

Л.И.Слогоцкая¹, В.И.Литвинов¹, П.П.Сельцовский¹, А.М.Шустер², В.А.Мартыанов², Д.А.Кудлай³,
А.В.Филиппов¹, Я.А.Кочетков¹

Применение кожной пробы с аллергеном туберкулезным рекомбинантным (Диаскинтест®) для диагностики туберкулезной инфекции у больных с ВИЧ-инфекцией

1 – Московский городской научно-практический центр по борьбе с туберкулезом департамента здравоохранения г. Москвы: 107014, Москва, ул. Стрмынка, 10;

2 – ЗАО "Мастерклон": 119019, Москва, ул. Ленинка, 3;

3 – ОАО "Фармстандарт": 141700, Московская обл., г. Долгопрудный, Лихачевский пр-д, 5б

L.I.Slogotskaya, V.I.Litvinov, P.P.Seltsovsky, A.M.Shuster, V.A.Martyanov, D.A.Koudlay, A.V.Filippov, Ya.A.Kochetkov

A skin test with recombinant allergen of Mycobacterium tuberculosis (Diaskintest®) to detect tuberculosis in HIV patients

Summary

88 HIV-infected patients with tuberculosis of different sites were tested using a skin test with recombinant allergen of Mycobacterium tuberculosis (Diaskintest®). The test was positive in 35 cases. In the patients involved in the study, 95 % confidence interval (CI) for the test sensitivity was 30 to 40 %. We found a correlation between peripheral blood CD4⁺ lymphocyte number and the rate of positive Diaskintest®. The patients with > 400 CD4⁺ lymphocytes per 1 mL⁻¹ had positive test reactions reliably more often than those with < 200 CD4⁺ lymphocytes per 1 mL⁻¹. We also established a correlation between tuberculosis extension and the rate of positive Diaskintest®: the proportion of positive test reactions was lower in patients with more extended TB infection.

The data obtained justify application of Diaskintest® for tuberculosis detection in HIV-infected patients especially in those with early stages of tuberculosis.

Key words: tuberculosis, HIV infection, diagnosis, novel skin test, Diaskintest®, sensitivity, specificity.

Резюме

Кожная проба с аллергеном туберкулезным рекомбинантным (Диаскинтест®) выполнена у 88 больных с сочетанием ВИЧ-инфекции и туберкулеза различных локализаций. У 35 больных результат пробы оценен как положительный. У больных, включенных в исследование, 95%-ный доверительный интервал для чувствительности теста составил от 30 до 40 %. Была выявлена зависимость между уровнем CD4⁺ лимфоцитов в периферической крови и частотой положительной реакции на Диаскинтест®. У больных с уровнем CD4⁺ лимфоцитов > 400 в 1 мкл⁻¹ частота положительных реакций была достоверно выше, чем у больных с уровнем CD4⁺ лимфоцитов < 200 в 1 мкл⁻¹. Выявлена зависимость между распространенностью туберкулезного процесса и частотой положительной реакции на Диаскинтест®: доля положительных реакций на препарат была меньшей среди больных с распространенными процессами.

Представленные данные обосновывают применение кожной пробы с препаратом Диаскинтест® для диагностики туберкулеза у ВИЧ-инфицированных больных, особенно на ранних стадиях.

Ключевые слова: туберкулез, ВИЧ-инфекция, диагностика, новая кожная проба, Диаскинтест®, чувствительность, специфичность.

Эпидемиология туберкулеза – многофакторный процесс. Риск заражения *Mycobacterium tuberculosis* зависит от вероятности контакта с источником инфекции, степени заразности больного, а также условий, в которых контакт осуществляется. В то же время риск заболевания зависит преимущественно от эндогенных факторов, в частности от индивидуальной чувствительности к возбудителю и состояния иммунитета. В текущей ситуации негативные изменения эпидемиологии туберкулеза в определенной степени связаны с распространением ВИЧ-инфекции. Туберкулез – самая частая оппортунистическая инфекция у ВИЧ-инфицированных [1–3]. Особенно высок риск развития активного туберкулеза у ВИЧ-инфицированных с латентной туберкулезной ин-

фекцией [4–6]. Туберкулез и ВИЧ-инфекция взаимно тягостают друг друга. Туберкулезная инфекция представляет серьезную опасность для ВИЧ-инфицированных, поскольку повышает скорость прогрессирования болезни [7, 8], а иммунопатологические изменения, обусловленные ВИЧ-инфекцией, влияют на развитие, характер и течение туберкулезного процесса [9–11]. Туберкулез может развиваться на любой стадии ВИЧ-инфекции. При этом его клинические проявления различны [12, 13].

