

ИСТОРИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ИММУНОДИАГНОСТИКИ И ЕЁ МЕСТО В ДИАГНОСТИКЕ ТУБЕРКУЛЁЗА В СОВРЕМЕННЫХ УСЛОВИЯХ НА ФОНЕ РОСТА ВИЧ-ИНФЕКЦИИ СРЕДИ НАСЕЛЕНИЯ

Е.А.Бородулина, А.В.Калинкин, Б.Е.Бородулин

ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России, кафедра фтизиатрии и пульмонологии, г. Самара, Россия

Цель. Оценить возможности иммунодиагностики с помощью кожных проб Манту, «прик-тест», Диаскинтест® для применения их в диагностике туберкулёза лёгких у больных ВИЧ-инфекцией.

Методы. Сформировано 2 группы впервые выявленных больных туберкулезом: 134 пациента с ВИЧ-инфекцией – основная группа (ТБ/ВИЧ) и 100 пациентов без ВИЧ-инфекции – группа сравнения (ТБ). Иммунодиагностика включала пробы Манту с 2 ТЕ, прик-тест со 100% раствором PPD-L и Диаскинтест®.

Результаты: в группе ТБ/ВИЧ положительная реакция на пробу Манту с 2 ТЕ была значительно реже (56,0%) чем в группе ТБ (89,0%), ОШ=6,4; $p<0,001$, диагностическая ценность уменьшалась с понижением уровня CD4+ лимфоцитов. «Прик-тест» имел полную корреляционную связь с результатами пробы Манту, имея преимущества в методике и качестве постановки проб. Чувствительность пробы Диаскинтест® в группе ТБ/ВИЧ составила 48,3%, в группе ТБ – 84,6%, при этом чувствительность Диаскинтеста® при выраженном иммунодефиците снизилась с 80% до 17%.

Выводы: иммунодиагностика у больных ВИЧ-инфекцией информативна при уровне CD4+ лимфоцитов 300 кл/мкл и более; для формирования групп риска с последующим обследованием на туберкулез возможно использование методики «прик-тест».

Ключевые слова: туберкулез, ВИЧ-инфекция, иммунодиагностика, проба Манту, прик-тест, Диаскинтест.

Immunodiagnosics historical aspects and its place in the diagnosis of tuberculosis in modern conditions against the background of HIV infection in the population

Е.А. Borodulina, A.V. Kalinkin, B.E. Borodulin

Samara State Medical University, Department of Tuberculosis and Pulmonology, Samara, Russia

Goal. Rate possibility of immunodiagnosics using the Mantoux skin test, "prick test", Diaskintest for their use in the diagnosis of pulmonary tuberculosis in patients with HIV infection.

Methods. Formed two groups of newly diagnosed TB patients: 134 patients with HIV infection - the main group (TB/HIV) and 100 patients without HIV infection - the comparison group (TB). Immunodiagnosics included Mantoux test with 2 TE, skin «prick test» with a 100% solution of PPD-L, Diaskintest.

Results. In the group of TB/HIV positive reaction to the Mantoux test with 2 TE was significantly less (56.0%) than in the TB group (89.0%), OR=6.4; $p<0,001$, the diagnostic value decreased with decreasing levels of CD4 + lymphocytes. «Prick test» had a full correlation with the results of Mantoux test, having advantages in the methods and quality of productions samples. Sensitivity tests Diaskintest in TB/HIV group was 48.3%, in the TB group – 84.6%, while the sensitivity expressed Diaskintest immunodeficiency dropped from 80% to 17%.

Conclusions: immunodiagnosics in patients with HIV-infection informative at the level of CD4+ lymphocytes 300 cells/mm or more; for the formation of high-risk groups, followed by testing for tuberculosis may be used technique prick test.

Keywords: tuberculosis, HIV-infection, immunodiagnosics, Mantoux test, skin prick test, Diaskintest.

