазе кальцинации у детей / Л.А. Митинская [и др.] // Туберкулез сегодня: VII Рос. съезд фтизиатров: тез. докл.- М., 2003.- С.150.
62. Диагностика, клиника и тактика лечения остропрогрессирующих форм туберкулеза легких в современных эпидемиологических условиях/ А.Г. Хоменко и [др.] // Проб.туб.-1999.-№1.-С.22-27.
63. Диагностика и методы определения эффективности химиотерапии туберкулеза у детей / Н.В.Юхименко [и др.] // Пробл. туб.-2002.-№1.-С.9-12.
64. Диагностические возможности Диаскинтеста у детей и взрослых при туберкулезе и нетуберкулезных заболеваниях / Л.В. Слогоцкая [и др.] //

- Инфекционные болезни: материалы III ежегодн. Всерос. Конгресса по инфекц. болезням.- М., 2011.-Т.9.-С.343.
65. Диаскинтест при оценке активности туберкулеза у детей и подростков / В.А. Аксенова [и др.] // Туб. и болезни легких. – 2009. – № 10. – С. 13–16.
66. Диаскинтест в практической работе общей лечебной сети – миф или реальность / П.К.Яблонский [и др.] // Практическая мед.- 2011.-№1(56)- С.65-69.
67. Динамика реакций Диаскинтеста в процессе лечения и наблюдения в диспансерных группах риска у детей / В.И. Литвинов [и др.] // Совершенствование медицинской помощи больным туберкулезом: материалы Всерос. науч.-практ. конф. с междунар. участием / под ред. проф. П.К. Яблонского, член-корр. РАМН, проф. Ю.Н.Левашева. – СПб., 2010. – С.153–154.
68. Дифференцированный подход к профилактическому лечению детей, впервые инфицированных туберкулезом / Л.И.Моржовская [и др.] // Пробл. туб.-2001.-№2.-С.14-17.
69. Довгалюк, И.Ф. Роль иммунопатогенетических факторов в развитии и течении туберкулезной инфекции у детей: автореф. дис. ... д-ра мед. наук. / И.Ф. Довгалюк – СПб., 1993.- 25с.
70. Довгалюк, И.Ф. Диагностика и лечение пограничного состояния туберкулезной инфекции у детей / И.Ф. Довгалюк, Ю.Э Овчинникова, В.А. Целикова // IV съезд науч.-мед. ассоц. фтизиатров: тез. докл. –М.; Йошкар- Ола, 1999.- С.137.
71. Довгалюк, И.Ф. Клинико-эпидемические особенности туберкулеза у детей Северо-Запада Российской Федерации/ И.Ф.Довгалюк, Н.В.Корнева // Туб. и болезни легких. - 2011.- №3.- С.12-16.
72. Довгалюк, И.Ф. Клиническое значение системы HLA у детей с локальными формами первичного туберкулеза: автореф. дис. ...д-ра мед. наук./ И.Ф. Довгалюк - СПб., 1993.- 18с.

73. Доклиническое изучение противотуберкулезного препарата Фтизиоперин Цинк/ Л.В.Мохирева и [др.]// Туб. и болезни легких.-2010.-№12.-С.56-60.
74. Доклинические испытания специфической активности и специфичности рекомбинантного диагностического препарата «Диаскинтест» / И.В. Бочарова [и др.] // Туб. и болезни легких.- 2011.-№4.-С.69.
75. Дорошенкова, А.Е. Профилактика развития локальной формы туберкулеза у детей / А.Е.Дорошенкова, Р.А.Хонферян, Н.В.Ставицкая // 13 нац. конгр. по болезням органов дыхания: сб. резюме. – СПб., 2003.- С.346.
76. Дорошенкова, А.Е. Генетические особенности детей, больных различными формами туберкулеза органов дыхания / А.Е.Дорошенкова, Н.В.Ставицкая // Туб и болезни легких.- 2011.-№4.-С.132.
77. Значение ДСТ и Квантиферонового теста при диагностике туберкулеза у детей / М.Э. Лозовская [и др.] // Инновационные технологии в организации фтизиатрической и пульмонологической помощи населению: науч.-практ. конф.- СПб., 2011.- С.43-44.
78. Зарецкая, Ю.М. Клиническая иммуногенетика / Ю.М.Зарецкая.- М., 1983.- 206с.
79. Захарова, М.В. Дифференцированное назначение иммунотерапии больным впервые выявленным инфильтративным туберкулезом легких в зависимости от особенностей цитокинового профиля и интерферонового статуса/ М.В.Захарова// Новые технологии в эпидемиологии, диагностике и лечении туберкулеза взрослых и детей: Сб. тезисов науч.-практич. конф. молодых ученых, посвященная всемирному дню борьбы с туберкулезом.- М., 2010.- С. 52-54.
80. Захарова, М.В. Неовир в комплексной терапии больных с впервые выявленным инфильтративным туберкулезом легких: автореф дис. ...канд. мед. наук / М.В.Захарова. - М., 2010.- 28с.
81. Зубарева, С.В. Применение Диаскинтеста® у детей в территориях с мвысокой заболеваемостью туберкулезом / С.В.Зубарева, Н.В.Корнева,

- И.Ф.Довгалюк // Материалы I нац. конгресса ассоциации фтизиатров «Актуальные проблемы и перспективы развития противотуберкулезной службы в Российской Федерации».-СПб.,2012.-С.406-408.
82. Изучение специфичности кожного теста Диаскинтест у инфицированных микобактериями туберкулеза детей и подростков / Е.С. Овсянкина [и др.] // Совершенствование медицинской помощи больным туберкулезом : материалы Всерос. науч.-практ. конф. с междунар. участием / под ред. проф. П.К. Яблонского, член-корр. РАМН, проф. Ю.Н.Левашева. – СПб., 2010. – С.161–162.
83. Изменения в продукции ИЛ-1R, ФНО- $\alpha$  и ИЛ-2 в зависимости от состояния у больных туберкулезом легких / Б.Е. Кноринг [и др.] // Пробл. туб.- 1999.- №4.- С.30-35.
84. Иммуногенетическая характеристика коренных народов севера Европейской территории России/ И.В. Евсеева и [др.]// Иммунология.- 2001.-№4.- С.-22-27.
85. Иммуногенетический профиль бурятской популяции Прибайкалья / В.В. Яздовский [и др.] //Иммунология.- 1998.- №4.- С.11-13.
86. Иммунологические и иммуногенетические аспекты туберкулезной инфекции / М.М. Авербах [и др.] // IX Всесоюзный съезд фтизиатров.- Кишинев, 1976.-С.132-133.
87. Иммунологическое и иммуногенетическое обследование ревакцинированных БЦЖ детей и подростков / Л.Е. Поспелов [и др.] // Пробл. туб.- 1986.-№2.-С.17-21.
88. Инфицированность туберкулезом детей и подростков –взгляд через столетие/ Слогоцкая Л.В. [и др.] //Туб. и болезни легких.-2011.-№1.- С.21-28.
89. Информативность рентгенологического исследования и компьютерной томографии в диагностике туберкулеза у детей из групп риска / М.Ф. Губкина [и др.] // Совершенствование медицинской помощи больным

- туберкулезом : материалы Всерос. науч.-практ. конф. с междунар. участием / под ред. проф. П.К. Яблонского, член-корр. РАМН, проф. Ю.Н.Левашева. – СПб., 2010. - С.148.
90. Ильина, Н.А. Возможности компьютерной томографии в диагностике воспалительных заболеваний легких у детей: автореф. дис....канд. мед. наук / Н.А. Ильина. - СПб.,- 2001.- 25с.
91. Ищенко, Б.И. Лучевая диагностика для торакальных хирургов / Б.И. Ищенко, Л.Н. Бисенков, И.Е.Тюрин. - СПб.: Деан, 2001.- 133 с.
92. Калинина, Н.М. Роль антигенов HLA-DR в иммунном ответе / Н.М.Калинина // Вестник гематологии.- СПб., 2009.-Т.5,№4.-С.32.
93. К вопросу о регуляции функциональной и метаболической активности лейкоцитов при туберкулезной инфекции в эксперименте / В.А. Павлов [и др.] // Фтизиатрия и пульмонология.-2001.-№1.-С.67.
94. Клевно, Н.И. Современные подходы к проведению лечения латентной туберкулезной инфекции у детей из групп риска по заболеванию туберкулезом/ Н.И.Клевно, В.А.Аксенова, Л.А.Барышникова // Материалы I нац. конгресса ассоциации фтизиатров «Актуальные проблемы и перспективы развития противотуберкулезной службы в Российской Федерации».-СПб.,2012.-С.395-397.
95. Клинико-лабораторные (иммунобиохимические) методы в диагностике, определении активности и выборе тактики лечения различных проявлений туберкулезной инфекции от инфицирования до локальной формы с осложненным течением: пособие для врачей / сост. И.Ф. Довгалюк, Ю.Э. Овчинникова, М.Н. Кондакова, М.Е. Дьякова, Е.И.Потапенко. – СПб., 1999.- 21с.
96. Клинические исследования нового кожного теста Диаскинтест для диагностики туберкулеза / В.И. Киселев [и др.] // Пробл. туб. и болезней легких. – 2009. – № 2. – С.1–8.