Диагностика туберкулеза у ВИЧ-инфицированных больных затруднена. Чувствительность методов идентификации туберкулезной инфекции [14, 15], в т. ч. туберкулинового теста [16] зависит в основном от стадии ВИЧ-инфекции. Сложность дифференци-

Характеристика обследованных пациентов (n = 88)

| Показатели | n |
|--|----|
| Верификация туберкулезного процесса (видовая идентификация микобактерий не проводилась) | |
| микробиологическими методами | 87 |
| результатами гистологического исследования | 1 |
| Клиническая характеристика туберкулезного процесса | |
| Туберкулез органов дыхания | |
| очаговый | 7 |
| инфильтративный | 15 |
| казеозная пневмония | 2 |
| кавернозный | 0 |
| фиброзно-кавернозный | 4 |
| цирротический | 1 |
| диссеминированный | 35 |
| внутригрудных лимфоузлов | 18 |
| плеврит | 5 |
| односторонний | 16 |
| двухсторонний | 71 |
| Внелегочный туберкулез | |
| туберкулез костей | 1 |
| Внелегочные локализации туберкулеза (сочетанные с туберкулезом органов дыхания) | |
| туберкулез периферических лимфатических узлов | 11 |
| костно-суставной туберкулез | 6 |
| туберкулезный менингоэнцефалит | 3 |
| туберкулез селезенки | 2 |
| туберкулезный перикардит | 1 |
| туберкулез кишечника | 1 |
| Иммунологические показатели | |
| Количество CD4 ⁺ < 200 мкл ⁻¹ | 41 |
| Количество CD4 ⁺ – 200–400 мкл ⁻¹ | 24 |
| Количество CD4 ⁺ > 400 мкл ⁻¹ | 23 |
| Количество CD8 ⁺ – в пределах нормы | 88 |
| Сопутствующие заболевания | |
| вирусные гепатиты | 47 |
| пневмоцитная, цитомегаловирусная, герпетическая, грибковые инфекции | 16 |
| наркомания | 50 |
| алкоголизм | 18 |

альной диагностики обусловлена также высокой вероятностью инфекций, вызванных нетуберкулезными микобактериями, особенно *Mycobacterium avium*.

В Российской Федерации с 2008 г. применяется кожная проба с препаратом "аллерген туберкулезный рекомбинантный в стандартном разведении" (Диаскинтест®) для диагностики туберкулеза и оценки активности процесса, дифференциальной диагностики туберкулеза, дифференциальной диагностики поствакцинальной и инфекционной аллергии (гиперчувствительности замедленного типа), наблюдения за эффективностью лечения в комплексе с другими методами (инструкция). Препарат состоит из 2 соединенных между собой рекомбинантных белков ESAT-6 и CFP-10. Гены, кодирующие эти белки, находятся в регионе RDI (*region of difference*) генома, отсутствующем в геноме *Mycobacterium bovis* БЦЖ и большинства нетуберкулезных микобактерий. Вероятность ложноположительного результата пробы практически сведена к минимуму. Трудности могут возникать при дифференциальной диагностике с *Mycobacterium kansasii*, *Mycobacterium marinum*, имеющими также белки ESAT-6, CFP-10. Так как выраженность клеточно-опосредованной реакции при туберкулезе обычно ассоциируется с определенными вариантами течения туберкулезного процесса и состоянием иммунной системы, проба может быть ложноотрицательной при состояниях, модифицирующих специфическое воспаление [17].

Целью исследования стало изучение возможности применения кожной пробы с препаратом Диаскинтест® в качестве дополнительного метода для улучшения качества диагностики туберкулеза у ВИЧ-инфицированных лиц.

Материалы и методы

Препарат Диаскинтест® представляет собой рекомбинантный белок CFP-10-ESAT-6, продуцируемый *Escherichia coli*. Лекарственная форма: раствор для внутрикожного введения. Состав: 1 доза (0,1 мл) содержит рекомбинантный белок CFP-10-ESAT-6 – 0,2 мкг, натрия хлорид, натрий фосфорнокислый 2-замещенный 2-водный, калий фосфорнокислый 1-замещенный, полисорбат-80, фенол, воду для инъекций. Препарат производится фармацевтической фирмой "ЛЕККО" (Россия).

Были обследованы 88 пациентов (из них – 60 мужчин и 28 женщин; средний возраст – 31,5 лет) с ВИЧ-инфекцией и туберкулезом, которые находились на лечении в туберкулезных стационарах Москвы (табл. 1).

Проведение пробы и оценка ее результатов осуществлялись в соответствии с приказом Минздрава России № 855 [18]. У 59 больных проводилась только кожная проба с препаратом Диаскинтест®, у 29 – одновременно ставилась проба с туберкулином (2ТЕ-ППД-Л-2).

При анализе результатов использовались доверительный интервал (ДИ) доли и ДИ для разницы долей.