Туберкулин впервые приготовил и применил на практике немецкий ученый Роберт Кох в 1890–1891 годах. Этот препарат получил название

«альт-туберкулин Коха» (АТК). История развития методов туберкулинодиагностики начинается с 1907 года, когда Пирке предложил применять

туберкулин путем скарификации поверхностного слоя эпидермиса специальным бориком. Е. Моро (1909) рекомендовал применять наочно туберкулиновую мазь. Ф. Петрушка (1913) видоизменил пробу Пирке – скарификацию кожи стали производить оспопрививательным ланцетом. Для изучения туберкулиновой чувствительности использовались пробы Трамбусты, марочный тест (Patch-test), тест множественных уколов – тест Гиффа, в 1935 году была предложена градуированная скарификационная проба в модификации Н. Шмелева, с 1965 года используется единая внутрикожная туберкулиновая проба Манту с двумя туберкулиновыми единицами (2 ТЕ) очищенного туберкулина (ППД-Л) в стандартном разведении для внутрикожного применения [1].

С 2010 года в России применяется препарат Диаскинтест® (Diaskintest (DST), (аллерген туберкулезный рекомбинантный в стандартном разведении). В результате в настоящее время термин «туберкулинодиагностика» заменен на «иммунодиагностика» [2]. Применялись скарификационные пробы Пирке, Гринчар-Карпиловского для индивидуальной туберкулинодиагностики в специализированном противотуберкулезном диспансере; в настоящее время, после появления Диаскинтеста и прекращения использования сухого туберкулина в практике, данные пробы не используются [3].

Развитие в последнее десятилетие новых методов диагностики T-spot TB, QuantiFERON-TB Gold с измерением количества интерферона гамма в плазме крови после инкубации со специфическими антигенами ESAT-6 и CFP-10 не привело к принципиальным изменениям в алгоритме диагностики инфицирования МБТ, по-прежнему для скрининга используются кожные диагностические пробы [1].

Туберкулиновые пробы относятся к иммунологическим реакциям повышенной чувствительности замедленного типа (ПЧЗТ). Положительный результат туберкулиновых проб обусловлен воз-

никновением Т-клеточной иммунной реакции у инфицированных МБТ лиц [1].

В последние десятилетия, на фоне роста ВИЧ-инфекции в России, отмечается увеличение сочетанных форм ВИЧ-инфекции с туберкулезом [4, 5]. Большинство авторов отмечают сложность диагностики туберкулеза у больных ВИЧ-инфекцией [5, 6]. Симптомы туберкулеза, ассоциированного с ВИЧ-инфекцией, неспецифичны [7, 8]. В настоящее время необходима разработка методик раннего выявления туберкулеза и формирования групп высокого риска на доклинической стадии у больных ВИЧ-инфекцией. Туберкулиновые пробы при ВИЧ-инфекции не имеют однозначной оценки, и ряд вопросов по выбору вида пробы и дозировке туберкулина остаются малоизученными [1].

В Самарской области основной формой туберкулеза органов дыхания как среди контингентов без ВИЧ-инфекции, так и среди больных ВИЧ-инфекцией является инфильтративный туберкулез (76 и 71% соответственно) [4].

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оценить возможности иммунодиагностики с помощью кожных проб Манту, «прик-тест», Диаскинтест® для применения их в диагностике туберкулеза лёгких у больных ВИЧ-инфекцией.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В настоящее в исследование включены 234 человека, больных инфильтративным туберкулезом лёгких. Они были разделены на 2 группы: 134 пациента с инфильтративным туберкулезом и ВИЧ-инфекцией – 1-я группа (ТБ/ВИЧ) и 100 пациентов с инфильтративным туберкулезом без ВИЧ-инфекции – 2-я группа сравнения (ТБ). В группах обследования были лица 17–18 лет. Преобладали мужчины: в группе 1 – 71,6% (96), в группе 2 – 76% (76 пациентов). Достоверных различий по полу и возрасту среди групп исследования не выявлено ($p > 0,1$), группы репрезентативны для проведения нашего исследования. Диагноз

Сведения об авторах:

Бородулина Елена Александровна — заведующий кафедрой фтизиатрии и пульмонологии ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России, д.м.н., профессор; 443099, г. Самара, ул. Пионерская, 48, e-mail: borodulinbe@yandex.ru.

Калинкин Андрей Викторович — ассистент кафедры фтизиатрии и пульмонологии ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России, к.м.н., 443099, г. Самара, ул. Пионерская, 48.

Бородулин Борис Евгеньевич — профессор кафедры фтизиатрии и пульмонологии ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России, д.м.н., профессор, 443099, г. Самара, ул. Пионерская, 48.

