

Скрининг туберкулезной инфекции. Современное состояние проблемы

Е.А. Бородулина (borodulinbe@yandex.ru)

ГБОУ ВПО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России

Резюме

Введение. В настоящее время вопрос раннего выявления туберкулезной инфекции у детей с использованием как основного метода туберкулинодиагностики является чрезвычайно актуальным. На фоне существующей полемики об эффективности иммунодиагностики туберкулезной инфекции предлагается методика постановки кожных проб с помощью прик-теста, разработанная и запатентованная в Самарском государственном медицинском университете.

Цель работы – оптимизировать скрининговую иммунодиагностику на туберкулезную инфекцию.

Материалы и методы. Проводились проба Манту с очищенным туберкулином в стандартном разведении 2ТЕ и проба прик-тест у 300 детей в возрасте от 3 до 7 лет. **Результаты и выводы.** Сравнивалась методика постановки проб, качественные характеристики методик, а также результаты проб с помощью ультразвукового исследования папулы. Представленные данные показывают преимущества предлагаемой методики, прошедшей регистрацию и сертификацию.

Ключевые слова: иммунодиагностика, кожные пробы, туберкулез, проба Манту, прик-тест, микобактерия туберкулеза, туберкулинодиагностика, иммунодиагностика, туберкулезная инфекция

Screening for TB Infection. State of the Problem

E.A. Borodulina (borodulinbe@yandex.ru)

State Educational Institution of Higher Professional Training «Samara State Medical University», of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation,

Abstract

Introduction. Currently, the issue of early detection of tuberculosis infection in children with use as the primary method of tuberculin is extremely important. Against the background of the current debate about the effectiveness of TB infection immunodiagnostics the technique of posing skin tests using a skin prick test, developed and patented in the Samara State Medical University.

Purpose. To optimize the screening immunodiagnostics of TB infection.

Materials and methods. Were Mantoux tuberculin purified with the standard and the sample dilution 2mE prick test in 300 children aged 3 to 7 years.

Results and conclusions. Compares the staging technique samples, the qualitative characteristics of the techniques and the results of tests with the help of ultrasound papules. The data show the advantages of the proposed method, the last registration and certification.

Key words: immunodiagnostics, skin test, TB Mantoux test, skin prick test, Mycobacterium tuberculosis, tuberculin, immunodiagnostics, TB-infection

Введение

История развития медицины показывает, что внедрение новых методов диагностики и лечения чаще всего проходит сложный путь, при этом административный ресурс зачастую играет немаловажную роль как положительную, так иногда отрицательную из-за сложности «вписать» новые методы в существующие стандарты, инструкции и приказы.

Так, в настоящее время в научных кругах, в средствах массовой информации активно обсуждается вопрос раннего выявления туберкулезной инфекции у детей с использованием как основного метода туберкулинодиагностики [1 – 4]. В условиях сохранения напряженной ситуации по туберкулезу эта проблема является чрезвычайно актуальной [5, 6].

Если посмотреть исторически на данный вопрос, то впервые туберкулин приготовил и применил на практике немецкий ученый Роберт Кох

в 1890 – 1891 годах. История развития методов туберкулинодиагностики начинается с 1907 года, когда Пирке предложил применять туберкулин путем скарификации поверхностного слоя эпидермиса специальным бориком [7]. За более чем столетний период сложилась определенная система по раннему выявлению туберкулеза у детей и подростков с помощью применения внутрикожной пробы Манту с туберкулином в стандартном разведении 2ТЕ для массового обследования детского населения (скрининг) [8]. При этом проба Пирке сохраняла и всегда имела место во фтизиопедии как метод индивидуальной диагностики [9]. Применение накожной пробы является более специфичным методом, но применение пробы Пирке для массовой диагностики было невозможно в связи с невозможностью стандартизации методики и сложности разведения туберкулина в общей лечеб-

ной сети. За более чем 70-летний период проблем и осложнений при применении этой методики не было. Более того, специализированные противотуберкулезные центры в случае дифференциальной диагностики предпочитали применять пробы с разведениями сухого туберкулина (Проба Гинчар-Карпиловского, проба с разведениями) [10]. Этот метод прошел многолетний путь, существует множество работ в профильных журналах за многие годы. Критических работ, умаляющих достоинство и более высокую чувствительность сухого туберкулина, за все годы не было ни одной как в отечественной, так и в зарубежной литературе.

