

**ТУБЕРКУЛЁЗ
И БОЛЕЗНИ
ЛЁГКИХ**

*TUBERCULOSIS
AND LUNG DISEASES*

1

2014

ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ТЕСТЫ СО СПЕЦИФИЧНЫМИ ДЛЯ *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* БЕЛКАМИ ESAT-6 И CFP-10

REPLY TO PROFESSOR M. A. VLADIMIRSKY'S OPEN LETTER

IMMUNOLOGICAL TESTS USING *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS*- SPECIFIC PROTEINS ESAT-6 AND CFP-10

Благодарю профессора М. А. Владимирского за интерес к моей статье. Статья написана по заказу академика РАМН Михаила Израйлевича Перельмана, который предвидел, что именно исторический аспект может вызвать живой интерес. М. А. Владимирский из всех опубликованных нами за последние 5 лет в журнале статей, посвященных исследованиям пробы с диаскинтестом (ДСТ) (более 10 работ), выбрал для полемики именно эту, хотя в ней лишь незначительная часть посвящена данному вопросу. Если бы М. А. Владимирский обратился к первоисточникам, а не к ссылкам на них, возможно, часть его вопросов была бы снята, поскольку в этих статьях с моим участием подробно изложена методика, охарактеризованы контингенты. В ответе на его письмо мне приходится повторять ранее опубликованные данные. Так, чувствительность пробы у взрослых не превышает 85%, так что понятно, что отрицательные реакции встречаются в 15% случаев туберкулеза органов дыхания. Что касается детей, то чувствительность пробы у них выше – более 95%. Данные, полученные нами в клинических исследованиях, подтвердились при сплошных исследованиях в г. Москве, и аналогичные данные получены многими педиатрами [2-4, 7]. Тест широко применяется в России, поскольку регламентирован приказом Минздрава РФ № 855 от 29.10.2009 г.

Что касается теста QuantiFERON-TB Gold In-Tube (QFT), то результаты этого теста сопоставимы с кожными пробами с ДСТ (по нашим данным, совпадение в 94,3% случаев, коэффициент каппа $0,709 \pm 0,104, p = 0,000$) [5].

Дискордантные результаты между пробой Манту и QuantiFERON-TB вполне закономерны, как и между пробой Манту и пробой с ДСТ. Когда имеется выраж по пробе Манту, а реакция на ДСТ отрицательная, мы рекомендуем повторить пробу с ДСТ через 3 мес., поскольку после выража может быть 2 сценария развития инфекции: организм самостоятельно справится с ней или произойдет дальнейшее развитие вплоть до локальных форм туберкулеза. Появление же положительной реакции на ДСТ свидетельствует о втором варианте. Если при дополнительном обследовании выявляется локальный процесс, ребенок подлежит соответствующей химиотерапии, если локальных проявлений не обнаружено – превентивной [6].

Ни ДСТ, ни QuantiFERON-TB не могут отличить активный туберкулез от туберкулезной инфекции – только дополнительное обследование, включающее рентгенологическое, может решить этот вопрос.

Судя по письму М. А. Владимирского, только иммунологи могут дать оценку иммунологическим тестам. Не надо быть иммунологом, чтобы оценить работы выдающихся ученых в этой области, свидетельствующие о том, что белки ESAT-6 и CFP-10 закодированы в зоне RD1 генома *M. tuberculosis*, и, что важно, они экспрессируются при размножении микобактерий и связаны с вирулентностью *Mycobacterium tuberculosis* [14, 20, 21, 26, 33, 35, 41]. Иммунный ответ на эти антигены коррелирует с прогрессированием инфекции [10, 12, 15, 24, 28, 29, 33]. Хочу сообщить Вам, что авторство положения о том, что тесты, основанные на этих белках (как IGRAs, так и кожные тесты у животных), являются «маркерами активности туберкулезной инфекции», принадлежит кому-то из выдающихся ученых-иммунологов с высоким индексом цитирования (H. Vordermeier, P. Andersen, K. Weldingh, T. Doherty, M. Pai et al.) [8, 9, 15, 16, 31, 41, 42]. Трудно сказать, кто первый из них использовал его в этом контексте. Кстати, руководителем клинических исследований препарата ДСТ был академик РАМН по специальности «Аллергология и иммунология» В. И. Литвинов, он же являлся научным консультантом моей диссертации, и большое число работ опубликовано нами в соавторстве.