97. Кожная проба с препаратом Диаскинтест® (аллерген туберкулезный рекомбинантный 0,2мкг в 0,1мл раствор для внутрикожного введения) для идентификации туберкулезной инфекции: пособие для врачей / сост. Б.Л. Медников, Л.В. Слогоцкая.- М.,2009.- 32с.
98. Компьютерная томография средостения. Технические аспекты, методика, анатомия: учебное пособие / сост. А.В. Холин, И.А. Кондрашев, Н.И. Ананьева, А.К. Карпенко.-СПб.,-2000. – Ч. I. -24с.
99. Компьютерная томография в диагностике туберкулеза у детей / В.В. Вилк [и др.] // Туб. и болезни легких.- 2011.-№4.-С.84.
100. Компьютерно-томографическая семиотика изменений лимфатических узлов при туберкулезе органов дыхания / П.В. Гаврилов [и др.] // Ученые записки СПбГМУ им.акад. И.П.Павлова. - 2010. - Т. 17, №1. - С. 35-37.
101. Кондакова, М.Н. Клинико-генетические особенности патогенеза туберкулеза органов дыхания у подростков: автореф. дис. ... д-ра мед. наук / М.Н.Кондакова.-СПб.,2005.- 37с.
102. Корецкая, Н.М. Впервые выявленный туберкулез у лиц, длительно не обследованных флюорографически / Н.М.Корецкая, А.Н.Наркевич // Инфекционные болезни: материалы III ежегодн. Всерос. Конгресса по инфекц. болезням.- М., 2011.-Т.9.-С.181-182.
103. Корнева, Н.В. Особенности выявления и диагностики туберкулеза органов дыхания у детей в территориях Северо-запада и их влияние на эпидемические показатели / Н.В.Корнева // Новые технологии в эпидемиологии, диагностике и лечении туберкулеза взрослых и детей: науч.-практ. конф. мол.уч.- М., 2011.-С.41-44.
104. Корнева, Н.В. Возможности оптимизации диагностики туберкулеза органов дыхания у детей (на примере Северо-Западного региона Российской Федерации): автореф. дис. ...канд.мед.наук / Н.В. Корнева.- СПб.,2011.-23с.
105. Кузьмина, И.К. Значение гиперергической чувствительности к туберкулину в диагностике туберкулеза органов дыхания и формирования

- групп риска у детей и подростков: автореф. дис. ... канд.мед.наук / И.К. Кузьмина.- М., 2009.-С.28.
106. Лазарева, Я.В. Сравнительная характеристика рентгенологических методов диагностики «малых» форм туберкулеза внутригрудных лимфатических узлов / Я.В. Лазарева, Ф.Э. Гегеева // 12 Национальный конгресс по болезням органов дыхания: сб. тезисов - М., 2002. - XL.VIII.12.
107. Лазарева, Я.В. Компьютерная томография в диагностике туберкулеза органов дыхания: автореф. дис. ...д-ра мед. наук / Я.В. Лазарева. - М., 2002.- 34с.
108. Лазарева, Я.В. Значение компьютерной томографии в диагностике и классификации туберкулеза внутригрудных лимфатических узлов у детей / Я.В. Лазарева // Пробл. туб. и болезней легких.-2005.-№12.-С.14-19.
109. Лебедева, Л.В. Чувствительность к туберкулину и инфицированность микобактериями туберкулеза детей / Л.В. Лебедева, С.Г. Грачева // Пробл. туб. и болезней легких. - 2008.- №1.-С.5-9.
110. Лозовская, М.Э. Результаты Диаскинтеста у детей из групп риска и больных туберкулезом в сопоставлении с пробой Манту/ М.Э.Лозовская, В.В.Белушков, Н.Д.Шибаква // Туб. и болезни легких.-2011.-№5.-С.29-30.
111. Лозовская, М.Э. Результаты диаскинтеста в различных возрастных и клинических группах детей / М.Э.Лозовская, В.В.Белушков, О.А.Разумова // Совершенствование медицинской помощи больным туберкулезом : материалы Всерос. науч.-практ. конф. с междунар. участием / под ред. проф. П.К. Яблонского, член-корр. РАМН, проф. Ю.Н.Левашева. – СПб., 2010. -С.155-157.
112. Лозовская, М.Э. Туберкулез у детей и подростков на санаторном этапе лечения: автореф. дис. ...док.мед.наук/ М.Э. Лозовская.- СПб., 2003.-40с.
113. Лядова, И.В. Реакция Т-клеточного иммунитета при туберкулезе: экспериментальные и клеточные исследования / И.В. Лядова, В.Я Гергерт // Туб. и болезни легких.- 2009.- №11.-С.9-18.



114. Лямина, Е.Л. Диаскинтест как маркер активности туберкулезного процесса у детей и подростков / Е.Л.Лямина, Н.А.Рогожина // Туб. и болезни легких.-2011.-№5.-С.33-34.
115. Майоров, К.Б. Функциональная активность макрофагов у мышей оппозитных по чувствительности к экспериментальному туберкулезу / К.Б.Майоров, И.В.Бочарова // Пробл. туб.-1996.-№1.-С.8-10.
116. Молекулярный полиморфизм HLA-гена II класса в популяциях европейского юга России / Л.В.Сароянц [и др.] // Материалы II Моск. Междунар. конгр. «Биотехнология: состояние и перспективы развития».- М., 2003.-Ч.1.- С.139.
117. Маренина, Е.А. Значение молекулярно-генетических и иммунологических методов исследования в группе риска и больных туберкулезом детей/ Е.А. Маренина // Пробл. туб.-2003. - №3.- С.30-33.
118. Матушкина, Ю.В. К вопросу о компьютерной томографии при туберкулёзной лимфоаденопатии / Ю.В. Матушкина, Г.М. Митусова // Междунар. науч.-практ. конф. «Ведущий многопрофильный госпиталь страны: основные функции, достижения, направления развития». – М., 2006. – №1-2 – С.206.
119. Матушкина, Ю.В. СКТ с внутривенным болюсным усилением в диагностике туберкулёзной внутригрудной лимфоаденопатии / Ю.В. Матушкина // Актуальные вопросы клиники, диагностики и лечения в многопрофильном лечебном учреждении: материалы Всерос. науч.-практ. конф. – М., 2007. – С.314.
120. Матушкина, Ю.В. Актуальные вопросы лучевой диагностики туберкулёза внутригрудных лимфатических узлов / Ю.В. Матушкина, В.Н. Троян // Роль Московской госпитали в становлении и развитии отечественного государственного больничного дела, медицинского образования и науки: материалы науч.-истор. конф., посвящ. 300-летию ГВКГ им. Н.Н.Бурденко. – М., 2007. – С.338-339.

121. Мадасова, В.Г. Лекарственно-устойчивый туберкулез у детей (причины возникновения, особенности клинических проявлений и течения): автореф. дис. ...д-ра мед. наук / В.Г. Мадасова.- М., 2010.- 50с.
122. Матушкина Ю.В. Спиральная компьютерная томография с внутривенным болюсным усилением в диагностике туберкулёзной лимфоаденопатии / Ю.В. Матушкина // Вестник Российской Военно-медицинской академии. – 2007. – №1 (17) – С. 672.
123. Матушкина, Ю.В. Спиральная компьютерная томография в диагностике поражения внутригрудных лимфатических узлов при туберкулезе легких: автореф. дис. ...канд.мед.наук / Ю.В. Матушкина.-СПб., 2008.-31с.
124. Маянский, Н.А. Номенклатура и функции главного комплекса гистосовместимости человек / Н.А. Маянский, А.Н. Маянский // Иммунология. -2006. -№1.-С.43-46.
125. Методы выявления и сравнительная характеристика туберкулеза у детей из известных и неизвестных ПТД очагов туберкулезной инфекции / И.К. Кузьмина [и др.] // Совершенствование медицинской помощи больным туберкулезом : материалы Всерос. науч.-практ. конф. с междунар. участием / под ред. проф. П.К. Яблонского, член-корр. РАМН, проф. Ю.Н.Левашева. – СПб., 2010. -С.152-153.
126. Механизмы цитокин-индуцированной активации фагоцитов/ Л.В. Ковальчук [и др.] // Rus. J. Immunol. -1999.-Vol.4, Suppl.1.- P.36.
127. Мишин, В.Ю. Диагностика и химиотерапия туберкулеза органов дыхания / В.Ю. Мишин, С.Е. Борисов, В.А. Аксенова // Пробл. туб.-2003.-№3.-С.47-64.
128. Михайлова, С.В. Сравнительная характеристика клинической структуры туберкулеза у детей из очагов туберкулезной инфекции и детей из здорового окружения / С.В. Михайлова // Материалы VIII Российского съезда фтизиатров — М., 2007. -С.220.