Самым страшным во врачебной деятельности является халатность медицинских работников при выполнении своих обязанностей. Примером этого являются события в Приморском крае в октябре 2013 года при проведении массовой туберкулинодиагностики учащихся МБОУ «Средняя общеобразовательная школа № 1» с. Новосысоевка, где были нарушены требования приказа Министерства здравоохранения РФ от 21.03.2003 № 109 «О совершенствовании противотуберкулезных мероприятий в Российской Федерации». Врач для выявления возможных противопоказаний не опросила и не провела обязательный осмотр несовершеннолетних лиц, подвергающихся туберкулинодиагностике, не изучила медицинскую документацию, самоустранилась от проведения туберкулинодиагностики, покинув место ее проведения. Кроме того, она не осуществила надлежащий контроль за работой подчиненного ей среднего медицинского персонала (медицинских сестер), проводивших туберкулинодиагностику. В результате ненадлежащего исполнения врачом своих должностных обязанностей учащимся была проведена туберкулинодиагностика с грубым нарушением разведения сухого туберкулина, концентрация которого значительно превысила допустимую дозу.

Для информации: в 1 ампуле сухого туберкулина содержится 50 000 туберкулиновых единиц. При разведении 1 мл растворителя в 0,1 мл разведенного сухого туберкулина оказывается 5000 ТЕ, то есть в 2500 раз выше, чем утвержденная приказом МЗ РФ доза в 2ТЕ. Естественно, доза введенного туберкулина вызвала реакцию организма, прежде всего у детей, инфицированных туберкулезной инфекцией. У 32 школьников была токсико-аллергическая реакция на туберкулин, расцениваемая как легкий вред здоровью, 29 детей были госпитализированы. Тем самым были существенно нарушены права учащихся на охрану здоровья и медицинскую помощь, предусмотренные ст. 41 Конституции РФ [11].

Медицинское сообщество региона еще тогда объясняло случившееся человеческим фактором. Так, бывший руководитель Департамента здравоохранения края, главный врач Приморской детской клинической туберкулезной больницы Ю.А. Селютин заявил, что ЧП с пробами Манту – след-

ствие безответственного отношения конкретных медицинских работников конкретной больницы к проведению процедуры, а не системная проблема в здравоохранении края. «Проводили пробу сотрудники, которые работают не первый день, но их невнимательность и недисциплинированность привели к печальным последствиям» – заявлял Ю.А. Селютин.

Как стало известно РИА «Восток-Медиа», врач-педиатр и медсестра превысили количество вводимого препарата в 2,5 тысячи раз. «Стоит отметить, что эксперименты по использованию туберкулина в такой дозе никем не проводились» – сообщила пресс-служба следственного управления Следственного комитета РФ по Приморскому краю.

Как туберкулин, выпущенный в сухой форме и рекомендованный для использования в специализированных клиниках и противотуберкулезных диспансерах, мог оказаться в общей лечебной сети, остается до сих пор неизвестным [12], мало того, медсестра не имела специального допуска к проведению туберкулинодиагностики.

В.А. Аксенова, главный фтизиопедиатр Минздрава России, выразила опасения, что главная опасность ситуации заключается в том, что пока неизвестно, как после «прививки» поведет себя организм дальше. Первую реакцию – неспецифическую, поборошь легко, а вот проявление второй – специфической, придется ждать до двух месяцев и более [13]. В данном случае имелось в виду, что проба могла спровоцировать имеющийся туберкулезный процесс, так как туберкулином заразить человека нельзя, он является неполноценным антигеном (гаптеном).