Чтобы оценить чувствительность и специфичность тестов и в качестве маркеров активности, необходимо прежде всего иметь убедительные данные о наличии или отсутствии активности процесса, при котором эти тесты изучаются. Нами оценивалась как динамика тестов в процессе химиотерапии, так и после нескольких лет по завершении лечения – только в этом случае мы с наибольшей достоверностью можем говорить об отсутствии активности. Педиатры вряд ли согласятся с М. А. Владимирским, что кальцинаты во внутригрудных лимфоузлах – это всегда латентная туберкулезная инфекция с отсутствием активности, а положительные реакции на ДСТ при этом – это просто иммунологическая память. Кальцинаты могут наблюдаться при незавершившемся

туберкулезном процессе, поэтому дети с впервые выявленными кальцинатами могут наблюдаться либо в I, либо в IIIA группе диспансерного учета – здесь включается клиническое мышление. Ежегодно в России наблюдается высокая заболеваемость из контингентов IIIA группы (от 1 500 на 100 000 численности IIIA ГДУ в 2008 г. до 205 в 2012 г.), видимо, потому, что активность процесса не была правильно оценена. В Москве же случаев заболевания детей из IIIA группы диспансерного учета в 2008-2012 гг. не зарегистрировано.

В тестах IGRA и пробах с ДСТ используются одни и те же белки – ESAT-6 и CFP-10. Недостатками лабораторных тестов IGRA является то, что они дорогостоящие и трудновыполнимые, для их проведения требуются лабораторное оснащение и квалифицированный персонал. Кроме того, необходимы внутривенные манипуляции и условия для сохранения жизнеспособности Т-лимфоцитов крови, взятой у пациента.

Тесты IGRA определяют *in vitro* только образование ИФН- γ циркулирующими Т-клетками, а в кожных пробах задействованы CD4⁺ и CD8⁺ Т-клетки, а также цитокины: ИФН- γ , фактор некроза опухоли- α (ФНО- α), ФНО- β и др. [22, 23, 29, 32, 34].

Опасения М. А. Владимирского о необоснованном росте назначения специфической терапии на основе положительной реакции на пробу с ДСТ вообще не имеют под собой никаких оснований – напротив, после внедрения этой пробы число лиц, получающих превентивную терапию, снизилось в несколько раз в группах повышенного риска заболевания как у взрослых, так и у детей [1, 3].

К аналогичным результатам пришел консенсус экспертов TBNET (Tuberculosis Network European Trials Group) [25] в том, что положительная туберкулиновая реакция имеет слабую прогностическую ценность (вероятность развития туберкулеза в ближайшие 2 года), в то время как положительный тест IGRA, напротив, высокую [8, 12, 13, 17, 18]. Поэтому при назначении превентивной терапии рекомендуется исходить из результатов последнего. В странах, где проводят тесты IGRA, (в том числе США, Канада, Великобритания, Италия, Германия, Швейцария, Нидерланды, Корея и Норвегия) показано, что этот метод диагностики является наиболее рекомендуемым [11, 10, 30, 40]. Считают, что его применение позволит снизить число лиц, которые ошибочно расцениваются как инфицированные, и кому назначена превентивная терапия [13,27].