129. Михайлова, С.В. Медико-социальная характеристика очагов туберкулезной инфекции и пути их оздоровления: автореф. дис. ... канд.мед.наук / С.В.Михайлова.-СПб., 2008.-24с.
130. Моисеева, О.В. Современная эпидемиология туберкулеза / О.В.Моисеева // Педиатрия.-2006.-№5.-С.103-104.
131. Моисеева, О.В. Влияние факторов риска на заболеваемость детей в очагах туберкулезной инфекции и разработка алгоритма противотуберкулезных мероприятий: автореф. дис. ...канд.мед.наук/ О.В.Моисеева; Инст. иммун. и физиол. УрО РАН.– Екатеринбург., 2007.-20с.
132. Мордовская, Г.Г. Определение активности туберкулезного процесса по фагоцитарной фракции лейкоцитов / Г.Г. Мордовская, Е.И. Скачкова, Е.Ю. Хохлова // Туберкулез сегодня: VII Рос. съезд фтизиатров: тез. докл.- М., 2003.- С.74.
133. Мотаева, И.Н. Экологическая обусловленность развития туберкулезной инфекции среди детей и подростков Владивостока / И.Н. Мотаева, С.Н.Власенко// Пробл. туб. – 2001.-№1.-С.56-67.
134. Мякишева,Т.В. Использование диаскинтеста в диагностике туберкулеза у детей / Т.В.Мякишева, Е.В.Трун // Совершенствование медицинской помощи больным туберкулезом : материалы Всерос. науч.-практ. конф. с междунар. участием / под ред. проф. П.К. Яблонского, член-корр. РАМН, проф. Ю.Н.Левашева. – СПб., 2010. - С.160-161.
135. Никитина, И.Ю. Степень дифференцировки Т-лимфоцитов CD4 как новый показатель состояния Т-клеточного иммунитета больных туберкулезом легких / И.Ю.Никитина // Новые технологии в эпидемиологии, диагностике и лечении туберкулеза взрослых и детей: науч.-практ. конф.мол.уч.- М., 2011.-С.62-66.
136. Новые биотехнологические решения в диагностике и профилактике туберкулезной инфекции / В.И. Киселев [и др.] // Вестн. НИИ молекулярной медицины. – 2005. – Вып.5. – С.37–45.

137. Новый кожный тест для диагностики туберкулеза на основе рекомбинантного белка ESAT-CFP / В.И. Киселев [и др.] // Молекулярная медицина. – 2008. – № 4. – С.28–34.
138. Новый кожный тест для диагностики туберкулезной инфекции / В.И. Литвинов [и др.] // Рос. медицинский журнал. – М., 2009. – № 1. – С.52–56.
139. Новые возможности комплексной иммунодиагностики в современной фтизиопедиатрии / Е.И. Потапенко [и др.]// 10 нац. конгр. по болезням органов дыхания: сб. резюме.- СПб., 2000.- С.273.
140. Новые технологии в диагностике туберкулеза у детей и подростков из групп риска / М.Ф. Губкина [и др.] // Туб. и болезни легких.- 2011.-№4.- С.112.
141. Овчинникова, Ю.Э. Клиническая значимость иммунологических и биохимических показателей в диагностике и лечении начальных проявлений туберкулезной инфекции у детей: автореф. дис....канд. мед. наук / Ю.Э. Овчинникова.-СПб., 2000.- 23с.
142. Овчинникова, Ю.Э. Современное выявление ранних проявлений туберкулезной инфекции у детей / Ю.Э. Овчинникова, И.Ф. Довгалоук// Туберкулез у детей и подростков в современных условиях: тез. докл. рег. науч.- практ. конф.- СПб., 2001.- С.35.
143. Овсянкина, Е.С. Актуальные проблемы противотуберкулезной помощи детям и подросткам / Е.С. Овсянкина // Пробл. туб. и болезней легких. - 2009. - №1.- С.3 - 5.
144. Овсянкина, Е.С. Эффективность превентивной химиотерапии у детей и подростков из очагов бактериовыделения туберкулезной инфекции / Е.С.Овсянкина [и др.] // Пробл. туб. и болезней легких.- 2006.-№1.-С.3-6.
145. Определение содержания Th-1 лимфоцитов в периферической крови больных различными формами туберкулеза у детей /Е.Э. Комогорова [и др.] // Rus. J. Immunol. -2004.-Vol.9, Suppl.I.-P.183.

146. Опыт применения нового кожного теста (Диаскинтеста®) для диагностики туберкулеза органов дыхания у детей и подростков в туберкулезном отделении / Е.С. Овсянкина [и др.] // Пробл. туб. и болезней легких. - 2009.- №1.-С.16-19.
147. Опыт применения Диаскинтеста® для дифференциальной диагностики туберкулеза и нетуберкулезных заболеваний органов дыхания у детей и подростков / Е.С. Овсянкина [и др.] // Туб. и болезни легких.-2011.-№5.-С.81.
148. Опыт применения кожной пробы с Диаскинтестом как метода скринингового обследования детей из диспансерных групп риска / М.Ф. Губкина [и др.] // Совершенствование медицинской помощи больным туберкулезом : материалы Всерос. науч.-практ. конф. с междунар. участием / под ред. проф. П.К. Яблонского, член-корр. РАМН, проф. Ю.Н.Левашева. – СПб., 2010.-С.149-150.
149. Определение НЛА-ассоциированной генетической предрасположенности к аутоиммунным эндокринным заболеваниям: пособие для врачей / Л.Н. Бубнова [и др.]. – СПб., 2001.- 24с.
150. Особенности поверхностного поверхностного фенотипа лимфоцитов у больных туберкулезом легких / В.В. Новицкий [и др.] // Мед.иммунология.-2005.-Т.7,№5-6.-С.587-588.
151. Патоморфоз и диагностика туберкулеза внутригрудных лимфатических узлов у детей/ И.Ф.Довгалюк и [др.]// Пробл. туберкулеза и болезней легких.-2004.-№1.-С.33-36.
152. Педиатрия: учебник для медицинских вузов/ под ред. Н.П. Шабалова.- СПб.:СпецЛит, 2007.-442с.
153. Перельман, М.И. Фтизиатрия / М.И. Перельман, В.А. Корякин, И.В. Богадельникова.- М.:MedVuz.info, 2004.- 547с.

154. Позднякова, А.С. Туберкулез у детей и подростков: особенности заболевания, новые технологии диагностики и специфической профилактики: автореф. дис. ...докт.мед.наук/А.С.Позднякова; ЦНИИТ РАМН.-М.- 2011.-с.47.
155. Показатели иммунитета и степень активности аденозиндезаминазы у больных туберкулезом легких / Б.Е. Кноринг [и др.] //Пробл. туб.- 2002.- №7.-С.32-36.
156. Показатели иммунитета у больных туберкулезом легких с нарушениями бронхиальной проходимости / Е.М. Жукова [и др.] //13 нац. конгр. по болезням органов дыхания: сб.резюме.- СПб., 2003.- С.273.
157. Поддубная, Л.В. Туберкулезная инфекция у детей и подростков из семейных очагов/ Л.В. Поддубная, Е.П. Шилова// Туб. и болезни легких.- 2011.-№1.-С.11-15.
158. Покровский, В.В. ВИЧ-инфекция: клиника, диагностика и лечение / В.В.Покровский, Т.Н. Ермак, В.В. Беляева, О.Г. Юрин. - М.: Гэотар-Мед,2003. - 488 с.
159. Прокофьев, В.Ф. Механизм HLA-контроля типовых функций иммунной системы в норме и патологии / В.Ф. Прокофьев, Е.Л. Гельфгат, В.И. Коненков // Вестник гематологии.- СПб., 2009.-Т.5,№4.-С.43-45.
160. Подходы к иммунологической диагностике раннего периода первичной туберкулезной инфекции у детей / М.А. Плеханова [и др.] //Туб. и болезни легких.- 2011.- №1.- С.6-10.
161. Приказ № 109 МЗ РФ от 21.03.03. О совершенствовании противотуберкулезных мероприятий в Российской Федерации. - Ч. 1.— 167 с.
162. Применение стандартизированного многоуровневого алгоритма иммунодиагностики туберкулеза различных локализаций в современной