Директор департамента медицинской помощи детям и службы родовспоможения Минздрава РФ Е.Н. Байбарина заявила: «То, что произошло в Приморском крае в селе Новосысоевка, непрофессионализм и халатность, которым, с моей точки зрения старого фтизиатра советского периода, нет объяснения. Я тоже задаюсь вопросом, как и почему это произошло? Кто виноват. За более чем сто лет использования туберкулиновой пробы таких ситуаций не было. Мораль из этого случая проста и понятна каждому здравомыслящему медицинскому работнику: прежде чем предпринять какой-то шаг, связанный с применением биологических препаратов, убедись в порядке его использования» [14].

В результате доказанного случая халатности и непрофессионализма медиков крайним «оказался» сам препарат «сухой туберкулин». В настоящее время принято решение о запрете применения сухого туберкулина.

Данная ситуация отражает подход необоснованного запрещения препарата. Хотя можно предположить, что подобные нарушения и проявления «человеческого фактора» могут иметь место при любых обстоятельствах. Существующая методика постановки пробы с забором из ампулы 0,2 мл раствора и введения 0,1мл не исключает подоб-

ных нарушений, как при применении туберкулина в стандартном разведении, так и аллергена туберкулезного рекомбинатного (препарата Диаскин-тест), возможны нарушения техники введения или набора в шприц большей дозы, так как раствор в емкости рассчитан на множество проб. Осложнения, связанные с квалификацией персонала в настоящее время, как показывает данная история, исключить невозможно. Так может посмотреть на саму методику постановки пробы и предупредить возможные проявления негативного человеческого фактора, а сделать методику абсолютно безопасной и стандартизированной.

Если посмотреть исторически, то пробы с сухим туберкулином всегда были более специфическими (так как не содержат в себе консерванты и стабилизаторы, сама кожная проба является более специфической), и назначались детям с противопоказаниями к пробе Манту, как индивидуальная диагностика [15].

В настоящее время разработано и запатентовано устройство для постановки кожных проб с туберкулином и другими аллергенами «Прик-тест» и методика его применения [16].

Цель настоящей работы – оптимизировать скрининговую иммунодиагностику на туберкулезную инфекцию.

Материалы и методы

Рандомизированным методом отобрано 300 детей для очередной туберкулинодиагностики с предшествующими положительными результатами пробы Манту с 2ТЕ. Возраст детей был от 3 до 7 лет ($5,2 \pm 1,9$). Все дети были вакцинированы БЦЖ в роддоме. На правой руке ставилась проба Манту с очищенным туберкулином в стандартном разведении 2ТЕ, на левой руке проба прик-тест.

Для проведения пробы методикой прик-тест использовалось стерильное одноразовое устройство для постановки кожных проб с туберкулином и другими аллергенами – прик-ланцет (патент на полезную модель № 83168 от 27 мая 2009 г.) [17], аллерген туберкулезный очищенный сухой (сухой очищенный туберкулин (ППД-Л) 50 000 ТЕ). Исследование было одобрено Комитетом по биоэтике при Самарском государственном медицинском университете.

Раствор туберкулина для постановки пробы Прик-тест готовили следующим образом: ампулу с сухим очищенным туберкулином (ППД-Л) протирают марлей, смоченной 70° этиловым спиртом, затем шейку ампулы подпиливают ножом для вскрытия ампул и отламывают. Аналогичным образом вскрывают ампулу с растворителем. Раствор для пробы получали следующим образом: сухой очищенный туберкулин (в ампулы) разводили 1 мл растворителя.

При проведении туберкулиновой пробы пациент находился в положении сидя. Кожу верхней трети предплечья протирают 70° спиртом. Каплю

с приготовленным раствором туберкулина нанесли пипеткой на подготовленную кожу. Прокол кожи до упора делали основанием рабочей части предлагаемого устройства (прик-ланцет). Остатки туберкулина высыхали естественным путем. Пробу оценивали через 72 часа, учитывали наличие инфильтрата (папулы), измеряли поперечный диаметр инфильтрата (папулы) прозрачной миллиметровой линейкой.

