© Бородулина Е.А., Бородулин Б.Е., 2005

Е.А. Бородулина, Б.Е. Бородулин

ПРОБЛЕМЫ ВЫЯВЛЕНИЯ ИНФИЦИРОВАНИЯ *MYCOBACTERIA TUBERCULOSIS* У ДЕТЕЙ С АТОПИЧЕСКИМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ В ПРАКТИКЕ ВРАЧА ПЕДИАТРА

Самарский государственный медицинский университет, г. Самара, РФ

Обследовано 155 детей с атопическими заболеваниями по результатам пробы Манту с 2 ТЕ. Наибольшую трудность в диагностике инфицирования *M. tuberculosis* представляли дети с монотонными и нарастающими по годам пробами. У детей с аллергическими заболеваниями выявлена меньшая выраженность ответной реакции на туберкулин. Факторный анализ выявил значимые иммунологические показатели для инфекционной туберкулиновой аллергии: общий IgE, IgG, ИЛ2, CD4+, CD8+, CD16+ клетки. Кластерный анализ показал близкие значения по пробе Манту с 2ТЕ и увеличение показателей клеточного звена иммунитета при инфицировании микобактериями. Наличие аллергических заболеваний влияет на чувствительность к туберкулину.

Authours examined 155 children with atopic diseases according to results of Mantoux test with 2TU. Most difficulties in diagnostics of *M. tuberculosis* contamination occurred in children with monotonous and increasing from year to year results of Mantoux test. Children with allergic diseases demonstrated less significant response on tuberculin. Factor analysis showed significant immunologic parameters for infectious a tuberculin allergy: total IgE, IgG, IL2, CD4+, CD8+, CD16+ cells. Cluster analysis showed similar parametres of Mantoux test with 2 TU and increases parameters of cellular immunity is cases of *M. tuberculosis* contamination. Presence of allergic diseases can influence upon sensitivity to tuberculin.

За последнее десятилетие в России возросла детская заболеваемость туберкулезом с 7,4 до 18,6 на 100 тыс детского населения, инфицированность микобактериями туберкулеза детей — с 6% до 20,7%, а в некоторых районах до 70% [1]. До 15% детского населения страдают аллергическими заболеваниями (АЗ) [2].

Туберкулиновые пробы, как метод раннего выявления туберкулезной инфекции, на сегодняшний день оказались недостаточно эффективными [3,4].

Много противоречивых данных о чувствительности к туберкулину у детей с атопическими заболеваниями, возникают проблемы с интерпретацией результатов плановой туберкулинодиагностики. Ряд авторов расценивают АЗ, как состояния, искажающие туберкулиновую чувствительность в сторону ее повышения [5]. По данным других авторов, существует обратная зависимость между аллергическим состоянием и реактивностью к туберкулину, проявляющаяся меньшей выраженностью кожной реакции к туберкулину у пациентов с атопическими заболеваниями, чем без атопии [6].

Таким образом, в настоящее время проблема диагностики инфицирования *M. tuberculosis* детей с АЗ весьма актуальна.

Цель исследования — повысить эффективность диагностики инфицирования *M. tuberculosis* детей с атопическими заболеваниями.

Материалы и методы исследования

Рандомизированным методом было отобрано 155 детей с атопическими заболеваниями в возрасте от 3 до 17 лет, состоящих на учете у педиатра. Распределение детей по возрасту проводили в соответствии со сроками ревакцинации против туберкулеза (табл. 1).

Всем детям ставили пробы Манту (ПМ) с 2 ТЕ и проводили индивидуальную туберкулинодиагностику с помощью накожной градуированной пробы Гринчара—Карпиловского с 100%, 25%, 5% и 1% растворами туберкулина. Контролем служили дети с отрицательной ПМ с 2 ТЕ.

Клинико-рентгенологическое обследование включало в себя проведение стандартной рентгенографии, общий анализ крови. Иммунологические методы исследования включали определение субпопуляций лимфоцитов с помощью моноклональных антител серии ЛТ. Вычисляли процент общей популяции клеток, экспрессирующих CD4+, CD8+, CD16+ маркеры. Одновременно проводили клинический анализ крови для определения абсолютного количества клеток. Содержание IgA и G в сы-

Таблица 1

Распределение обследованных детей с АЗ по полу и возрасту

Возраст, годы	Мальчики		Девочки		Всего	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%
3—6	9	5,8	6	3,9	15	9,7
7—14	49	31,6	73	47,1	122	78,7
15—17	8	5,2	10	6,5	18	11,6
Итого	68	42,6	87	57,5	155	100

воротке крови определяли методом Манчини. Концентрацию общего IgE и ИЛ2 в сыворотке пациентов определяли иммуноферментным методом.