- эпидемиологической обстановке: пособие для врачей / сост. А.В.Васильев, Р.И. Шендерова, Н.М. Чужова. – СПб., 2000.- 32с.
163. Принципы диагностики начальных и маловыраженных проявлений туберкулезной инфекции у детей / Ю.Э. Овчинникова [и др.] // Пробл. туб.-2002.-№1.-С.17-21.
164. Причины хронического течения туберкулеза внутригрудных лимфатических узлов у детей, особенности клинических проявлений и терапии / Ю.Э. Овчинникова [и др.] //Туб. и болезни легких.-2010.-№1.-С.40-44.
165. Программная гибель лимфоцитов при фиброзно-кавернозном туберкулезе легких / Н.А. Ница [и др.] // Материалы I нац. конгресса ассоциации фтизиатров «Актуальные проблемы и перспективы развития противотуберкулезной службы в Российской Федерации».-СПб., 2012.-С.332-334.
166. Плеханова, М.А. Функциональная активность лейкоцитов у больных туберкулезом детей / М.А.Плеханова, А.В.Мордык, Ю.И. Пацула // Туб. и болезни легких.-2011.-№5.-С.111-112.
167. Пузик, В.И. Патоморфология современных форм легочного туберкулеза / В.И. Пузик, О.А. Уварова, М.М. - М.: Медицина, 1973.-216 с.
168. Пухальская, Н.С. Причины заболеваемости подростков из очагов туберкулезной инфекции / Н.С.Пухальская // Совершенствование медицинской помощи больным туберкулезом : материалы Всерос. науч.-практ. конф. с междунар. участием / под ред. проф. П.К. Яблонского, член-корр. РАМН, проф. Ю.Н.Левашева. – СПб., 2010.-С.73-74.
169. Пухальская, Н.С. О проблеме заболеваемости подростков из очагов туберкулезной инфекции / Н.С.Пухальская // Новые технологии в эпидемиологии, диагностике и лечении туберкулеза взрослых и детей: науч.-практ. конф.мол.уч.-М., 2011.-С.69-72.

170. Распределение аллелей HLA I, II и III классов в узбекской популяции / Л.П. Алексеев [и др.] // Иммунология.-1996.-№3.-С.23-25.
171. Рабухин, А.Е. Туберкулез органов дыхания у взрослых.-М.: Медицина, 1976.-328с.
172. Развитие идей Р.Коха в современной иммунологии туберкулеза / М.М. Авербах [и др.] // Сб. трудов ЦНИИ туберкулеза.-М., 1983.-Т.3.-С.18-22.
173. Распространение туберкулеза среди детей и подростков в Российской Федерации (анализ данных официальной статистики)/ Михайлова Ю.В. [и др. ] // Пробл. туб. и болезней легких. - 2009. - №1.- С.5 - 10.
174. Распределение частот HLA фенотипов, гаплотипов и аллелей в этнических группах Таймыра и Чукотки / В.И. Коненков [и др] // Генетика.-1993.-Т.29,№10.- С.1719-1726.
175. Распределение антигенов HLA у больных и здоровых лиц татарской национальности / В.Я. Гергерт [и др.]// Пробл. туб. и болезней легких.-2004.-№8.-С.45-46.
176. Рекомендации по применению кожной пробы с препаратом аллерген туберкулезный рекомбинантный 0,2 мкг в 0,1мл раствор для внутрикожного введения (ДИАСКИНТЕСТ®) для идентификации туберкулезной инфекции у детей и диспансерного наблюдения в противотуберкулезных учреждениях: метод. рекомендации/ Е.С. Овсянкина [и др.].-М., 2010.- 29с.
177. Результаты применения диаскинтеста для формирования групп риска и выявления туберкулеза у детей Москвы / Е.С. Овсянкина [и др.] // Совершенствование медицинской помощи больным туберкулезом : материалы Всерос. науч.-практ. конф. с междунар. участием / под ред. проф. П.К. Яблонского, член-корр. РАМН, проф. Ю.Н.Левашева. – СПб., 2010.-С.58-59.
178. Результаты новых методов диагностики туберкулезной инфекции у детей / В.В.Белушков [и др.] // Материалы V Российского форума «Здоровье



- детей: профилактика социально-значимых заболеваний. Санкт-Петербург-2011».-СПб., 2011.-С.25-26.
179. Результаты применения Диаскинтеста ® в противотуберкулезных диспансерах и стационарах / Н.В.Корнева [и др.]// Материалы I нац. конгресса ассоциации фтизиатров «Актуальные проблемы и перспективы развития противотуберкулезной службы в Российской Федерации».- СПб.,2012.-С.94-95.
180. Розенштраух, Л.С. Рентгенодиагностика заболеваний органов дыхания /Л.С. Розенштраух, Н.И. Рыбакова, М.Г. Винер.– 2-е изд. – М.: Медицина, 1987. - 640 с.
181. Роль комплексного генетического прогноза в лечении и профилактике туберкулеза органов дыхания у подростков / М.В. Павлова [и др.] // Пробл. туб. и болезней легких.-2005.-№11.-С.30-33.
182. Роль Квантиферонового теста в диагностике инфицирования *M.tuberculosis* детей и подростков, состоящих на учете у фтизиатра/ Е.В. Чалая [и др.] // Туб. и болезни легких.-2011.-№5.-С.220.
183. Роль Т-лимфоцитов в иммунопатогенезе туберкулезной инфекции / Е.Г. Чурина [и др.] // Туб. и болезни легких.-2011.-№3.-С.3-7.
184. Романова, Ю.М. Цитокины – возможные активаторы роста патогенных бактерий / Ю.М.Романова, А.И. Гинзбург// Вестн. РАМН. - 2000.-№1.- С.13-17.
185. Руководство по легочному и внелегочному туберкулезу/ под ред. Ю.Н.Левашева, Ю.М.Репина.- СПб., 2006. – 576 с.
186. Рыбка, Л.Н. Очаги туберкулезной инфекции и их влияние на заболеваемость туберкулезом в г. Москве / Л.Н. Рыбка, А.В. Горбунов //Туб. и болезни легких.-2011.-№5.-С.141.
187. Рычков, Ю.Г. Популяционная генетика оленеводов тайги. Характеристика распространенности маркеров HLA системы среди

- коренных жителей Центральной Сибири /Ю.Г. Рычков, И.Г. Удина // Генетика.- 1985.- Т.21, №5.- С.861-867.
188. Савенков, В.И. Место генодиагностики в лабораторных методах исследования туберкулеза / В.И. Савенков, Д.М. Шишхов, В.В. Яценко //Туберкулез: лечение, диагностика, профилактика: материалы 3 Всерос. конф.- М., 2000.-С.287-290.
189. Сароянц, Л.В. Иммуногенетика лепры. Межпопуляционный аспект: автореф. дис. ...д-ра мед.наук / Л.В.Сароянц. – М., 2011.-48с.
190. Сергеев, А.С. Генетические модели распространенных заболеваний / А.С. Сергеев// Вестн. АМН СССР.-1983.-№6.- С.81-87.
191. Середа, В.Г. Состояние системы цитокинов и специфического иммунного ответа у детей и подростков с туберкулезом органов дыхания в Приморском крае: автореф. дис. ...канд.мед.наук /С.В. Середа. - Владивосток, 2005.- 22с.
192. Слапик, С.С. Приоритеты использования метода компьютерной томографии в диагностике заболеваний органов грудной клетки / С.С. Слапик, Т.В. Давидович // Новости лучевой диагностики. - 2000. - №1. - С.20 — 22.
193. Слогоцкая, Л.В. Использование Диаскинтеста при обследовании социальных контактов с больными туберкулезом среди подростков / Л.В.Слогодская, Я.А.Кочетков, О.Ю.Сенчихина // Туб. и болезни легких.- 2011.-№5.-С.163.
194. Слогодская, Л.В. Диаскинтест - новый метод выявления туберкулеза / Л.В. Слогодская, Я.А. Кочетков, А.В. Филиннов// Туб. и болезни легких.-2011.- №6.-С.17-22.
195. Сметанин, А.Г. Особенности визуализации внутригрудных лимфатических узлов при латентной туберкулезной инфекции у детей/ А.Г. Сметанин, Я.В. Даулетанова // Новые технологии в эпидемиологии, диагностике и лечении