Пробу считали отрицательной при отсутствии папулы, означающей отсутствие инфицирования микобактериями туберкулеза. При наличии гиперемии и папулы до 3 мм проба сомнительная, от 3 мм до 9 мм положительная, 10 мм и выше – гиперэргическая.

Эффективность предлагаемого варианта туберкулиновой пробы доказывали:

- Сравнительным анализом способов постановки кожных проб, изучая физиологические реакции детей при различных способах постановки проб [19, 20].
- Ультразвуковым исследованием папулы с помощью аппарата DUBtpm с частотой датчика 22 МГц [21].

Данные обрабатывались статистически с помощью программного пакета SPSS v 13.0 с использованием параметрических и непараметрических методов с предварительной проверкой данных на нормальность с помощью теста Колмогорова-Смирнова. Все результаты представлены в виде средних величин (M) и их стандартной ошибки (m), а также в виде относительных данных (отклонения в процентах от исходных значений). Изменения параметров считались достоверными начиная с $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

На первом этапе сравнивалась методика постановки проб (шприц и прик-ланцет). При постановке пробы шприцем отмечалась внешняя поведенческая реакция во время постановки пробы: часто дети волновались при виде шприца (более 76%, $n = 230$), плакали (17%, $n = 51$), отказывались (27,7%, $n = 83$), прятали руку (17,6%, $n = 53$), для постановки пробы родителям приходилось удерживать детей силой (31%, $n = 93$). Все это приводило к нарушению техники постановки пробы: имело место подкожное введение туберкулина в 30 (10%) случаях, ввели не весь туберкулин (10%, $n = 30$), соскакивала игла (3,3% $n = 10$), отмечалось неравномерное введение раствора (16,6%, $n = 50$).

При постановке пробы методикой «прик-тест» изначально дети также проявляли признаки волнения, но когда видели отсутствие шприца, внешняя поведенческая реакция осталась только у 19 детей (менее 5%). Благодаря методике постановки нарушений техники постановки не отмечено. Проба отличалась простотой и стандартизацией в исполнении.

После проведения исследования все обследуемые наиболее положительно оценивали пробу прик-тест (100%) ($p < 0,05$). Дети и родители признали пробу прик-тестом наиболее комфортной и удобной для применения.

На втором этапе оценили качественные характеристики методик. В каждом случае был проведен сравнительный анализ полученных результатов по пробам. Оценивались результаты всех проб через 72 часа измерением размера папулы и фиксировалось наличие гиперемии и ее размер (мм).

Папула, полученная при постановке пробы шприцем, имела более выраженный характер по размеру, имела гиперемию вокруг папулы в 60% (200), края папулы были неровными 90% (270) (рис. 1).

Папула, при применении прик-теста имела инфильтрат (папулу) округлой формы с четкими границами, равномерными размерами в диаметре во всех направлениях, отсутствовала перифокальная гиперемия (рис. 2).

При измерении размеров папулы и сравнительной оценке местной реакции получено, при оценке