Результаты и обсуждение

Положительная ответная кожная реакция на Диаскинтест® наблюдалась у 35 из 88 больных (ДИ доли – от 0,3 до 0,4; $p < 0,05$), то есть чувствительность пробы среди данной категории больных может колебаться в ДИ от 30 до 40 % при 95%-ной достоверности.

У 4 пациентов (у 1 – с положительной ответной реакцией на Диаскинтест®, у 3 – с отрицательной) в первые 2 сут. после постановки пробы отмечалась общая реакция на пробу (повышение температуры тела до 38 °С, кратковременный озноб, слабость, головная боль). Признаков, какого-либо влияния такой реакции на течение туберкулеза не выявлено. Обычно общая реакция на препарат встречается крайне редко, как у взрослых, так и у детей, больных туберкулезом. Как правило, она может возникать

у больных с гиперергическими реакциями (размер инфильтрата > 15 мм, везикуло-некротические изменения, лимфангит, лимфаденит). Отмеченная диссоциация (отсутствие кожных проявлений при наличии общей реакции), вероятнее всего, связана с особенностями неспецифических, специфических и инфекционно-аллергических механизмов, участвующих в ответной реакции на введение препарата, у отдельных больных с ВИЧ-инфекцией и туберкулезом. Оценка такой реакции, а также возможность ее влияния на течение туберкулезного процесса требуют специального изучения.

Сопоставление результатов пробы с клиническими проявлениями туберкулезного процесса показало, что положительная реакция чаще наблюдалась у больных с ограниченными формами туберкулеза органов дыхания ($p < 0,05$), чем среди пациентов с распространенным туберкулезом органов дыхания и при сочетании с внелегочным туберкулезом. При этом установлена зависимость между результатами пробы и количеством CD4⁺-лимфоцитов у обследованных больных (табл. 2). У больных с числом CD4⁺-лимфоцитов > 400 мкл⁻¹ положительная ответная кожная реакция на Диаскинтест® может встречаться чаще, по сравнению с больными с числом CD4⁺ < 200 мкл⁻¹ (95%-ный ДИ – 23–73 %; $p < 0,05$) и CD4⁺ – 200–400 мкл⁻¹ (95%-ный ДИ – 1–53 %; $p < 0,05$).

Необходимо отметить, что при проведении видовой идентификации микобактерий, позволяющей верифицировать инфекционный процесс, вызванный нетуберкулезными микобактериями, в частности *M. avium*, частота ложноотрицательных результатов у больных туберкулезом может оказаться меньше.

Дискордантности результатов при сравнительном изучении проб с препаратом Диаскинтест® и туберкулином (2ТЕ-ППД-Л-2) у 29 пациентов с ВИЧ-инфекцией и туберкулезом не отмечено. Однако предпочтения использования кожной пробы с препаратом Диаскинтест® заключаются в том, что с помощью туберкулинового теста невозможно должным образом дифференцировать активный туберкулез, поствакцинальную аллергию, туберкулезные изменения без признаков активности, сенсибилизацию нетуберкулезными микобактериями.

Заключение

Представленная информация призвана способствовать включению кожной пробы с препаратом Диаскинтест® в комплексное обследование больных

с ВИЧ-инфекцией для диагностики туберкулезного процесса.

Литература

1. Фролова О.П., Кравченко А.В., Мартынов А.А., Батыров Ф.А. Организация противотуберкулезной помощи больным ВИЧ-инфекцией: Пособие для врачей. Тверь: Триада; 2007.
2. Cecchini D., Ambrosioni J., Brezzo C. et al. Tuberculous meningitis in HIV-infected patients: drug susceptibility and clinical outcome. *AIDS* 2007; 21: 373–374.
3. Mtei L., Matee M., Herfort O. et al. High rates of clinical and subclinical tuberculosis among HIV-infected ambulatory subjects in Tanzania. *Clin. Infect. Dis.* 2005; 40: 1500–1507.
4. Andersen P. Vaccine strategies against latent tuberculosis infection. *Trends Microbiol.* 2006; 10: 1016.
5. Gordin F., Chaisson R.E., Matts J. P. et al. Rifampin and pyrazinamide vs isoniazid for prevention of tuberculosis in HIV-infected persons: an international randomized trial. *J.A.M.A.* 2000; 283: 1445–1450.
6. Selwyn P.A., Hartel D., Lewis V.A. et al. A prospective study of the risk of tuberculosis among intravenous drug users with human immunodeficiency virus infection. *N. Engl. J. Med.* 1989; 320: 545–550.
7. Goletti D., Weissman D., Jackson R.W. et al. Effect of Mycobacterium tuberculosis on HIV replication. Role of immune activation. *J. Immunol.* 1996; 157: 1271–1278.
8. Nakata K., Rom W.N., Honda Y. et al. Mycobacterium tuberculosis enhances human immunodeficiency virus-1 replication in the lung. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1997; 155: 996–1003.
9. Алексеева Л.П. Особенности выявления, клинического течения и лечения больных туберкулезом и ВИЧ-инфекцией: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М.; 2008.
10. Aderaye G., Bruchfeld J., Assefa G. et al. The relationship between disease pattern and disease burden by chest radiography, M. tuberculosis load, and HIV status in patients with pulmonary tuberculosis in Addis Ababa. *Infection* 2004; 32: 333–338.
11. Блюм Б.Р. (ред.). Туберкулез: Патогенез, защита, контроль. М.: Медицина; 2002.
12. Di Perri G., Cazzadori A., Vento S. et al. Comparative histopathological study of pulmonary tuberculosis in human immunodeficiency virus infected and non-infected patients. *Tubercle Lung Dis.* 1996; 77: 244–249.
13. Jones B.E., Young S.M., Antoniskis D. et al. Relationship of the manifestations of tuberculosis to CD4 cell counts in patients with human immunodeficiency virus infection. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1993; 148:1292–1297.
14. Crump J., Tanner D., Mirrett S. et al. Controlled comparison of BACTEC 13 A, MYCO/F LYTIC, BacT/ALERT MB, and ISOLATOR 10 systems for detection of mycobacteremia. *J. Clin. Microbiol.* 2003; 41: 1987–1990.