Таким образом, данные по кожной пробе с ДСТ, кратко представленные в моей статье «Кожные иммунологические пробы при туберкулезе – история и современность» (Туберкулез и болезни легких. № 5. 2013), получены российскими исследователями, в число которых вхожу и я, проверены на практике усилиями многих врачей и не расхо-

дятся с результатами зарубежных исследователей по тестам IGRA и кожным тестам со специфическими белками. В настоящее время этому вопросу в РФ и за рубежом уделяется много внимания, о чем свидетельствуют многочисленные симпозиумы на национальных и международных конгрессах, в том числе международных конгрессах иммунологов и аллергологов, в которых представлены и наши доклады [36-39].

*Л. В. Слогодкая, доктор медицинских наук,
профессор кафедры фтизиатрии РМАПО,
заведующая научно-клиническим отделом МНПЦ БТ*

ЛИТЕРАТУРА

1. Борисов С. Е., Лукина Г. В., Слогодкая Л. В. и др. Скрининг и мониторинг туберкулезной инфекции у ревматологических больных, получающих генно-инженерные биологические препараты // Туб. – 2011. – № 6. – С. 42-50.
2. Долженко Е. Н. Использование аллергена туберкулезного рекомбинантного (Диаскинтеста) в выявлении активного туберкулеза у детей // Туб. – 2013. – № 6. – С. 28-29.
3. Корнева Н. В., Старшинова А. А., Овчинникова Ю. Э. и др. Сравнение результатов пробы Манту с 2 ТЕ и Диаскинтеста при различных проявлениях туберкулезной инфекции // Туб. – 2013. – № 6. – С. 49-50.
4. Овсянкина Е. С., Губкина М. Ф., Ершова Н. Г. и др. Опыт применения нового кожного теста (Диаскинтеста®) для диагностики туберкулеза органов дыхания у детей и подростков в туберкулезном отделении // Туб. – № 1. – 2010. – С. 16-19.
5. Слогодкая Л. В., Иванова Д. А., Кочетков Я. А. и др. Сравнительные результаты кожного теста с препаратом, содержащим рекомбинантный белок CFP-10-ESAT-6 и лабораторного теста QuantiFERON - GIT // Туб. – 2012. – № 10 – С. 27-33
6. Слогодкая Л. В., Кочетков Я. А., Сенчихина О. Ю. и др. Динамика кожной пробы (Диаскинстест) у детей при оценке активности туберкулезной инфекции // Туб. – 2011. – № 2 – С. 59-63.
7. Слогодкая Л. В., Сенчихина О. Ю., Богородская Е. М. Чувствительность теста с аллергеном туберкулезным рекомбинантным, содержащим белок ESAT6-CFP10 у впервые выявленных больных туберкулезом детей и подростков в г. Москве // Туб. и соц. знач. заболевания. – 2013. – № 1. – С. 37-44.
8. Andersen P, Doherty T, Pai M. et al. The prognosis of latent tuberculosis: can disease be predicted? // Trends. Mol. Med. – 2007. – Vol. 13, № 5. – P. 175-182.
9. Andersen P. Vaccine strategies against latent tuberculosis infection // Trends Microbiol. – 2006. – Vol. 10. – P. 1016.
10. Bakir M., Millington K. A., Soysal A. et al. Prognostic value of a T-cell-based, interferon- γ biomarker in children with tuberculosis contact // Ann. Intern. Med. – 2008. – Vol. 149. – P. 777-787.
11. Brändli O., Desgrandchamps D., Gabathuler U. et al. Manual of Tuberculosis. Bern, Swiss Lung League, 2007. www.lung.ch
12. Diel R., Loddenkemper R., Meywald-Walter K. et al. Predictive value of a whole-blood IFN- γ -assay for the development of active TB disease // Am J. Respir. Crit. Care Med. – 2008. – Vol. 177. – P. 1164-1170.
13. Diel R., Nienhaus A., Schaberg T. Cost-effectiveness of isoniazid chemoprevention in close contacts // Eur. Respir. J. – 2005. – Vol. 26. – P. 465-473.