Рисунок 1.
Папула при пробе Манту

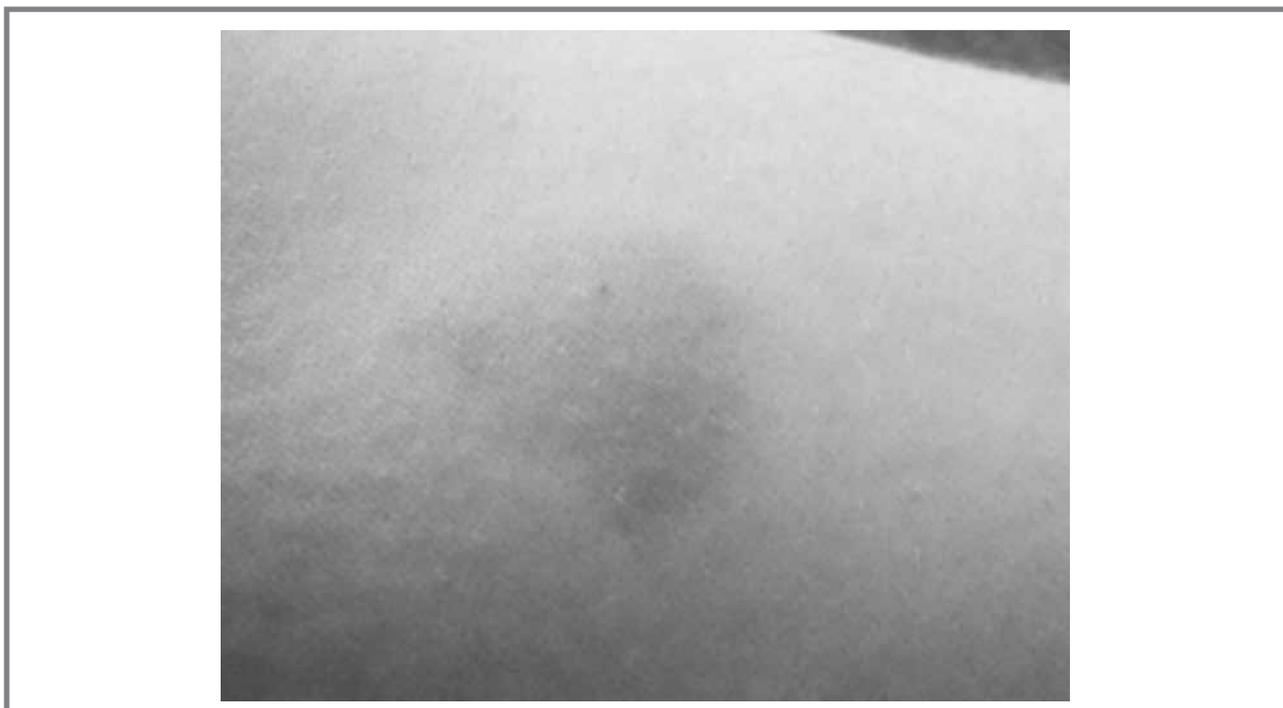


Рисунок 2.
Папула при пробе прик-тест



пробы Манту 2ТЕ папулы были разной степени выраженности, 5 – 9 мм у 24% (n = 72), 9 – 12 мм у 56,6% (n = 170), 13 – 16 мм – 14,6% (n = 44). 17 мм и более – 4,6% (n = 14) средний размер папулы был $9,3 \pm 4,2$.

При оценке пробы «прик-тест» папулы были до 3 мм – 31,3% (n = 94) от 3 до 10 мм в 39,3% (n = 118), более 10 мм – 6% (n = 18), отрицательный результат – 23,3% (n = 70).

При изучении местных реакций папулы отмечено, что степень выраженности инфильтрата соотносилась с выраженностью папулы при пробе Манту 2ТЕ (R = 0,62, при p < 0,05).

На третьем этапе изучались результаты проб с помощью ультразвукового исследования. Определялись толщина эпидермиса, плотность дермы, глубина инфильтрата. В качестве сравнения были участки кожи без пробы (толщина эпидермиса $136,3 \pm 17,2 \mu\text{m}$, толщина дермы $1112 \pm 121 \mu\text{m}$, плотность дермы $28 \pm 8,2 \mu\text{m}$ (рис. 3).

Проводилось ультразвуковое сканирование на месте введения туберкулина (образовавшейся папулы), результаты фиксировались и сравнивались средние значения результатов пробы прик-тестом по сравнению с папулой при пробе Манту 2ТЕ.

