

с активным туберкулезом. В структуре клинических форм превалировал туберкулез внутригрудных лимфатических узлов (ТВГЛУ) — у 123 пациентов (97,6%), у 2 (1,6%) — инфильтративный туберкулез легких, у одного (0,8%) — первичный туберкулезный комплекс. Всем детям проведен иммунологический комплекс, который включал: определение титров противотуберкулезных антител (ПТАТ) в комплексе серологических реакций (РПК, РПГ, ИФА), оценку субпопуляционного состава лимфоцитов (CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>, CD16<sup>+</sup>, CD20<sup>+</sup>, CD25<sup>+</sup>, CD95<sup>+</sup>, HLAII), уровня антимикобактериальных антител IgA, IgG, Ig классов в крови с применением набора anda-tb ELISA и продукции индуцированных цитокинов (IL-2, IL-4, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ ), фагоцитарной активности нейтрофилов [фагоцитарный индекс (ФИ), фагоцитарное число Райта (ФЧ) и индекс завершенности фагоцитоза].

Обработка материала проводилась с использованием программ Microsoft Office Word Excel 2010 и GraphPad Prism 6. Применялся непарный критерий Стьюдента (t), критерий хи-квадрат ( $\chi^2$ ), критерий Фишера (F-тест). Количественные данные представлены в виде M (SD), где M — выборочное среднее, SD — стандартное отклонение. Для всех видов статистического анализа критический уровень значимости составлял 0,05.

**Результаты и обсуждение.** По пробе Манту 2 ТЕ в IA подгруппе преобладали низкие и средние результаты [низкая чувствительность — 19,1 против 3,4% (I Б) и 0 (II); средняя — 59,6 против 20,7 (I Б) и 15,9% (II); высокая — 21,3 против 75,9 (I Б) и 84,1% (II)].

По всем серологическим реакциям титры ПТАТ у пациентов II группы были выше, чем в I группе. Статистически значимые различия между группами были установлены по результатам РПК [15,34 $\pm$ 5,86 (II группа) против 9,72 $\pm$ 5,3, p=0,002 (IA) и 9,75 $\pm$ 4,6 (IБ), p=0,04]. По результатам РПГ в сравнении с IA группой титры ПТАТ были достоверно выше в IБ и во II группах [6,74 $\pm$ 3,35 (IБ) и 7,45 $\pm$ 3,81 (II) против 4,34 $\pm$ 2,92 (IA), p<0,001].

Титры антител IgG класса (anda-tb ELISA) были достоверно выше в IA (70,89 $\pm$ 21,99) в сравнении с IБ подгруппой (58,80 $\pm$ 17,66) p=0,0002. Анализ субпопуляционного состава лимфоцитов выявил достоверные различия между IБ и II группами: в IБ группе — повышение CD25<sup>+</sup> (p=0,009), во II группе — повышение CD3<sup>+</sup> (p=0,003) и CD4<sup>+</sup> (p=0,02). В I группе достоверные различия отмечены по CD8<sup>+</sup> с повышением в IA подгруппе (p=0,0026). Статистически значимые различия уровня индуцированных цитокинов между IБ и II группами отсутствовали, отмечена тенденция повышения уровня всех исследуемых цитокинов у пациентов с ЛТБИ (IБ): IL-2 (323 $\pm$ 244,9 против 274,5 $\pm$ 203,6); IL-4 (2,30 $\pm$ 1,05 против 1,65 $\pm$ 1,02); IFN- $\gamma$  (22 856 $\pm$ 10 800 против 20 800 $\pm$ 11 055); TNF- $\alpha$  (1111 $\pm$ 681,5 против 954,9 $\pm$ 732,1).

Выявлено достоверное повышение уровня IL-2 в IБ подгруппе в сравнении с IA (323 $\pm$ 244,9 против 181,6 $\pm$ 132,74, p=0,04), по остальным цитокинам статистических различий не получено, но по всем показателям уровень был выше в IБ подгруппе. Показатели фагоцитарной активности нейтрофилов у пациентов обеих групп были сопоставимы с некоторым повышением фагоцитарного числа (71,1 $\pm$ 3,05 против 66,88 $\pm$ 3,36) и фагоцитарного индекса (7,34 $\pm$ 1,23 против 4,85 $\pm$ 0,49) в I группе. Индекс завершенности фагоцитоза в группах не различался [1,03 $\pm$ 0,14 (I) против 0,97 $\pm$ 0,06(II)], что свидетельствует об ограничении фагоцитарных возможностей при инфицировании *M. tuberculosis*.

**Выводы.** При ЛТБИ отмечалось повышение титров ПТАТ по результатам РПГ и уровня IL-2. Отмечена тенденция повышения индуцированной продукции цитокинов и отдельных показателей фагоцитарной активности нейтрофилов (ФЧ и ФИ), в то время как при развитии активного специфического процесса выявлена преимущественно активация гуморального ответа (повышение титров ПТАТ в комплексе серологических реакций и уровня противотуберкулезных антител класса IgG, по данным anda-tb ELISA).