14. Dietrich J., Aagaard C., Leah R. et al. Exchanging ESAT6 with TB10.4 in an Ag85B fusion molecule-based tuberculosis subunit vaccine: efficient protection and ESAT6-based sensitive monitoring of vaccine efficacy // *J. Immunol.* – 2005. – Vol. 174. – P. 6332-6339.
15. Doherty T., Demissie A., Olobo J. et al. Immune responses to the *Mycobacterium tuberculosis*-specific antigen ESAT-6 signal subclinical infection among contacts of tuberculosis patients // *J. Clin. Microbiol.* – 2002. – Vol. 40. – P. 704-706.
16. Doherty T., Wallis R., Zumla A. Biomarkers of disease activity, cure, and relapse in tuberculosis // *Clin. Chest. Med.* – 2009. – Vol. 30, № 4. – P. 783-796.
17. Dosanjh D., Hinks T., Innes J. et al. Improved diagnostic evaluation of suspected tuberculosis // *Ann. Intern. Med.* – 2008. – Vol. 148. – P. 325-336.
18. Goletti D., Stefania C., Butera O. et al. Accuracy of immunodiagnostic tests for active tuberculosis using single and combined results: a multicenter TBNET Study // *PLoS One.* – 2008. – Vol. 3: e3417.
19. Guidelines for the investigation of contacts of persons with infectious tuberculosis. Recommendations from the National Tuberculosis Controllers Association and CDC // *MMWR Recomm. Rep.* – 2005. – Vol. 54. – P. 1-47.
20. Guinn K., Hickey M., Mathur S. et al. Individual RD1-region genes are required for export of ESAT-6/CFP-10 and for virulence of *Mycobacterium tuberculosis* // *Mol. Microbiol.* – 2004. – Vol. 51. – P. 359-370.
21. Harboe M., Oettinger T., Wiker H. et al. Evidence for occurrence of the ESAT-6 protein in *Mycobacterium tuberculosis* and virulent *Mycobacterium bovis* and for its absence in *Mycobacterium bovis* BCG // *Infect. Immun.* – 1996. – Vol. 64. – P. 16-22.
22. Lalvani A., Millington K. A. T cell-based diagnosis of childhood tuberculosis infection // *Curr. Opin. Infect. Dis.* – 2007. – Vol. 20. – P. 264-271.
23. Lalvani A. Diagnosing tuberculosis infection in the 21st century: new tools to tackle an old enemy // *Chest.* – 2007. – Vol. 131. – P. 1898-1906.
24. Lienhardt C., Fielding K., Hane A. et al. Evaluation of the prognostic value of IFN- γ release assay and tuberculin skin test in household contacts of infectious tuberculosis cases in senegal // *PLoS ONE.* – 2010. – 5(5): e10508. doi:10.1371/journal.pone.0010508.
25. Mack U., Migliori G., Sester M. et al. LTBI: latent tuberculosis infection or lasting immune responses to *Mycobacterium tuberculosis*? A TBNET consensus statement // *Eur. Respir. J.* – 2009. – Vol. 33. – P. 956-973.
26. Mahairas G., Sabo P., Hickey M. et al. Molecular analysis of genetic differences between *Mycobacterium bovis* BCG and virulent *M. bovis* // *J. Bacteriol.* – 1996. – Vol. 178. – P. 1274-1282.
27. Mazurek G., Jereb J., Lobue P. et al. Guidelines for using the QuantiFERON-TB Gold test for detecting *Mycobacterium tuberculosis* infection, United States // *MMWR Recomm. Rep.* – 2005. – Vol. 54. – P. 49-55.
28. Mazurek G., Weis S., Moonan P. et al. Prospective comparison of the tuberculin skin test and two whole-blood interferon-gamma release assays in persons with suspected tuberculosis // *Clin. Infect. Dis.* – 2007. – Vol. 45. – P. 837-845.
29. Mori T., Sakatani M., Yamagishi F. et al. Specific detection of tuberculosis infection: an interferon- γ -based assay using new antigens // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 2004. – Vol. 170. – P. 59-64.