При сравнительном анализе выявлено, у инфильтрата, полученного на месте постановки пробы шприцем, плотность кожи снижена, размеры глубины инфильтрата неравномерные и выходили за дермальный слой. Толщина эпидермиса $147 \pm 27,2 \mu\text{m}$, дермы $2454 \pm 947,4 \mu\text{m}$, плотность $14,7 \pm 6,02 \mu\text{m}$. (рис. 4)

Инфильтрат, полученный на месте прик-теста отличался самой четкой формой, толщина эпидермиса ($143 \pm 12,9 \mu\text{m}$), толщина дермального инфильтрата меньше и в среднем составляет $2148 \pm 209,2 \mu\text{m}$, плотность инфильтрата $17,1 \pm 2,4 \mu\text{m}$. (рис. 5)

При сравнительном анализе толщины эпидермиса, отмечено, что при пробах Манту и прик-

Рисунок 3.
Визуализация сканограммы кожи без пробы

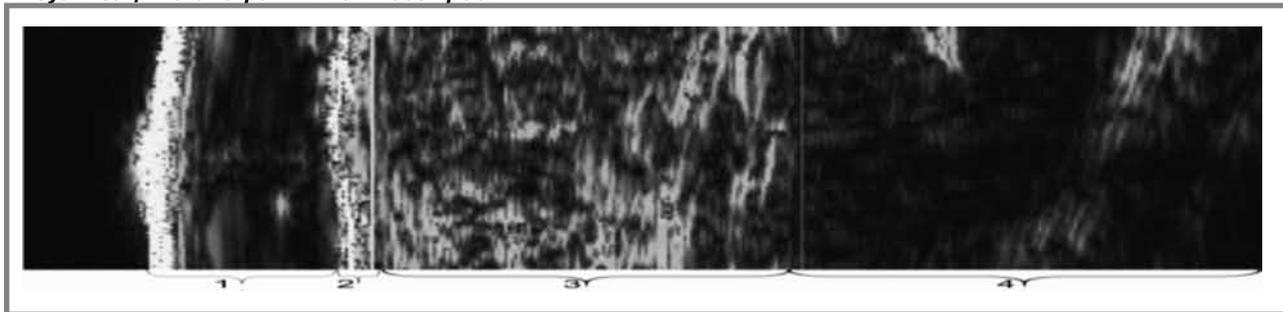


Рисунок 4.
Сканограмма пробы с использованием шприца

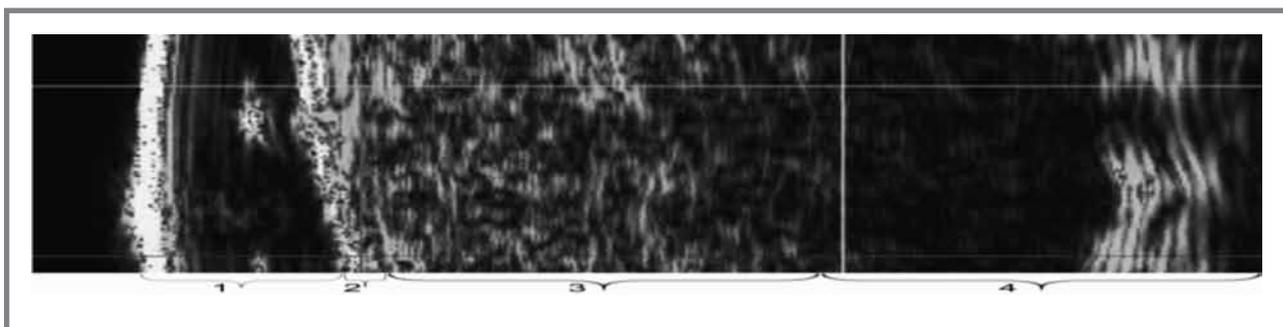
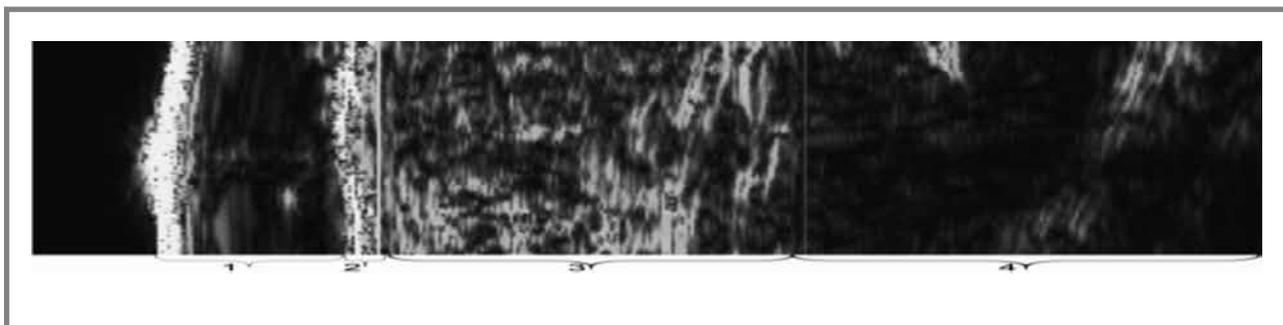