В обработке полученных результатов использованы методы статистической обработки с позиции доказательной медицины: дескриптивная статистика, дискриминантный и факторный, кластерный анализ [7, 8].

Результаты и их обсуждение

Среди обследованных детей атопический дерматит составлял 35,5% (55), бронхиальная астма — 34,2% (53), поллиноз — 24,5% (38) и аллергический ринит — 5,8% (9).

После постановки и оценки ПМ с 2 ТЕ при массовой туберкулинодиагностике, с целью выявления инфицирования *M. tuberculosis* были выявлены отрицательные результаты ПМ с 2 ТЕ в 37,4% (58), положительные ПМ — в 62,5% (97) случаев. Анализ положительных ПМ с 2 ТЕ и оценка ПМ в динамике по годам показали следующее: инфекционный характер ПМ — «вираж» — выявлен в 14,8% (23) случаев; монотонные результаты — в 29,7% (46); нарастающие ПМ — у 18% (28) детей. Во всех группах детей с АЗ отмечается преобладание слабоположительных ПМ 5—9 мм над 10—16 мм, особенно в группе детей с нарастающими результатами (табл. 2).

В индивидуальной туберкулинодиагностике нуждались 74 ребенка (47,8%) с монотонными и нарастающими результатами ПМ, так как решить вопрос об их инфицировании *M. tuberculosis* не представлялось возможным.

Для уточнения ПМ инфекционного характера нами была проведена индивидуальная туберкулинодиагностика — градуированная накожная проба с туберкулином — и изучены показатели гуморального и клеточного иммунитета.

Градуированная накожная проба показала инфекционный характер аллергии (положительные ответы на 100%, 25%, 5% и 1% растворы туберкулина) у 78,3% (18) детей, имеющих вираж ПМ. При монотонной чувствительности реакции на данные концентрации туберкулина выявлялись в 21,7% случаев (10), при нарастающих результатах — в 10,7% (3). Зависимости результатов градуированной накожной пробы от возраста не отмечено.

Таким образом, нами не выявлены характерные патогномоничные признаки, характерные для инфекционной туберкулиновой аллергии при атопических заболеваниях по жалобам, клиническим проявлениям, физикальным и функциональным данным. Результаты стандартной ПМ с 2ТЕ не позволили провести дифференциальную диагностику поствакцинальной и инфекционной аллергии у детей с монотонными и нарастающими пробами. Индивидуальная туберкулинодиагностика по накожной градуированной пробе Гринчара—Карпиловского не позволила установить инфекционную аллергию в наиболее сложных для дифференциальной диагностике случаях (нарастающие и монотонные пробы).

При сравнительной оценке результатов исследования иммунологических показателей (табл. 3) выявлено, что количество Т-клеток, экспрессирующих на своей поверхности маркеры CD4+, CD8+, CB16+клеток и уровень ИЛ2 повышены во всех группах детей с положительными ПМ в разной степени выраженности по сравнению с детьми, имеющими отрицательную ПМ. При оценке гуморальных показателей иммунитета наибольшие изменения отмечены в уровне IgE.

Таблица 2

Результаты положительных ПМ с 2 ТЕ у детей с АЗ

Размер ПМ с 2 ТЕ, мм	"Вираж"		Монотонные результаты		Нарастающие результаты		Всего	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
5—9	9	39,1	28	60,9	24	85,7	61	39,4
10—16	14	60,9	18	39,1	4	14,3	36	23,2
Итого	23	100	46	100	28	100	97	62,6

Таблица 3

Показатели туберкулинодиагностики и иммунитета в зависимости от результатов ПМ с 2 ТЕ у наблюдаемых больных