- туберкулеза взрослых и детей: науч.-практ. конф. мол. уч. - М., 2011.-С.62-63.
196. Состояние противотуберкулезной помощи населению СЗФО в 2005-2009 годах / Галкин В.Б. [и др.]// Совершенствование медицинской помощи больным туберкулезом : материалы Всерос. науч.-практ. конф. с междунар. участием / под ред. проф. П.К. Яблонского, член-корр. РАМН, проф. Ю.Н.Левашева. – СПб., 2010. -С.32-34.
197. Современные стандарты лабораторной диагностики ревматических заболеваний. Клинические рекомендации: метод. Рекомендации / сост. Е.Л. Насонов, Е.Н. Александрова. – М.: ЗАО «БиоХимМак», 2006. – 71 с.
198. Содержание Т-лимфоцитов и уровни антител к пептидам тимуса у больных инфильтративным туберкулезом легких и у больных с онкологическими заболеваниями/ Аутеншлюс А.И. [и др.] // Пробл. туб и болезней легких.- 2004.-№10.-С.31-34.
199. Спектр иммунологических нарушений у больных фиброзно-кавернозным туберкулезом легких / Б.Е. Кноринг [и др.]// Туберкулез сегодня: VII Рос. съезд фтизиатров: тез. докл. – М., 2003.- С.69.
200. Специфический и иммунный ответ и защитные факторы нейтрофильных гранулоцитов при легочном и внелегочном туберкулезе/ И.Я. Сахарова [и др.]// Туб и болезни легких.-2010.-№6.-С.15-19.
201. Ставицкая, Н.В. Показатели иммунологической реактивности и их значение в определении лечебной тактики при инфицировании микобактериями туберкулеза: автореф. дис. ... канд.мед.наук /Н.В. Ставицкая. - Краснодар, 2003.- 22с.
202. Ставицкая, Н.В. Диагностика и лечебная тактика при латентной туберкулезной инфекции у детей: автореф. дис. ...д-ра .мед. наук / Н.В. Ставицкая.- СПб., 2010.- 50с.
203. Ставицкая, Н.В. Основы разработки персонифицированной программы профилактики туберкулеза у детей с латентной туберкулезной инфекцией/

- Н.В. Ставицкая, А.Е. Дорошенкова// Туб. и болезни легких.-М.,2010.- С.37-43.
204. Старшинова, А.А. Современная лучевая диагностика туберкулеза внутригрудных лимфатических узлов у детей / А.А. Старшинова, А.Н. Ялфимов, М.В.Павлова // Вестник Военно-медицинской академии. 2009. - 4(28) – прил.-С.121-122.
205. Старшинова, А.А. Опыт применения современных иммунологических тестов в диагностике туберкулеза внутригрудных лимфатических узлов у детей / А.А.Старшинова, Н.В.Корнева, И.Ф.Довгалюк // Мед. алфавит. Современная лаборатория.- 2011.-№2.-С.21-23.
206. Старшинова, А.А. Информативность современных иммунологических тестов (Диаскнтест®, Квантифероновый тест)в диагностике туберкулеза у детей / А.А. Старшинова, И.Ф.Довгалюк, О.А.Якунова // Отечественная эпидемиология в XXI веке: приоритетные направления развития и новые технологии в диагностике и профилактике болезней человека: материалы Всерос. науч. конф.-СПб., 2012.-С.124.
207. Степень дифференцировки Т-лимфоцитов CD4 у больных туберкулезом легких / И.Ю. Никитина [и др.] // Медицинская иммунология: материалы XIVВсерос. науч. форума с междунар. уч.- 2011.-Т.13, №4-5.-С.402-403.
208. Сравнительная оценка специфичности и чувствительности кожного теста «Диаскин-тест» и пробы Манту / Н.В. Рачина [и др.]// Туб. и болезни легких.-2011.-№5.-С.132-133.
209. Сравнительные результаты кожного теста с препаратом, содержащим рекомбинантный белок CFP-10-ESAT-6, и лабораторного теста QUANTIFERON/ Л.В. Слогодкая и [др.]// Совершенствование медицинской помощи больным туберкулезом: мат. Всерос. научно-практической конференции. – СПб., 2011. – с. 379-381.
210. Сравнение распределения генов локуса HLA-DRB1 у здоровых и больных туберкулезом детей и подростков в различных популяционных

- аннотациях/ В.Я. Гергерт [и др.]// Туб. и болезни легких.-2010.-№9.-С.29-32.
211. Структурно функциональное состояние иммунной системы у детей раннего возраста, инфекционных микобактерий туберкулеза/ Л.М. Куртасова и [др.]// Пробл. туберкулеза и болезней легких.-2004.-№1.-С.31-36.
212. Сравнительная характеристика иммунологических показателей при разных формах первичной туберкулезной инфекции / Т.Е.Тюлькова [и др.]// Мед.иммунол.-2002.-Т.4, №2.- С.263.
213. Течение остропрогрессирующего туберкулеза легких у больных с различным фенотипом антигенов HLA / В.Ю. Мишин [и др.]// Акт. вопросы диагностики и лечения туберкулеза.- СПб., 2005.-С.86-87.
214. Томен, К. Туберкулез выявление, лечение и мониторинг/ К.Томен.- М., 2004.-234с.
215. Туберкулинодиагностика при локальных и сочетанных формах туберкулеза у детей: метод. Рекомендации / сост. И.Ф.Довгалюк, В.А.Целикова, В.В.Ватутина.- СПб., 1997.-20с.
216. Туберкулезные санатории для детей и подростков в современных социальных и эпидемиологических условиях/Лозовская М.Э. [и др.]// Новые технологии в эпидемиологии, диагностике и лечении туберкулеза взрослых и детей: науч.-практ. конф.мол.уч.- М., 2011.-С.43-44.
217. Туберкулез особенности клинического течения и возможности фармакотерапии на современном этапе: рук. для врачей /под ред. А.К.Иванова, М.Г. Романцова.-СПб., 2010.- 184с.
218. Тюрин И.Е. Компьютерная томография органов грудной полости / И.Е.Тюрин. - СПб.: Элби-СПб, 2003. -371 с.
219. Туберкулез у детей и подростков: пособие для врачей/ под ред. Е.Н. Янченко, М.С. Греймер. - СПб., 1999.- 336с.

220. Туберкулез в Российской Федерации 2006год. Аналитический обзор статистических показателей, используемых в Российской федерации.- М., 2007.- 127с.
221. Туберкулез в Российской Федерации 2010год. Аналитический обзор статистических показателей, используемых в российской федерации.- М., 2011.- 279с.
222. Тюрин, И.Е. Компьютерная томография при туберкулезе органов дыхания / И.Е. Тюрин, А.С. Нейштадт, В.М. Черемисин. - СПб., 1998.-240с.
223. Факторы определяющие развитие туберкулезной инфекции у детей и подростков в очагах туберкулезной инфекции / Е.С.Овсянкина [и др.]// Туб. и болезни легких.-2009.-№11.-С.19-22.
224. Факторы естественной резистентности организма при иммунодепрессивной терапии / М.А. Фролов [и др.]// Ж. микробиологии, эпидемиологии и иммунологии.-1971.-№7.-С.114-18.
225. Фатыхова, Р.Х. Роль пробы с Диаскинтестом туберкулеза среди детей в республике Татарстан / Р.Х.Фатыхова, Р.Ш.Валиаев / Туб. и болезни легких.-2011-№5.-С.198.
226. Физико-технические и методические аспекты применения компьютерной и магнитно-резонансной томографии в диагностике заболеваний органов грудной полости у детей: учеб.-метод. пособие для студентов и врачей / сост. В.Г. Мазур, А.В. Холин, А.В. Кондрашов.- СПб.,1999.- 20с.
227. Функциональная активность нейтрофилов при туберкулезе легких в зависимости от клинической картины заболевания / Т.Е. Кисина [и др.] //Туберкулез сегодня: VII Рос. съезд фтизиатров: тез. докл.- М., 2003.- С.68.
228. Характер специфического иммунного ответа и продукции цитокинов мононуклеарами крови больных разными формами туберкулеза легких/ Б.Е.Кноринг и [др.]// Мед.иммунол.-2001.-Т.3,№1.-С.61-68.
229. Характеристика антигенов системы HLA у больных остро прогрессирующим туберкулезом легких/ Л.Е.Поспелов [и др.]

- //Туберкулез сегодня: материалы 7 Рос. съезда фтизиатров.- М., 2003.- С.114.
230. Частота генов HLA-DP и антигенов HLA-A, -B, -Cw и DR локусов среди тувинцев / М.Л. Сартакова [и др.]// Генетика.-1998.- Т.34, №8.- С.1127-1133.
231. Чарыкова, Г.П. Опыт использования Диаскинтеста в условиях туберкулезного стационара / Г.П.Чарыкова, И.А.Долматова, Н.Г. Камаева // Фтизиатрия и пульмонология.-2011.-№1.-С.98.
232. Чеботарева, А.А. Совершенствование мероприятий по профилактике и выявлению туберкулеза у детей в учреждениях первичной медико-санитарной помощи на территории с его высокой распространенностью среди взрослого населения: автореф. дис. ... канд.мед.наук/ А.А.Чеботарева.-М., 2009.-27с.
233. Челнокова, О.Г. Проблемы выявления туберкулеза у детей и подростков, контактирующих с больным туберкулезом/ О.Г. Челнокова, Б.С.Кибрик // Туб. и болезни легких.-2010.-№1.-С.31-34.
234. Чистович, А.Н. Патологическая анатомия и патогенез туберкулеза / А.Н. Чистович. - 2-е изд.-Л.: Медицина, 1973.-175с.
235. Чувствительность нового кожного теста (Диаскинтеста) при туберкулезной инфекции у детей и подростков / Л.В. Слогоцкая [и др.] // Туб. и болезни легких. – 2010. – № 1. – С. 10–15.
236. Шендерова, Р.И. Патогенетический подход основа создания новых способов диагностики и лечения туберкулеза разных локализаций/ Р.И. Шендерова, О.А.Якунова// Сб. науч. трудов XV Всерос. конф. «Новые технологии в диагностике и лечении туберкулеза разных органов и систем». - СПб., 1998.-С.87-91.
237. Шилова, М.В. Туберкулез в России в 2007 году / М.В. Шилова. - М., 2008. - 152 с.