30. National Institute for Health and Clinical Excellence. Tuberculosis: Clinical Diagnosis and Management of Tuberculosis, and Measures for its Prevention and Control. London, National Institute for Health and Clinical Excellence, 2006. www.nice.org.uk .
31. Pai M., Menzies D. Interferon- γ release assays: what is their role in the diagnosis of active tuberculosis? // *Clin. Infect. Dis.* – 2007. – Vol. 44. – P. 74-77.
32. Pai M., Kalantri S., Dheda K. New tools and emerging technologies for the diagnosis of tuberculosis: part I. Latent tuberculosis // *Expert. Rev. Mol. Diagn.* – 2006. – Vol. 6. – P. 413-422.
33. Pai M., Zwerling A., Menzies D. Systematic review: T-cell-based assays for the diagnosis of latent tuberculosis infection: an update // *Ann. Intern. Med.* – 2008. – Vol. 149, № 3. – P. 177-184.
34. Richeldi L., Ewer K., Losi M. et al. Early diagnosis of subclinical multidrug-resistant tuberculosis // *Ann. Intern. Med.* – 2004. – Vol. 140. – P. 709-713.
35. Shi L., North R., Gennaro M. Effect of growth state on transcription levels of genes encoding major secreted antigens of *Mycobacterium tuberculosis* in the mouse lung // *Infect. Immun.* – 2004. – Vol. 72, № 4. – P. 2420-2424.
36. Slogotskaya L., Bogorodskaya E., Litvinov V. et al. Prevalence of Tuberculosis Infection Estimated By Skin Testing With Recombinant Protein CFP10-ESAT6 Among Hospital Workers In // EAACI-WAO World Allergy and Asthma Congress 2013-22-26 June 2013 Milan, Italy // www.postersessiononline.com/173580348_eu/congresos/EAACI2013/aula/-P_1158_EAACI2013.pdf
37. Slogotskaya L., Litvinov V., Seltsovsky P. et al. New skin test DIASKINTEST® (recombinant protein CFP10-ESAT6) in children for TB infection diagnosis // *Allergy. Eur. J. Allerg. Clin. Immunol.* – Vol. 65, suppl. S. 92 DOI: 10.1111/j.1398-9995.2010.02396x.
38. Slogotskaya L., Litvinov V., Seltsovsky P. et al. Sensitivity and specificity of new skin test - Diaskintest (recombinant protein CFP10-ESAT6) in patients with tuberculosis and individuals with non-tuberculous pulmonary diseases. // European Academy of Allergy and Clinical Immunology (EAACI) 30th Annual Congress, Istanbul, Turkey, June 11-15, 2011 // DOI: 10.3252/pso.eu.30eaaci.2011
39. Slogotskaya L., Ovsyankina E., Litvinov V. et al. Effectiveness of tuberculosis detection among adolescent student contacts with a new, specific skin test diaskintest which represents recombinant protein CFP10-ESAT6 // European Academy of Allergy and Clinical Immunology (EAACI) 30th Annual Congress, Istanbul June 11-15, 2011 // DOI: 10.3252/pso.eu.30eaaci.2011
40. The National Collaborating Centre for Chronic Conditions. Tuberculosis. Clinical diagnosis and management of tuberculosis, and measures for its prevention and control. London, Royal College of Physicians, 2006.
41. Vordermeier H., Chambers M., Cockle P. et al. Correlation of ESAT-6-specific gamma interferon production with pathology in cattle following *Mycobacterium bovis* BCG vaccination against experimental bovine tuberculosis // *Infect. Immun.* – 2002. – Vol. 70. – P. 3026-3032.
42. Weldingh K., Andersen P. ESAT-6/CFP10 Skin test predicts disease in *M. tuberculosis*-infected guinea pigs // *PLoS ONE.* – 2008. – Vol. 3, № 4. – P. 1978.