Показатели	ПМ с 2 ТЕ			
	отрицательная (n=58)	монотонная (n=46)	нарастающая (n=28)	вираж (n=23)
Возраст, годы	9,50±0,39	10,56±0,49	10,64±0,46	8,58±0,87
ПМ исходно, мм	0	9,76±0,31	7,46±0,42	9,27±0,64
ПМ в динамике, мм	0	0	9,96±0,43	6,17±0,49
ПМ исх–ПМ в дин., мм	0	0	1,35±0,30	0,17±0,12
Накожная проба 100%, мм	0	1,17±0,14	2,75±0,08	3,29±0,20
Накожная проба 25%, мм	0	0,26±0,08	0,96±0,17	2,64±0,17
Накожная проба 5%, мм	0	0,06±0,03	0,14±0,08	1,52±0,27
Накожная проба 1%, мм	0	1,19±0,05	0,00±0,00	0,76±0,25
Лимфоциты, %	33,0±1,04	35,40±1,18	36,22±1,44	39,00±1,06
ИЛ2, МЕ/мл	16,48±2,13	33,10±5,91	35,90±5,65	68,06±3,61
CD4+клетки, %	29,28±1,0	38,39±1,20	39,07±1,25	55,98±9,18
CD8+клетки, %	26,98±0,95	30,21±1,50	29,11±1,39	30,33±0,88
CD16+клетки, %	11,4±1,7	15,80±1,54	18,22±1,82	21,83±0,94
IgE, МЕд/мл	602,93±20,89	356,19±18,08	373,39±17,10	316,17±23,43
IgA, г/л	1,03±0,03	1,03±0,029	1,02±0,02	1,13±0,01
IgG, г/л	9,42±0,35	10,64±0,59	10,96±0,56	9,77±0,50

Проведенный факторный анализ в группах выделил два значимых фактора: первый определяется результатами туберкулинодиагностики, второй — иммунологическими показателями.

При «вираже» фактор 1 определяется возрастом пациента, результатом ПМ с 2 ТЕ (исходное, в динамике и их разницей), положительными накожными пробами на 5% и 1% растворы туберкулина; фактор 2 определяется уровнем лимфоцитов, общего IgE, ИЛ2 и IgG.

При нарастающей чувствительности к туберкулину по ПМ с 2ТЕ фактор 1 определяется ПМ с 2ТЕ (исходное и в динамике), накожной туберкулиновой пробой на 25%, 1% растворы туберкулина; фактор 2 — уровнем лимфоцитов, CD4+, СД16+клеток, общего IgE, IgG и ИЛ2.

При монотонной чувствительности к туберкулину по ПМ с 2ТЕ фактор 1 определяется накожной пробой на 100%, 25% растворы туберкулина; фактор 2 — уровнем общего IgE, IgA, IgG, ИЛ2, количеством CD8+, CD16+ клеток.

Для оптимизации кластерного анализа вся матрица изучаемых показателей была стандартизирована: из каждой переменной вычитали среднее арифметическое значение и полученную разницу делили на корень квадратный из дисперсии. Затем осуществляли кластерный анализ методом к-средних. Формирование группирующих переменных осуществляли с применением дисперсионного анализа. В модель включали только те показатели, значимый р-уровень которых не превышал 0,05. Применяли одновременную группировку объектов исследования и признаков.

Результатом применения процедуры кластеризации всех групп стало формирование двух кластеров (рис. 1): кластер 1 включает пациентов с поствакци-