ВИЧ-инфекции подтверждали индикацией в крови специфических антител методом твердофазного ИФА, при получении первичного положительного результата проводилась референс-диагностика с помощью иммуоблота. Для определения стадии ВИЧ-инфекции проводилось определение вирусной нагрузки и уровня CD4+лимфоцитов.

Клинические стадии ВИЧ-инфекции определяли по классификации В.И. Покровского, утвержденной приказом МЗ РФ № 166 от 17.03.2006 и рекомендованной для применения в России.

Туберкулинодиагностика включала: внутрикожную пробу Манту с 2 ТЕ, проведенную на правом предплечье; кожную пробу «прик-тест» со 100% раствором PPD-L [9] и внутрикожную пробу Диаскинтест®, проведенную на левом предплечье. Оценка результатов проводилась в соответствии с инструкцией к препаратам.

МЕТОДИКА ПОСТАНОВКИ ПРОБЫ «ПРИК-ТЕСТ»

При постановке пробы «прик-тест» на кожу внутренней поверхности предплечья руки, после обработки кожи 70% спиртом, маркированной пипеткой наносится капля раствора сухого очищенного туберкулина PPD-L (в ампулу сухого туберкулина PPD-L добавляется 1 мл прилагаемого растворителя карболизированного раствора натрия хлорида), через которую проводится укол кожи индивидуальным скарификатором «прик» (прик-тест по методике Бородулиной Е.А.) [9]. Результаты реакций на туберкулин оцениваются через 72 часа. Отрицательный результат – отсутствие инфильтрата (папулы), только уколочная реакция. Сомнительный результат – гиперемия, папула 1–2 мм. Положительный – папула 3–9 мм. Гиперэргический – папула 10 мм и более.

РЕЗУЛЬТАТЫ

При оценке внутрикожной пробы Манту с 2 ТЕ выявлено, что в группе 1 (ТБ/ВИЧ) положительная реакция на пробу Манту с 2 ТЕ была значительно реже (56,0%) чем в группе 2 (ТБ) (89,0%), ОШ=6,4; $p<0,001$. При этом положительные реакции в группе 1 были нормергическими (62,7%) и выраженными (25,3%) реакциями, гиперергические реакции наблюдались реже, чаще выявлялись отрицательные результаты – 43,3% ($p<0,001$). У

больных туберкулезом в сочетании с ВИЧ-инфекцией без учёта уровня CD4+ лимфоцитов отмечается более низкая чувствительность к туберкулину по сравнению с группой ТБ ($p<0,001$). В группе 1 выявлена чёткая зависимость числа положительных проб Манту с 2 ТЕ от уровня CD4+ лимфоцитов. При уровне CD4+ лимфоцитов 300 кл/мкл и более применение пробы Манту с 2 ТЕ в группе ТБ/ВИЧ эффективно, как и в группе 2: число положительных проб в группе ТБ/ВИЧ составило 86,1%, в группе ТБ – 93,0% ($p>0,05$). Это свидетельствует о диагностической значимости применения пробы Манту с 2 ТЕ для пациентов с ко-инфекцией при уровне CD4 300 кл/мкл и более. Коэффициент корреляции результатов пробы Манту с 2 ТЕ и уровня CD4+ лимфоцитов в группе ТБ/ВИЧ составил $r=0,73$, диагностическая ценность пробы Манту с 2 ТЕ в группе ТБ/ВИЧ увеличивается с повышением уровня CD4+ лимфоцитов (таблица 1).

При оценке результатов пробы с препаратом Диаскинтест®, выявлено, что положительные пробы чаще встречались в группе 2 (ТБ) 84,6% (33), в группе 1 (ТБ/ВИЧ) 48,3 % (29) (ОШ=5,9; $p<0,05$). Среди положительных проб умеренно выраженные чаще встречались в группе 1, а гиперергические пробы – в группе 2 ($p<0,05$). Отрицательные результаты чаще в группе 1, ОШ=9,4; $p<0,05$. Чувствительность пробы в группе 1 составила 48,3%, в группе 2 – 84,6%. Таким образом, без учёта уровня CD4+ лимфоцитов, проба Диаскинтест® в группе 1 (ТБ/ВИЧ) менее чувствительна по сравнению с группой 2 (ТБ).