238. Шилова, М.В. Туберкулез в России в 2009 году / М.В. Шилова.- М., 2010.- 192с.
239. Шилова, М.В. Эпидемиологическая обстановка по туберкулезу в Российской Федерации к началу 2009г. / М.В.Шилова// Туб. и болезни легких. - 2010. - №5.- С.14 - 21.
240. Шилова, М.В. Организация противотуберкулезной помощи в России и пути модернизации организационно-методического управления диспансерным наблюдением больных туберкулезом в современных эпидемиологических и социально-экономических условиях/ М.В.Шилова // Туб. и болезни легких.-2011.-№5.-С.236.
241. Щавелькина, И.И. Роль компьютерной томографии в диагностике туберкулеза органов дыхания у детей и подростков/ И.И.Щавелькина, И.Ф.Копылова, Н.Н.Пискунова //Туб. и болезни легких.-2010.-№8.-С.29-32.
242. Экспрессия Fas-антигена на лимфоцитах периферической крови и антиген-специфический апоптоз лимфоцитов при туберкулезе легких/ Р.Ш. Юсупова [и др.]// Мед. иммунол.-2000.-Т.2,№2.-С.205-206.
243. Эффективность применения нового диагностического препарата DIASKINTEST у детей для выявления и диагностики туберкулеза / В.И. Литвинов [и др.] // Пробл. туб. и болезней лёгких. – 2009. – №4. – С.19–22.
244. Яровая, Ю.А. Эпидемиологическая и социальная характеристика туберкулезной инфекции у детей/ Ю.А. Яровая // Инновационные технологии в организации фтизиатрической и пульмонологической помощи населению: науч.-практ. конф.- М., 2011.- С.70-72.
245. A forgotten old disease: mediastinal tuberculous lymphadenitis in children / R.V. Venkateswaran [et al.]// Eur. J. Cardiothorac. Surg.- 2005.-Vol. 27.-P. 401-404.
246. Adams, L.V. T-SPOT.TB Test(R) results in adults with *Mycobacterium avium* complex pulmonary disease / L.V. Adams, R.D. Waddell, C.F. Reyn // J. Infect. Dis. – 2008. – Vol.40. – P.196–203.



247. Accuracy of an immune diagnostic assay based on RD1 selected epitopes for active tuberculosis in a clinical setting : a pilot study / D. Goletti [et al.] // *Lancet*. – 2006. – Vol. 367. – P. 1328–1334.
248. Amiel, J.C. Study of the leucocyte phenotypes in Hodgkins disease / J.C. Amiel // *Histocompatibility Testing 1997*. - Copenhagen, Munksgaard, 1997. – P. 79-81.
249. Analysis of the molecular mechanisms underlying HLA class I altered expression in human prostate cancer and in prostatic hyperplasia / J. Carretero [et al.] // *Eur. Imm. and Histic. Conf.* – Prague, 2011.-P.500-501.
250. Analysis of HLA-DR2- associated polymorphisms by oligonucleotide hybridization in an Asian Indian population /N.K. Mehra [et al.] // *Hum.Immunol.*-1991.-Vol.32.-P.246-253.
251. Antigen recognition by T-cells of the adaptive immune system/ McCluskey J. [et al] // *Immunobiology of Human MHC. Proceedings of the 13th international histocompatibility workshop and congress.* – Seattle., 2006 – P. 81-99.
252. Association of HLA-DQ and HLA-DR alleles with susceptibility or resistance to HIV-1 infection among the population of Chaco Province, Argentina / P.Motta [et al.] // *Medicina (B Aires)*.-2002.-Vol.62(3).-P.245-248.
253. A sandwich enzyme immunoassay for bovine interferon-gamma and its use for the detection of tuberculosis in cattle / J.S. Rothel [et al.] // *Aust. Vet. J.* – 1990. – Vol.67. – P.134–137.
254. Bloom, B.R. The evolving relation between humans and Mycobacterium tuberculosis /B.R. Bloom, P.M. Small// *New Eng. J. Med.*-1998.-Vol.338.-P.677-678.
255. Boom, W.H. The role of T-cell subsets in Mycobacterium tuberculosis infection/W.H. Boom // *J. Infect. Dis.*- 1996.-Vol.5.-P.73-81.

256. Bjorkman, P.J. Structure, function, and diversity of class I major histocompatibility complex molecules / P.J. Bjorkman, P. Parham// *Ann. Rev. Biochem.* – 1990. – Vol. 59. – P. 253-88.
257. Comparison of the sensitivity and specificity of two whole blood interferon-gamma assays for *M. tuberculosis* infection / N. Harada [et al.]//*J. Infect. Dis.*– 2008. – Vol.56. P.348–353.
258. Comparison of a tuberculin interferon-gamma assay with the tuberculin skin test in high-risk adults: effect of human immunodeficiency virus infection / P.J. Converse [et al.] // *J. Infect. Dis.* – 1997. –Vol.176(1). – P.144–150.
259. Comparison of ultrasound with plain radiography and CT for the detection of mediastinal lymphadenopathy in children with tuberculosis / J. Bosch-Marcet [et al.]//*Pediatr. Radiol.*- 2004.- Vol. 34, N 11.- P. 895-900.
260. Casanova, J.-L. Genetics dissections of immunity to mycobacteria: the human model / J.-L.Casanova, L.Abel // *Ann.Rev.Immunol.* 2002.- Vol.20. - P.581-620.
261. Comparative evaluation of low-molecular-mass T-cell antigens from *Mycobacterium tuberculosis* identifies members of the ESAT-6 family as immunodominant / R. Skjot [et al.] // *Infect. Immun.* – 2000. – Vol. 68. – P. 214–220.
262. CT scanning for the detection of tuberculous mediastinal and hilar lymphadenopathy in children/ S. Andronicou [et al.] // *Pediatric Radiology.*- 2004.-Vol.34,N3.-P.232-236
263. Correlation of ESAT-6-specific gamma interferon production with pathology in cattle following *Mycobacterium bovis* BCG vaccination against experimental bovine tuberculosis / H. Vordermeier [et al.]// *Infect. Immun.*-2002.-Vol. 70.- P.3026-3032.
264. Comparative evaluation of low-molecular-mass T-cell antigens from *Mycobacterium tuberculosis* identifies members of the ESAT-6 family as

- immunodominant / R. Skjot [et al.] // *Infect. Immun.* – 2000. – Vol. 68. – P. 214–220.
265. Comparison between single antigen ELISA microarray and single antigen Luminex assays for anti-HLA DQ antibodies identification in clinical transplantation / C. Gautreau [et al.]// *Eur. Imm. and Histoc. Conf.* – Prague, 2011. -P.483.
266. Detjen, A.K. Interferon-gamma release assays improve the diagnosis of tuberculosis and nontuberculous mycobacterial disease in children in a country with a low incidence of tuberculosis / A.K.Detjen // *Clin. Infect. Dis.* – 2007. - Vol. 45. - P.322–328.
267. Distribution of HLA-DRB1 alleles in multiple sclerosis patients from North-Eastern Bosnia and Herzegovina/ S. Becirovi [et al.] // *Eur. Imm. and Histoc. Conf.* – Prague, 2011. -P.496-497.
268. Diagnostic accuracy of chest radiography in detecting mediastinal lymphadenopathy in suspected pulmonary tuberculosis / G.H. Swingler du Toit G. [et al.] // *Arch. Dis. Child.*- 2005.- Vol. 90, N 11. - P. 1104.
269. Difficulty in diagnosing pediatric tuberculosis/ Losurdo G. [et al.] // *Infez. Med.* -2007.- Vol. 15, N 4.- P. 267-271.
270. Direct in vivo analysis of antigen-specific IFN- $\gamma$ -Secreting CD4 T-cells in Mycobacterium tuberculosis- infected individuals: associations with clinical disease state and effect of treatment/ A.A. Pathan [et al.] // *J. Immunol.* -2001.- Vol.167.- P. 5217-5225.
271. Durability of complete responses in patients with metastatic treated with high dose interleukin-2: identification of the antigens mediating response/ S.A. Rosenberg [et al.]// *Ann.Surg.*-1998.-Vol.228.-P.307.
272. Evaluating the potential of IP-10 and MCP-2 as biomarkers for the diagnosis of tuberculosis/ M. Ruhwald [et al.]// *Eur. Respir. J.* – 2008. –Vol.32. – P.1607–1615.