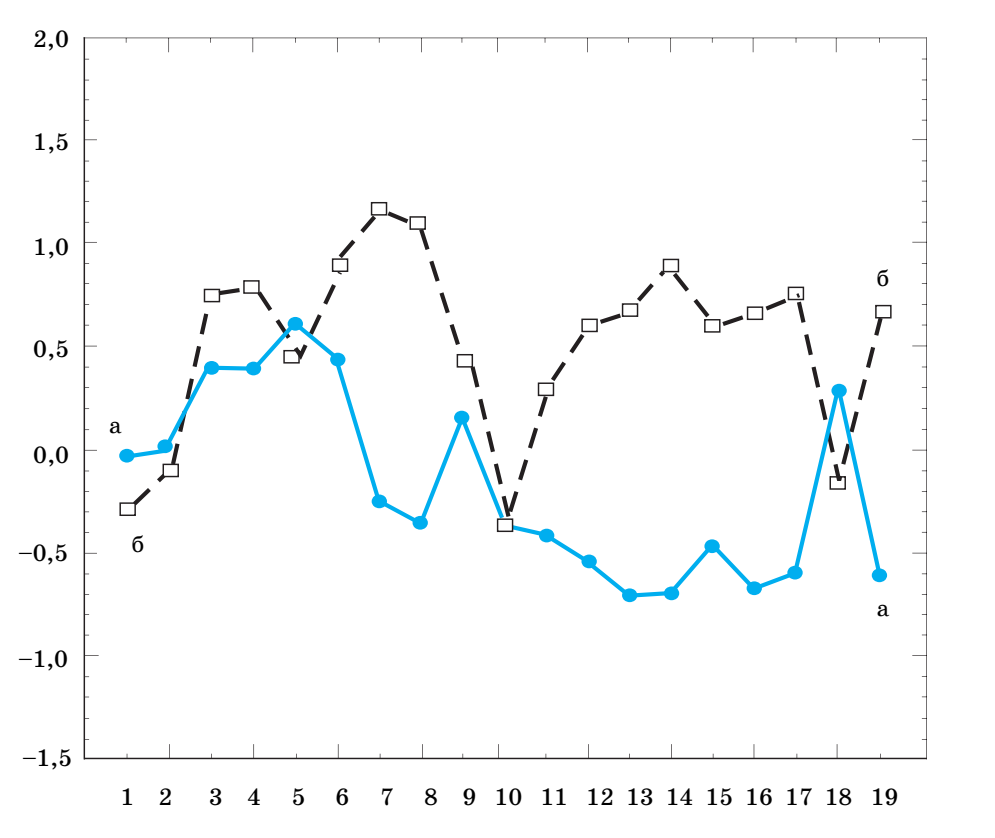

Рис. 1. Результаты кластерного анализа показателей у наблюдаемых больных.
а — кластер 1 — поствакцинальная туберкулиновая аллергия; б — кластер 2 — инфекционная туберкулиновая аллергия; 1 — возраст, годы; 2 — эозинофилы, %; 3 — ПМ 2 с ТЕ исходная, мм; 4 — ПМ с 2 ТЕ в динамике, мм; 5 — ПМ на фоне антигистаминного препарата, мм; 6 — накожная проба 100%, мм; 7 — накожная проба 25%, мм; 8 — накожная проба 5%, мм; 9 — накожная проба 1%, мм; 10 — общий IgE исходный, МЕд/мл; 11 — лейкоциты, • 10^9 г/л; 12 — лимфоциты, %; 13 — CD4+ клетки, %; 14 — CD8+ клетки, %; 15 — CD16+ клетки, %; 16 — ИЛ2, МЕ/мл; 17 — IgA, г/л; 18 — общий IgE в динамике, МЕд/мл; 19 — IgG, г/л.

нальной аллергией (15 детей с монотонными и 18 с нарастающими пробами); кластер 2 — дети с инфекционной туберкулиновой аллергией (все дети с «виражом», 31 с монотонными пробами, 10 с нарастающими пробами).

Кластеры изучаемых типов туберкулиновой аллергии на участке результатов ПМ с 2ТЕ, накожной пробы со 100% раствором туберкулина, исходного уровня общего IgE, эозинофилов показывают близкие значения показателей. Это позволяет предположить, что характер туберкулиновой аллергии не всегда может быть определен по оценке методов туберкулиновой диагностики и они не позволяют достоверно диагностировать на ранних стадиях инфицированность *M. tuberculosis*.

Наибольшие различия между кластерами определяются по результатам иммунологических показателей клеточного звена иммунитета. При инфекционной туберкулиновой аллергии (кластер 2) отмечается повышение уровня лимфоцитов, маркеров CD4+, CD8+, CD16+ клеток, ИЛ2. В кластере 1 отмечается сниженное содержание данных иммунокомпетентных клеток.

Таким образом, формирование иммунного ответа у пациентов с различным характером туберкулиновой аллергии является определяющим в дифференциальной диагностике данных состояний. При инфицировании микобактериями активируется клеточный тип иммунного ответа, изменения в гуморальном звене не являются значимыми. Защитная реакция организма при заражении микобактериями осуществляется посредством двух основных механизмов. Один из них — активация инфицированных макрофагов, опосредуемая цитокинами, которые продуцируются Т-лимфоцитами. Второй механизм — разрушение возбудителя, осуществляемый главным образом CD8+, CB16+клетками в комплексе с другими механизмами цитотоксичности. Оба феномена служат проявлением клеточной иммунной ответной реакции и контролируют развитие иммунного процесса поствакцинального и инфекционного генеза.

На основании полученных результатов была разработана дискриминантная модель описанных выше типов туберкулиновой аллергии с применением стандартного метода («Standard») (рис. 2). Дискриминантный анализ, кроме задачи по составлению линейной регрессии по расчету дискриминантных меток, выполняет также задачу по проверке и уточнению адекват-