Выявлена зависимость результатов пробы с препаратом Диаскинтест® от уровня CD4+ лимфоцитов: при количестве CD4<100 кл/мкл число отрицательных проб составило 94,7 %; при CD4 от 100 до 199 кл/мкл – 63,6 %; при CD4 от 200 до 500 кл/мкл – 0 %. Чувствительность Диаскинтеста® при CD4 200 кл/мкл и более составляет 80,0%, при CD4 менее 200 кл/мкл – 16,6% (таблица 2).

При оценке пробы «прик-тест» получена прямая корреляционная связь с результатами пробы Манту 2 ТЕ, что при отрицательном результате пробы Манту с 2 ТЕ результат прик-теста также был отрицательным. При сомнительных пробах Манту (папула 3–5 мм) размер папулы пробы «прик-тест» 1–2 мм; при положительных пробах

Таблица 1. Число положительных результатов пробы Манту с 2 ТЕ в группе ТБ/ВИЧ в зависимости от уровня CD4+ лимфоцитов по сравнению с группой ТБ

Число CD4+ лимфоцитов	ТБ/ВИЧ, %	ТБ, %	ОШ	95% ДИ	р
CD4 > 0	56,7	93,0	10,1	4,4 – 23,5	< 0,001
CD4 > 100	71,0		5,4	2,2 – 13,2	< 0,01
CD4 > 200	82,0		2,9	1,1 – 8,0	< 0,03
CD4 > 300	86,4		2,1	0,7 – 6,7	> 0,05
CD4 > 400	87,0		2,0	0,5 – 8,4	> 0,05
CD4 > 500	93,3		1,0	0,1 – 8,3	> 0,1

Таблица 2. Положительные результаты Диаскинтеста® в группе ТБ/ВИЧ в зависимости от уровня CD4+ лимфоцитов – по сравнению с группой ТБ

Число CD4+ лимфоцитов	ТБ/ВИЧ, %	ТБ, %	ОШ	95% ДИ	р
CD4 > 0	48,3	84,6	5,9	2,1-16,1	<0,01
CD4 > 100	68,3		2,6	0,9-7,6	<0,05
CD4 > 200	80,0		1,4	0,4-4,8	>0,05
CD4 > 300	70,0		2,4	0,6-8,6	>0,05

Манту (папула 5–17 мм) – прик-тест папула 3–9 мм; при гиперергических пробах Манту (папула более 17 мм) – прик-тест папула от 10 до 13 мм. При такой оценке проб количественная оценка результатов проб Манту и «прик-тест» также совпадает. Проба «прик-тест» информативна в той же степени, как и проба Манту.

Учитывая, что для постановки проб используются разные методики – шприц и прик-ланцет, нами изучены технические параметры постановки проб. Дефекты постановки пробы шприцом были в 18,4%: при использовании шприца (проба Манту с 2 ТЕ, Диаскинтест®) имело место подкожное введение туберкулина – 6,4% (15), введение неполной дозы – 9,4% (22), соскок иглы – 2,6% (6), что оценивалось как дефект постановки. При постановке пробы «прик-тест» дефекты встречались в 0,8% (2) – (ОШ=26, р<0,01). Кожная проба «прик-тест» имеет преимущества в простоте технического исполнения по сравнению с использованием шприца. Обследуемые, по субъективным ощущениям, положительно оценивали пробу «прик-тест» как психологически комфортную.

Одним из факторов объективной оценки туберкулиновых проб является характер папулы. У пациентов обеих групп с положительными результатами проб (169 человек) получено, что папула чаще имела четко округлую форму, без перифо-

кальной гиперемии при пробе «прик-тест» в 97,6% (165), ОШ>100, р<0,001.

Медицинские сестры, ставившие пробы, отзывались о методе не только как о самом технически простом в исполнении и требующем меньших усилий для постановки, но и как о самом безопасном. Чистое время, затраченное на постановку одной пробы: Манту 2 ТЕ=48±6 секунд; «прик-тест» = 11±4 секунд. Проба «прик-тест» в среднем делается быстрее пробы шприцем в 4 раза.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

У больных туберкулезом и ВИЧ-инфекцией при уровне CD4+ лимфоцитов 300 кл/мкл и более число положительных реакций на пробу Манту с 2 ТЕ (86,1%) достоверно не отличается от числа положительных реакций на пробу Манту с 2 ТЕ (93%) у больных туберкулезом без ВИЧ-инфекции.