Таблица 2
Результаты кожной пробы с препаратом Диаскинтест® у больных с различным содержанием CD4⁺-лимфоцитов

| Результаты кожной пробы с препаратом Диаскинтест® | n (доля) | Число CD4 ⁺ -лимфоцитов, n (доля) | | |
|---|----------|--|---------------------------|-------------------------|
| | | < 200 мкл ⁻¹ | 200–400 мкл ⁻¹ | > 400 мкл ⁻¹ |
| Отрицательный | 53 (0,6) | 32 (0,78) | 14 (0,58) | 7 (0,3) |
| Положительный | 35 (0,4) | 9 (0,22) | 10 (0,42) | 16 (0,7) |
| Всего | 88 | 41 | 24 | 23 |

15. Moore D., Liechty C., Ekwaru P. et al. Prevalence, incidence and mortality associated with tuberculosis in HIV-infected patients initiating antiretroviral therapy in rural Uganda. *AIDS* 2007; 21: 713–719.
16. Vukmanovic-Stejic M., Reed J.R., Lacy K.E. et al. Test as a model for a secondary immune response in humans. *Immunol. Lett.* 2006; 107 (2): 93–101.
17. Киселев В.И., Барановский П.М., Рудых И.В. и др. Клинические исследования нового кожного теста Диаскинтест для диагностики туберкулеза. *Пробл. туб. и бол. легких* 2009; 2: 1–8.
18. Приказ Минздравсоцразвития России от 29.10.09 № 855 "О внесении изменения в приложение № 4 к приказу Минздрава России от 21 марта 2003 г. № 109". М.; 2009.

Информация об авторах

Слогоцкая Людмила Владимировна – к. м. н., зав. научно-клиническим отделом МНПЦБТ, ученый секретарь; тел.: (499) 268-00-05; e-mail: mnpbctiv@yandex.ru, lyu186@yandex.ru

Литвинов Виталий Ильич – д. м. н., акад. РАМН, проф., директор МНПЦБТ; тел.: (499) 268-00-05; e-mail: mnpbctiv@yandex.ru, lyu186@yandex.ru

Сельцовский Петр Петрович – д. м. н., проф., зам. директора по научной и организационно-методической работе МНПЦБТ; тел.: (499) 268-00-05; e-mail: mnpbctiv@yandex.ru, lyu186@yandex.ru

Шустер Александр Михайлович – к. б. н., акад. РАЕН, научный директор ЗАО "Мастерклон"; тел.: (495) 781-10-82; e-mail: inform@masterclone.ru, alex@masterpharm.ru

Мартынов Виталий Афанасьевич – к. т. н., акад. РАЕН, зам. ген. директора ЗАО "Мастерклон"; тел.: (495) 781-10-82; e-mail: inform@masterclone.ru, alex@masterpharm.ru

Кудлай Дмитрий Анатольевич – д. м. н., зам. ген. директора ОАО "Фармстандарт"; тел. (495)970-00-30; e-mail: info@pharmstd.ru, dakoudlay@pharmstd.ru

Филиппов Алексей Вениаминович – старший научный сотрудник научно-клинического отдела МНПЦБТ; тел.: (499) 268-00-05; e-mail: mnpbctiv@yandex.ru, lyu186@yandex.ru

Кочетков Яков Андреевич – научный сотрудник научно-клинического отдела МНПЦБТ; тел.: (499) 268-00-05; e-mail: mnpbctiv@yandex.ru, lyu186@yandex.ru

Поступила 15.10.10

© Коллектив авторов, 2011

УДК [616.98:578.828.6]-06:616-002.5-056.3-07