Рисунок 5.
Сканограмма при пробе прик-тест



тестом разница в толщине эпидермиса не отмечена. Изменения в дермальном слое по пробе Манту более выражены, чем в пробе с прик-тестом, что возможно связано с большим повреждением в результате постановки пробы ($p < 0,05$).

Таким образом, при проведении сравнительного анализа данных кожной чувствительности, отмечено, что проба прик-тестом дает наиболее четкую специфическую реакцию: формируется папула с четкими контурами, отсутствует гиперемия, по данным ультразвукового сканирования воспалительный инфильтрат (папула) ограничен дермальным слоем и меньше влияет на плотность кожи.

Преимущество метода обусловлено и простотой техники постановки пробы. Технические ошибки, связанные с медперсоналом и поведением ребенка практически исключены, что позволяет предлагать эту пробу к широкому применению.

Применение сухого туберкулина в разработанной нами методике как раз и исключает те проблемы, которые произошли в Приморском крае. Применение пробы прик-тест полностью исключает ошибки в постановке, так как при приготовлении раствора смешивается содержимое двух ампул (с сухим туберкулином и прилагаемым растворителем), никаких дополнительных разведений не требуется. Прик-ланцет обеспечивает стандартизированный контакт аллергена (гаптена) через незначительно-поврежденный участок эпидермального слоя кожи (1 мм).

В условиях экономического кризиса актуальным является поиск и внедрение эффективных методик с минимальными затратами. Предлагаемая программа по внедрению Диаскинтеста для скрининга детского и подросткового населения после 5 лет использования приведет к глобальным финансовым затратам при сомнительной эффективности и информативности.

Автор искренне надеется, что решение не будет скоропалительным, и принимаемые решения не будут иметь отпечаток административного ресурса.

Применение пробы прик-тест позволяет:

1. Сделать пробу стандартизированной в результате минимизирования человеческого фактора.
2. Сделать пробу более комфортной для детей по сравнению с постановкой пробы Манту 2ТЕ.
3. Позволяет проводить исключаящие заражение вирусами гепатитов и ВИЧ скрининговые исследования для выявления туберкулеза у ВИЧ-инфицированных, так как при использовании прик-теста исключает контакт с кровью (при постановке проб Манту и Диаскинтест шприцем при нарушении техники введения возможен контакт персонала с кровью).
4. Сэкономить материальные ресурсы.

Данный проект был поддержан грантом фонда содействия развитию малых форм предприятий в научно-технической сфере по программе СТАРТ-2010.