## Специфическая безопасность вакцины БЦЖ

Д.Т. Леви<sup>1</sup>, Н.В. Александрова, Ю.И. Обухов<sup>1</sup>, М.Л. Рухамина<sup>1</sup>, Р.А. Волкова<sup>1</sup>,  
Е.В. Эльберт<sup>1</sup>, И.В. Подлипаева<sup>1</sup>, А.В. Наконечная<sup>1</sup>, М.В. Альварес Фигероа<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Центр экспертизы и контроля МИБП ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России;

<sup>2</sup> ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора

**Введение.** Согласно требованиям ВОЗ к вакцине БЦЖ, каждая серия готового препарата должна тестироваться на отсутствие вирулентных микобакте-

рий на морских свинках, что является длительным и затратным. Кроме того, контроль на животных в наши дни рекомендуется по возможности заменить теста-

ми *in vitro*. Молекулярно-генетические методы могут служить основой для таких тестов. Так, ВОЗ рекомендовала при контроле подлинности вакцины БЦЖ использовать мультиплексную ПЦР со специально подобранными для каждого субштамма праймерами. В данном исследовании нами использованы два новых метода для контроля вакцины БЦЖ на отсутствие вирулентных микобактерий туберкулеза (МБТ).

**Материал и методы.** Вакцину БЦЖ контаминировали одним из 5 штаммов *M. tuberculosis* различной вирулентности — *Erdman*, *H37Rv*, *Campbell*, *H37Ra* и *Academia* или штаммом *M. bovis Ravenel*. Вводимый каждой морской свинке препарат содержал по 2,5 мг (100 доз) БЦЖ + 0,0001 мг или 0,00 001 мг МБТ. Через 4 и 6 недель животным, получившим варианты «зараженной» БЦЖ, ставили внутрикожные пробы с препаратом диаскинтест. Через 6 недель морских свинок вскрывали и обследовали на наличие туберкулезных поражений.

**Результаты.** Морские свинки, которым была введена вакцина БЦЖ, контаминированная *M. tuberculosis* или *M. bovis Ravenel*, реагировали положительно на диаскинтест через 30 дней. ГЗТ нарастала к 42–45-му дню, а размеры кожных реакций были тем больше, чем выше вирулентность и доза штамма-контаминанта. Не все животные, зараженные БЦЖ с аттенуированными штаммами *M. tuberculosis*, реагировали на диаскинтест. Морские свинки, получившие «чистую» неконтаминированную вакцину БЦЖ, не реагировали на внутрикожную пробу с диаскинтестом, так как в геноме отсутствует участок RD1, кодирующий ESAT-6 и CFP-10 антигены. При вскрытии у животных, зараженных вакциной БЦЖ, контаминированной вирулентными штаммами МБТ, выявлялись отдельные туберкулезные узлы во внутренних органах. При введении морским свинкам БЦЖ или вакцины, кон-

таминированной аттенуированными штаммами МБТ, у животных отмечали только изменения в лимфатических узлах, туберкулезные поражения внутренних органов отсутствовали. Из каждой контаминированной вакцины перед введением ее животным отбирали пробы для постановки дифференцирующей ПЦР с набором реагентов «АмплиСенс МБТ-diff-FL» производства ФБУН «ЦНИИЭ» Роспотребнадзора. При контаминации вакцины БЦЖ *M. tuberculosis* получен положительный ответ на наличие как ДНК БЦЖ, так и ДНК *M. tuberculosis* независимо от вирулентности контаминанта. В данной аранжировке опыта не удалось дифференцировать смесь двух штаммов *M. bovis*: БЦЖ и вирулентного *Ravenel*.

**Обсуждение и выводы.** Стандартный тест «Специфическая безопасность вакцины БЦЖ» не выявляет контаминацию вакцины БЦЖ аттенуированными или низковирулентными *M. tuberculosis* в регламентированный срок (6 недель). Положительный ответ на диаскинтест у морских свинок свидетельствует о наличии контаминации вакцины БЦЖ вирулентными МБТ, обнаруживая ее на 2 недели раньше стандартного теста. При контаминации вакцины невысокими дозами слабовирулентных МБТ или аттенуированными штаммами реакция на диаскинтест может отсутствовать. Несмотря на то что не удалось дифференцировать БЦЖ от другого штамма *M. bovis*, дифференцирующая ПЦР является более чувствительным и быстрым методом (ответ в течение суток) оценки контаминации вакцины БЦЖ штаммами *M. tuberculosis*. Введение двух дополнительных молекулярно-генетических методов позволит повысить надежность контроля вакцины БЦЖ на специфическую безопасность. Молекулярно-биологические методы могут быть использованы для оценки разрабатываемых туберкулезных вакцин.

## Особенности диагностики туберкулеза у детей с аллергическими реакциями и заболеваниями

М.Э. Лозовская, В.Б. Белушков, Г.А. Новик, Е.Б. Васильева, Л.В. Клочкова

Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет

**Введение.** Аллергическая настроенность организма, обусловленная многочисленными экзо- и эндоаллергенами, затрудняет диагностику туберкулезной инфекции у детей.

**Цель.** Совершенствование диагностики туберкулеза у детей с измененным аллергическим фоном.

**Материалы и методы.** Обследовано 195 детей в возрасте от 4 мес. до 15 лет, направленных для исключения заболевания туберкулезом в ДИБ № 3 (Санкт-Петербург). Помимо общепринятых методов всем детям проведен диаскинтест (ДСТ), квантифероновый тест, определялся общий иммуноглобулин Е (IgE) сыво-