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. Стромынка, 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 отягощают 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-

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 Минздравсоцразвития № 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.

Таблица 1

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	87
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
Внегочечный туберкулез	1
туберкулез костей	1
Внегочечные локализации туберкулеза (сочетанные с туберкулезом органов дыхания)	24
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
пневмоцистная, цитомегаловирусная, герпетическая, грибковые инфекции	16
наркомания	50
алкоголизм	18

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

Тест, которому доверяют

Новая ступень в диагностике туберкулезной инфекции

Высоко чувствителен

Положительная реакция наблюдается у 98–100% больных активным туберкулезом и у лиц с высоким риском его развития ($p < 0,05$).

Высоко специфичен

Специфичность теста составляет 90–100% ($p < 0,05$).

Препарат не вызывает реакции, связанной с БЦЖ вакцинацией.

www.diaskintest.ru

*Клинические исследования нового кожного теста «ДИАСКИНТЕСТ®» для диагностики туберкулеза. Коллектив авторов. Проблемы туберкулеза. 2009, № 2, с. 1–8.

ОАО «Фармстандарт», 141700, Московская обл., г. Долгопрудный, Лихачевский проезд, д. 5Б,
телефон (495) 970 00 30, факс (495) 970 00 32, e-mail: info@pharmstd.ru, www.pharmstd.ru

На правах рекламы

15. Moore D., Liechty C., Ekwari 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-Stejić 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: mnpbtlv@yandex.ru, lyu186@yandex.ru

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

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