Литература

1. Аксенова В.А. Актуальные вопросы скрининга детей на туберкулез. Туберкулез и болезни легких. 2013; 3: 7 – 8.
2. Барышникова Л.А., Лебедева Н.О., Каткова Л.И., Вдовенко С.А. и др. Опыт новой технологии скрининга детей и подростков на туберкулезную инфекцию в Самарской области. Туберкулез и болезни легких. 2012; 11: 27 – 31.
3. Губкина М.Ф. Новые технологии в диагностике туберкулеза у детей и подростков из групп риска. Туберкулез и болезни легких. 2011; 4: 112.
4. Киселев В.И. Новый кожный тест для диагностики туберкулеза на основе рекомбинантного белка ESAT-CFP. Молекулярная медицина. 2008; 4: 4 – 6.
5. Аксенова В.А., Клевено Н.И., Севостьянова Т.А. Эпидемическая ситуация по туберкулезу у детей и подростков в России. Туберкулез и болезни легких. 2011; 4: 22.
6. Нечаева О.Б. Эпидемиологическая ситуация по туберкулезу среди детей России. Туберкулез и болезни легких. 2013; 4: 62.
7. Слогодская Л.В. Кожные иммунологические пробы при туберкулезе – история и современность. Туберкулез и болезни легких. 2013; 5: 39 – 46.
8. Митинская Л.А. Туберкулинодиагностика (лекция). Проблемы туберкулеза. 1998; 3: 76 – 77.
9. Бородулин Б.Е., Бородулина Е.А. Дифференциальная диагностика поствакцинальной и инфекционной туберкулиновой аллергии у детей с atopическими заболеваниями. Проблемы туберкулеза. 2006; 1: 9 – 13.
10. Приказ № 109 от 21 марта 2003 года «О совершенствовании противотуберкулезных мероприятий в Российской Федерации». Москва 2003: 55 – 62.
11. Доступно на: <http://www.proza.ru/2013/11/09/649>
12. Доступно на: <http://www.vostokmedia.com/>
13. Доступно на: <http://vladmedicina.ru/>
14. Доступно на: <http://www.proza.ru/>
15. Бородулина Е.А., Бородулин Б.Е. Индивидуальная туберкулинодиагностика прик-тестом. Проблемы туберкулеза и болезней легких. 2006; 3: 33-35.
16. Бородулина Е.А. Прик-тест в диагностике туберкулиновой аллергии. Аллергология. 2005; 3: 34-35.
17. Амосова Е.А., Бородулина Е.А. Устройство для постановки кожных туберкулиновых проб. Патент на полезную модель № 83168; 2009.
18. Бородулина Е.А., Пятин В.Ф., Королев В.В., Козлова О.С., Амосова Е.А. Туберкулинодиагностика по пробе Манту и с использованием методики «прик-тест» и особенности вегетативного баланса у детей при их проведении. Туберкулез и болезни легких. 2012; 89 (1): 39 – 43.
19. Бородулина Е.А., Козлова О.С., Середина Ю.П., Королев В.В., Пятин В.Ф., Амосова Е.А. Особенности вегетативного баланса при туберкулинодиагностике по методу Манту и с помощью прик-теста. Казанский медицинский журнал. 2012; 93 (3): 68 – 73.
20. Бородулина Е.А., Орлов Е.В., Бородулин Б.Е., Табашникова А.И. Диагностика инфицирования микобактериями туберкулеза у детей с atopическим дерматитом. Монография. Самара: ООО «Офорт», ГБОУ ВПО СамГМУ Минздрава России; 2012.
21. Бородулина Е.А., Бородулин Б.Е. и др. Устройство для проведения туберкулиновых проб. Патент RU, 2139737 A61M 5/28; 2014.

References

1. Aksenova V.A. Topical issues of screening children for tuberculosis. Tuberculosis and Lung Disease. 2013; 3: 7-8 (in Russian).
2. Baryshnikova L.A., Lebedeva N.O., Katkova L.I., Vdovenko S.A. et al. The experience of the new technology for screening children and adolescents to TB infection in the Samara region. Tuberculosis and Lung Disease. 2012; 11: 27 – 31 (in Russian).
3. Gubkina M.F. New technologies in the diagnosis of tuberculosis in children and adolescents at risk. Tuberculosis and Lung Disease. 2011; 4: 112 (in Russian).
4. Kiselev V.I. A new skin test for the diagnosis of tuberculosis on the basis of recombinant protein ESAT-CFP. Molecular Medicine. 2008; 4: 4 – 6 (in Russian).