273. Exchanging ESAT6 with TB 10.4 in an Ag85B fusion molecule-based tuberculosis subunit vaccine: efficient protection and ESAT6-based sensitive monitoring of vaccine HLA-Bw15 and tuberculosis in a North American black population / L.I. Al-Arif [et al.]//*Amer. Rev. Tuberc. Dis. Control*. - 1976.-Vol.120, N6.-P.1275-1278.
274. *Genetics of infectious disease*/ A.J.Frodsham, A.V.S. Hill //*Hum.Mol.Genet.*-2004.-Vol.69.-P.187-194.
275. Fenhais G. In situ production of gamma interferon, IL-4, and TNF $\alpha$  mRNA in human lung tuberculosis granulomas/ G. Fenhais, A. Wong, J. Bezuidenhout // *Infect. Immun.*-2000.-Vol.68.-N5.-P.2827-2836.
276. Fevelova, V.V. Participation of Indo-European tribes in ethnogeny of the mongoloid population of Siberia: analysis of the HLA antigen distribution in mongoloids of Siberia/ V.V. Fevelova // *Am. J. Hum. Genet.* – 1990. – Vol. 47(2). – P. 294-301.
277. Functional analysis of early secreted antigenic target-6, the dominant T-cell antigen of *Mycobacterium tuberculosis*, reveals key residues involved in secretion, complex formation, virulence, and immunogenicity / P. Brodin [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 2005. – Vol. 280, N 40. – P. 33953–33959.
278. Flynn, J. Why is IFN- $\gamma$  insufficient to control tuberculosis? / J.Flunn // *Trends Microbiol.*-1999.-Vol.7, №12.-P.477-478.
279. Gennaro, M.L. Immunologic diagnosis of tuberculosis / M.L. Gennaro // *Clin. Infect. Dis.* – 2000. – Vol. 30. –Suppl. 1. – P. 243–246.
280. Guidelines for using the QuantiFERON-TB Gold test for detecting *Mycobacterium tuberculosis* infection / G. Mazurek [et al.] // *MMWR Recomm. Rep.* – 2005. – Vol. 54. – P. 49–55.
281. Gibert, M. Geographic patterns of functional categories of HLA-DRB1 alleles: a new approach to analyse associations between HLA-DRB1 and disease/ M. Gibert, A. Sanchez-Mazas// *Eur. J. Immunogenet.*-2003.- Vol. 30.- P.361–374.

282. Gomez-Pastrana D. Should pulmonary computed tomography be performed in children with tuberculosis infection without apparent disease?/ D.Gomez-Pastrana, A.Carceller-Blanchard // Ann. Pediatr. (Barc).- 2007.- Vol. 67, N 6.- P. 585-593.
283. Goto, Y. The relationship between NRAMP-1 gene and cytokine secretion from mouse macrophages upon stimulation with mammalian or avian type of micobacteria /Y.Goto// Tubercle Lung Dis.-2000.-Vol.80.-№6.-P.283-284.
284. HLA-antigens and tuberculosis in the Egyptian population/ M.Hafez [et al.] // Tubercle(Edinb.).- 1985.-Vol.66.-P.35-40.
285. HLA-A1-B8-DR3 and suppressor cell function in first degree relatives of patients with autoimmune chronic active hepatitis/ K.T. Nouri-Aris [et al.]// Hepatology.-1985.-Vol.1.-P235-241.
286. High-resolution HLA haplotype frequencies of stem cell donors in Germany with parentage from 17 different countries/ J. Pingel [et al.]// 25-th Eur. Immunogenetics and Histocompatibility Conference. – Prague, 2011. - P.409.
287. Human leukocyte antigen-associated susceptibility to pulmonary tuberculosis: molecular analysis of class II alleles by DNA amplification and oligonucleotide hybridization in Mexican patients/ D. Teran-Escandon [et al.]// Chest.-1999.-Vol.115.-P428-433.
288. Individual RD1-region genes are required for export of ESET-6/Cfp-10 and for virulentnce of Mycobacterium tuberculosis/ K.Guinn [et al.]// Microbiol.-2004.-Vol.51.-P.359-370.
289. Interferon  $\gamma$  release assays do not identify more children with active tuberculosis than the tuberculin skin test/ B.Kampmann [et al.]// Eur.Respir.J.-2009.-Vol.33.-P.1371-1379.
290. In vitro maturation of naive human CD4+ T lymphocytes into Th1,Th2 effectors/G. Delespesse G. [et al.] // Immunology.-1997.-Vol.113.-P.157-159.

291. Influence of HLA supertypers on susceptibility and resistance to human immunodeficiency virus type 1 infection/ K.S. McDonald [et al.] / J. Infect. Dis.- 2000.-Vol.181(5).-P1581-1589.
292. Influence of MHC class II genotype on outcome of infection with hepatitis C virus. The HENCORE group. Hepatitis C European Network for Cooperative Research/ M. Thursz [et al.]//Lancet. – 1999. – Vol.354(9196). – P.2094-5.
293. Inoue, Y. Granulomatous diseases and pathogenic microorganism / Y.Inoue, M.Suga // Kekkaku.- 2008.- Vol. 83, N 2 - P. 115-130.
294. Interaction of HLA-DR with an acidic face of HLA-DM disrupts sequence-dependent interactions with peptides/ A. Pashine [et al.] //Immunity.-2003.- Vol.19.-P.183-192.
295. Interferon-gamma release assays improve the diagnosis of tuberculosis and nontuberculous mycobacterial disease in children in a country with a low incidence of tuberculosis/ A.K. Detjen [et al.]//Clin. Infect. Dis. – 2007. – Vol.45. – P.322–328.
296. Immune responses to the Mycobacterium tuberculosis-specific antigens ESAT-6 signal subclinical infection among contacts of tuberculosis patient / T.M. Doherty [et al.] // J. Clin. Microbiol. – 2002. – Vol.40, № 2. – P. 704–706.
297. Klein, J. The natural history of the major histocompatibility complex/ J. Klein. - New York, Wiley & Sons, 1987. – 192p.
298. Lamm, L.U. The HLA Linkage group/ L.U.Lamm, G.B.Peterson// Transplant.Proc.-1979.-Vol.11, №4. - P.1962-1969.
299. Lechler R. Mechanism of HLA and disease associations/ R.Lechler //HLA and Disease / ed. R.Lecher.-London: Academic Press, 1994.-P.83-91.
300. Long-live immune response to early secretory antigenic target in individual who had recovered from tuberculosis / A. Betty [et al.] // Clin. Infect. Dis. – 2001. –

- Vol. 33. – P. 1336–1340.
301. Mismatched human leukocyte antigen alleles protect against heterosexual HIV transmission/ S.F.Lockett [et al.]// J. Acquir. Immune Defic. Syndr. – 2001. – Vol. 27(3). – P.277-80.
302. Menzies, D. Meta-analysis: New tests for the diagnosis of latent tuberculosis infection: areas of uncertainty and recommendations for research / D. Menzies, M. Pai, G. Comstock // Ann. Intern. Med. – 2007. – Vol. 146. – P. 340–354.
303. Mediastinal tuberculous lymphadenitis: CT manifestations / J.G. Im [et al.]//Radiology.-2002.- Vol. 164.-P.115-119.
304. Molecular subtypes of the HLA-DR antigens in pulmonary tuberculosis /A. Dubaniewicz [et al.]// Int.J. Infect.Dis.-2000.-Vol.4.-P.129-133.
305. Mosyak, L. The Structure of HLA-DM, the peptide exchange catalyst the loads antigen into class II MHC molecules during antigen presentation/ L. Mosyak, D.M. Zaller, D.C. Wiley// Immunity.-1998.-Vol.9.-P.377-383.
306. McDevitt H. The discovery of linkage between the MHC and genetic control of the immune response / H.McDevitt // Immunol. Rev. – 2002. – Vol. 185. – P. 78-85.
307. Nonspecific interstitial pneumonia: variable appearance at high-resolution chest CT/ T.E.Hartman [et al.]//Radiology.- 2000.-Vol.217.-P.701-705.
308. Nonspecific interstitial pneumonia. Individualization of a clinicopathologic entity in a series of 12 patients/ V. Cottin [et al.] // Crit. Care Med. – 1998.- Vol.158. –P.1286-1293.
309. .Orme M. The latent tuberculosis bacillus (I ll let you know if I ever meet one)// Int. J. Tuberc. Lung.Dis.-2001.-Vol.5, №7.-P.589-593.
310. Ozekinci, T. Comparison of tuberculin skin test and a specific T cell-based test, T-Spot. TB, for the diagnosis of latent tuberculosis infection / T. Ozekinci, E.