Чувствительность Диаскинтеста® при уровне CD4 менее 200 кл/мкл снижалась с 80 до 17%, при 100% специфичности.

Проба «прик-тест» по результатам реакций достоверно не отличается от пробы Манту с 2 ТЕ, что позволяет рассматривать данную методику как скрининговый метод выявления туберкулеза у больных ВИЧ-инфекцией, как удобный, безопасный и информативный. Положительный результат пробы «прик-тест» позволит формировать группы риска по туберкулезу, среди которых проводить

обследование на туберкулёз и профилактические мероприятия. Данный подход позволит сэкономить материальные средства и создать систему по раннему выявлению туберкулезной инфекции у больных ВИЧ-инфекцией.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бородулина Е.А., Бородулин Б.Е., Амосова Е.А. Сравнительная оценка кожных туберкулиновых проб // *Туберкулез и болезни легких*. 2010. № 8. С. 18–22.
2. Новый кожный тест для диагностики туберкулёза на основе рекомбинантного белка ESAT-CFP / В.И. Киселев, П.М. Барановский, С.А. Путьшев и др. // *Молекулярная медицина*. 2008. № 4. С. 4–6.
3. Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации № 951 от 29.12.2014 «Об утверждении методических рекомендаций по совершенствованию диагностики и лечения туберкулеза органов дыхания».
4. Цыганков И.Л. Актуальные вопросы по распространенности туберкулеза среди ВИЧ-инфицированных в г.о. Тольятти (Россия, Самарская область) // *Аспирантский вестник Поволжья*. 2012. № 5–6. С. 263–266.
5. Lawn S.D., Churchyard G. Epidemiology of HIV-associated tuberculosis. *Current Opinion in HIV and AIDS*. 2009. № 4. P. 325–333.
6. Социально экономические аспекты туберкулеза/ О.Б. Нечаева, М.Г. Шестаков, Е.И. Скачкова и др. // *Проблемы управления здравоохранением*. 2010. Том 55. №6. С. 16–22
7. Diagnosis and treatment of pulmonary tuberculosis in patients with HIV / K.D. Pandey, G. Roy, G. Kumar et al. // *The Lancet infectious Diseases*. 2012. Vol. 12, № 4. P. 267.
8. Цыбикова Э.Б. Туберкулез, сочетанный с ВИЧ-инфекцией в начале 21 века // *Социальные аспекты здоровья населения*. 2015. Т. 43, № 3. С. 14.
9. Амосова Е.А., Бородулина Е.А., Балтер И.А. Устройство для постановки кожных туберкулиновых проб // *Патент на полезную модель* № 83186. 2009. Бюл. №15.

БАЗОВЫЕ ПОНЯТИЯ АЛЛЕРГОЛОГИИ (Часть 2)

Е.А. Грищенко

ООО «Научно-клинический консультативный центр аллергологии и иммунологии», Москва

В статье приведена информация, отражающая ключевые понятия аллергологии, молекулярной аллергологии, характеризующая основные семейства белков, группы аллергенов и аллергенные молекулы, представленная в опубликованных Европейской академией аллергологии и клинической иммунологии (EAACI) документах «Global Atlas of Allergy» и «Molecular Allergy Users Guide».

Ключевые слова: аллерген, молекула аллергена, семейство белков, механизмы аллергенности, перекрестная реактивность.

Basic concepts of allergology (Part 2)

Е.А. Grishchenko

Scientific and clinical advisory center of an allergology and immunology, Moscow, Russia

This article provides information that reflect key concepts of allergology, molecular allergology, describing the basic protein families, groups of allergens and allergen molecules presented in the published European Academy of Allergy and Clinical Immunology (EAACI) documents «Global Atlas of Allergy» and «Molecular Allergy Users Guide».

Keywords: allergen, allergen molecule, protein family, mechanisms of allergenicity, cross-reactivity.

ОСНОВНЫЕ ГРУППЫ АЛЛЕРГЕНОВ

Аллергены клещей домашней пыли

Клещи домашней пыли являются наиболее распространенным источником домашних (indoor)

аллергенов, вызывающих аллергию, в высокой степени ассоциированную с астмой. Клещи домашней пыли имеют первостепенное повсеместное значение за исключением небольшого числа регионов на