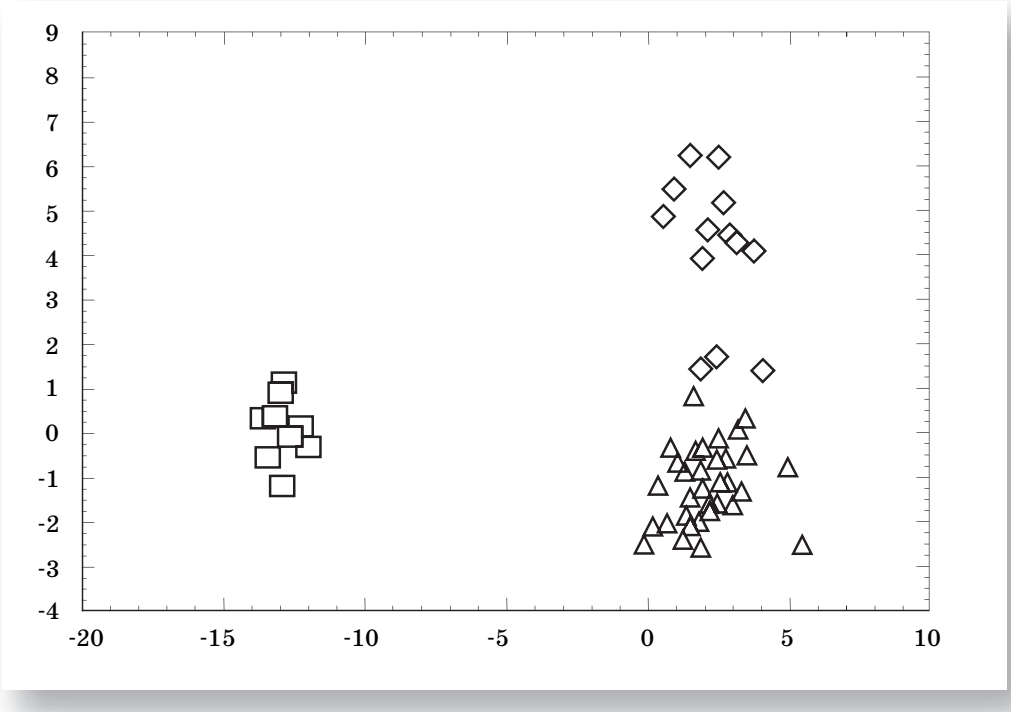

Рис. 2. Рассеивание канонических значений в дискриминантной модели иммунного ответа при различных типах туберкулиновой аллергии у наблюдаемых больных.
□ G1:0 — неинфицированные; ◇ G2:1 — поствакцинальная туберкулиновая аллергия; △ G3:2 — инфекционная туберкулиновая аллергия.

ности модели. Полученная математическая модель определения инфицирования имеет высокий процент корреляции ($r^2 = 0,98$) и высокую степень достоверности ($F = 96,910$; $p<0,0000$). У детей с поствакцинальной аллергией диагноз подтвержден в 96,2%, при инфекционной — в 98% случаев.

В настоящее время до конца не определены дифференциально-диагностические критерии и критерии ранней диагностики инфекционной туберкулиновой аллергии у детей с атопическими заболеваниями. Выявленные нами закономерности формирования типов иммунного ответа при поствакцинальной и инфекционной аллергии позволяют дополнить традиционные методы туберкулинодиагностики данных состояний определением маркеров (иммунологических показателей) инфекционной аллергии.

Заключение

Наличие АЗ влияет на чувствительность к туберкулину. У детей с АЗ выявлена меньшая выраженность ответной реакции на туберкулин. Выявление повышенного уровня общего IgE, IgG, ИЛ2, CD4+, CD8+, СД16+клеток позволяет дополнить традиционные методы туберкулинодиагностики и провести дифференциальную диагностику поствакцинальной и инфекционной туберкулиновой аллергии у детей с атопическими заболеваниями.

Результаты проведенного исследования дают основание полагать, что именно с позиций клинической иммунологии будут существенно расширены возможности дифференциальной диагностики инфекционной туберкулиновой аллергии.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Митинская Л.А., Елуфимова В.Ф., Юхименко Н.В., Демешко Н.Д.* // 3-й Рос. конф. фтизиопедиатров.— М., 1997.— С. 24—25.

2. *Хаитов Р.М., Богова А.В., Ильина Н.И.* // Иммунология.— 1998.— №3.— С. 4—9.

3. *Аксенова В.А.* // Рос. вестн. перинатологии и педиатрии.— 2002.— № 3.— С. 41—45.

4. *Merino J.M., Carpintero I.* // Chest.— 1999.— Vol. 115, № 1.— P. 26—30.

5. *Козлова О.Ф., Чугаев Ю.П., Дъячкова Г.К. и др.* // 7-й Рос. съезд фтизиатров «Туберкулез сегодня».— М., 2003.— С. 150.

6. *Von Mutius E.* //Rev. Fr. Allergol. et Immunol. Clin.— 1999.— Vol. 8.— P. 649—652.

7. *Айвазян С.А., Мхитарян В.С.* Прикладная статистика и основы эконометрики. Учебник для вузов.— М., 1998.— 1022 с.

8. *Леонов В.П., Ижевский П.В.* // Междунар. журнал мед. практики.— 1998.— № 4.— С. 7—15.