- Ozbek, Y. Celik // J. Int. Med. Res. – 2007. – Vol. 63, N 5. – P. 696–703.
311. Performance of whole blood IFN-gamma test for tuberculosis diagnosis based on PPD of the specific antigens ESAT-6 and CFP-10 / I. Brock [et al.] // Int. J. Tuberc. Lung Dis. – 2001. – Vol. 5, N5. – P. 426–467.
312. Prospective evaluation of a whole-blood test using Mycobacterium tuberculosis-specific antigens ESAT-6 and CFP-10 for diagnosis of active tuberculosis / P. Ravn [et al.] // Clin. Diagn. Lab. Immunol. – 2005. – Vol. 12, N 4. – P. 491–496.
313. Romagnani S. The Th1/Th2 paradigm/ S. Romagnani //Immunology.-1997.- Vol.18.-P.263-266.
314. Reversion of the ELISPOT test after treatment in Gambian tuberculosis cases / A. Aiken [et al.] // BMC Infect. Dis. – 2006. – Vol. 6. – P. 66.
315. Reconstructing an ancestral mammalian immune supercomplex from a Marsupial major histocompatibility complex/ K. Belov [et al.] //PLoS Biology. – 2006. – Vol. 4(3). – P. 46.
316. Roche, P.A. High-affinity binding of an influenza hemagglutinin-derived peptide to purified HLA-DR/ P.A. Roche, P.J. Cresswell// Immunol. – 1990. – Vol. 144. – P. 1849-1856.
317. Roche, P.A. Formation of a nine-subunit complex by HLA class II glycoproteins and the invariant chain/ P.A.Roche, M.S. Marks, P. Cresswel // Nature. – 1991. – Vol. 354(6352). – P. 392-394.
318. Remy-Jardin, M. Spiral CT of the chest/ M. Remy-Jardin, J. Remy. - Berlin: Springer, 1996.-331 p.
319. Rock, K.L. Post-proteasomal antigen processing for major histocompatibility complex class I presentation / K.L. Rock, I.A. York, A.L. Goldberg// Nat. Immunol. – 2004. – Vol. 5(7). – P. 670-677.



320. Roe, D.L. Association of HLA-DQ and –DR alleles with protection from or infection with HIV-1/ D.L. Roe, R.E. Lewis, J.M. Cruse // *Exp. Mol. Pathol.* – 2000. –Vol. 68(1). – P.21-8.
321. Quint, L.E. Imaging of anterior mediastinal masses/L.E. Quint// *Cancer Imaging.*- 2007.- Vol.1, N. 7, Spec No A.- P. 56-62.
322. Sensitivity of a new commercial enzyme-linked immunospot assay (T SPOT-TB) for diagnosis of tuberculosis in clinical practice / T. Meier [et al.] // *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* – 2005. – Vol. 24. – P. 529–536.
323. Schluger, N.W. The host immune response to tuberculosis/ N.W. Schluger, W.N. Rom// *Crit. Care Med.*- 1998.- Vol.157, N3.-P.679-691.
324. Scollard D.M. The continuing challenges of leprosy// D.M. Scollard [et al.] // *Clin.Microbiol.Rev.*-2006.-Vol.19(2).-P.-338-381.
325. Skin test performed with highly purified Mycobacterium tuberculosis recombinant protein triggers tuberculin shock in infected guinea pigs / S.T. Reece [et al.] // *Infect. Immun.* – 2005. – Vol. 73, N 6. – P. 3301–3306.
326. Sensitivity of a new commercial enzyme-linked immunospot assay (T SPOT-TB) for diagnosis of tuberculosis in clinical practice/ T. Meier [et al.]// *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* – 2005. – Vol.24. –P.529–536.
327. Snowden M. MHC polymorphisms and associated with the rate of disease progression in HIV infection/ M. Snowden, I.Pepper, S. Khoo// *Hum.Immunol.*- 1996.-Vol.47.-P.119
328. Sensitivity of a new commercial enzyme-linked immunospot assay (T SPOT-TB) for diagnosis of tuberculosis of in clinical practice/T.Meier [et al.]// *Eur J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 2005.-V.-24.-P.529-536.
329. Sequencing based typing of exon 2 and 3 of HLA-DQB1 in a single tube/ D. De Santis [et al.]// *Eur. Imm. and Histoc. Conf.* – Prague,2011-P.485.

330. Structure of the human class I histocompatibility antigen, HLA-A2/ P.J. Bjorkman [et al.]// Nature. – 1987. – Vol. 329. – P. 506-512.
331. Stern, L.J. Crystal structure of the human class II MHC protein HLA-DR1 complexed with an influenza virus peptide / L.J. Stern, J.H. Brown, T.S. Jardetzky// Nature. – 1994. – Vol. 368(6468). – P. 215-221
332. Streeton, J.A. Sensitivity and specificity of a gamma interferon blood test for tuberculosis infection/ J.A. Streeton, N. Desem, S.L. Jones/ Int. J. Tuberc. Lung Dis. – 1998. - Vol. 2. – P.443–450.
333. Steinhoff, U. Specific lysis by CD8+ Tcells of Schwann cells expressing Mycobacterium leprae antigens/ U.Steinhoff, S.H.Kaufmann// Eur. J.Immunol.-1998.-Vol.18.-P.969-972.
334. Specific amino acid sequence positions of single MHC class I mismatches are related to T-cell alloreactivity/ H.Joris [et al.]// 25-th Eur. Immunogenetics and Histocompatibility Conference. – Prague, 2011. - P.415.
335. Specific immune based diagnosis of tuberculosis / P. Andersen [et al.] // Lancet. – 2000. – Vol. 356, N 9235. – P. 1099–1104.
336. Svejgaard, A. HLA and disease associations: Detecting the strogest assosiation/ A. Svejgaard, L.P. Ryder// Tissue Antigens.-1994.-N.43.-P.18-27.
337. Teixeira, H. C. Immunological diagnosis of tuberculosis: problems and strategies for success / H.C. Teixeira, C. Abramo, M.E Munk // J. Bras. Pneumol. – 2007. – Vol. 33, N 3. – P. 323–334.
338. The foreign antigen binding site and T cell recognition regions of class I histocompatibility antigens/ P.J. Bjorkman [et al.]// Nature. – 1987. – Vol. 329. – P.456.
339. The discovery of linkage between the MHC and genetic control of the immune respore/ H. McDevitt// Immunol. Rev. – 2002. – Vol. 185. – P. 78-85.
340. T-cell activation, apoptosis and cytokine dysregulation in the pathogenesis of pulmonary tuberculosis (TB) /Hertoghe T. [et al.] // Eur. J. Immunol.-2000.-Vol.122.-№3.-P.350-357.

341. T-SPOT.TB Test(R) results in adults with *Mycobacterium avium* complex pulmonary disease/ LV.Adams [et al.]// Scand. J. Infect. Dis. - 2008.-Vol.40-P.196–203.
342. Thorsby, E. Invited anniversary review: HLA associated diseases/ E.Thorsby// Hum. Immunol. – 1997. – Vol. 53(1). – P. 1-11.
343. The association of HLA-DRB, DQA1, DQB1 alleles and haplotype frequency in Iranian patients with pulmonary tuberculosis// A.A.Amirzargar et all./ Int. J. Tuberc. Lung Dis.-2004.-Vol.8(8).-P.1017-1021.
344. The continuing challenges of leprosy/D.M.Scollard [et al.]// Clin. Microbiol.Rev.-2006.-Vol.19(2).-P.338-381.
345. Travis, W.D. American Thoracic Society/ European Respiratory Society International multidisciplinary consensus classification of the idiopathic interstitial pneumonias/ W.D. Travis., T.E. King// Crit.Care Med.- 2002.-Vol.165.-P.277-304.
346. Use in routine clinical practice of two commercial blood tests for diagnosis of infection with *Mycobacterium tuberculosis*: a prospective study./ G. Ferrara [et al.]// Lancet. -2006.-Vol.367. -P.1328-1334.
347. Use of whole-blood samples in in-house bulk and single-cell antigen-specific gamma interferon assays for surveillance of *Mycobacterium tuberculosis* infections/R.Palazzo [et al.] //Clin. Vaccine Immunol. - 2008.-Vol.15.-P.327–337.
348. World Health Organization. Global Tuberculosis Control: WHO Report 2011. World Health Organization Document 2011, Publication No. WHO/HTM/TB/2011.16. -Geneva, WHO Press, 2011.
349. Zinkernagel, R.M. Immunological surveillance against altered self components by sensitized T lymphocytes in lymphocytic choriomeningitis / R.M.Zinkernagel, P.C. Doherty// Nature. – 1974. – Vol.251. – P.547-548.