

З.И. Рогова¹, Е.М. Скрягина¹, В.В. Солодовникова¹,
М. Маер³, Р. Ахмед³, А.Е. Скрягин², М.И. Дюсьмикеева¹

¹ ГУ «РНПЦ пульмонологии и фтизиатрии», г. Минск

² УО «Белорусский государственный медицинский университет», г. Минск

³ Институт по контролю за инфекционными заболеваниями, г. Солна, Швеция

Новые методы диагностики туберкулезной инфекции

Введение. Туберкулез (ТБ) – одна из основных глобальных проблем здравоохранения, которая вызывает серьезную озабоченность в Беларуси, где распространенность туберкулеза с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ-ТБ) и широкой лекарственной устойчивостью (ШЛУ-ТБ) увеличилась в течение последних нескольких лет. Ежегодно в Республике Беларусь диагностируется около 5000 новых случаев ТБ, из которых от 20 до 30 % составляет МЛУ-ТБ. Ранняя диагностика заболевания, а затем и ускоренная идентификация устойчивости к противотуберкулезным лекарственным средствам первого ряда, имеют особое значение для проведения эффективного лечения, профилактики и контроля над туберкулезом.

Туберкулиновая кожная проба (ТКП) более 100 лет является методом выявления туберкулезной инфекции. Она используется в основном при массовой туберкулинодиагностике как с целью выявления туберкулезной инфекции, так и для определения показаний для ревакцинации у неинфицированных лиц. ТКП имеет низкую специфичность из-за перекрестной реактивности антигенов туберкулина и может давать ложноположительный результат у БЦЖ-вакцинированных пациентов. Схемы вакцинации БЦЖ значительно отличаются в разных странах и, главным образом, зависят от эпидемиологической ситуации.

Население Республики Беларусь вакцинируется БЦЖ, а картина клеточных иммунных реакций, способных распознавать антигены после нескольких прививок, до сих пор детально не изучена.

Негативная туберкулиновая кожная проба, согласно национальному руководству, может привести к повторной вакцинации. Поэтому существует необходимость использовать новые дополнительные методы диагностики туберкулеза.

Боле 10 лет назад был расшифрован геном микобактерий туберкулеза и появилась возможность выявить отличия между вакцинным штаммом БЦЖ *M. bovis* и вирулентными штаммами *M. tuberculosis*: в частности, обнаружено, что в регионе RDI (region of difference) генома *M. tuberculosis* находятся гены, кодирующие секрецию белков CFP10 и ESAT6. Открытие антигенов, специфичных для *M. tuberculosis*, привело к разработке тестов *in vitro*, основанных на продуцировании IFN- γ , в ответ на стимуляцию этими антигенами. Данные тесты показали почти 100 %

специфичность, но более низкую чувствительность – около 80 %. Эти тесты имеют и прогностическое значение, поскольку лица с положительной реакцией заболевают в течение 2-х последующих лет значительно чаще, чем туберкулин-положительные (в связи с чем предполагается, что они могут быть использованы для диагностики, так называемой латентной туберкулезной инфекции). Исследования продукции гамма-интерферона (IFN- γ) были разработаны для исключения перекрестной реактивности Т-клеточного ответа путем измерения иммунного ответа на специфические антигены *M. tuberculosis*. В связи с выше изложенным, были созданы две коммерческие версии измерения продукции IFN- γ Т-лимфоцитами в ответ на стимуляцию специфическими антигенами – QFG-IT (QuantiferON-TBGold In-Tube test) и ELISPOT (Enzyme-linked immunosorbent spot).

Цель исследования – оценка перспективности применения QFG-IT как метода диагностики туберкулезной инфекции в БЦЖ-вакцинированной популяции.

Материалы и методы. Обследовано 33 человека, которые разделены на две группы:

1. Пациенты с установленным диагнозом туберкулеза легких ($n = 17$), находящиеся на лечении в клинике РНПЦ пульмонологии и фтизиатрии (65 % мужчин, 35 % женщин; средний возраст 39 лет). Диагноз туберкулеза основывался на анамнезе, данных рентгенографического обследования и был подтвержден микроскопией мокроты и культуральным исследованием. Инфильтративный туберкулез был у 85,7 %, диссеминированный туберкулез – у 7,1 %, казеозная пневмония – у 7,1 %. Рост МБТ получен у 12, из них множественная лекарственная устойчивость была у 7 человек (58,3 %). Впервые выявленные больные составили 76,4 %.
2. Группа практически здоровых лиц ($n = 16$) без симптомов заболевания туберкулезом на момент взятия материала (средний возраст 42 года, 19 % мужчин, 81 % женщин). «Практически здоровые» лица являлись медицинскими работниками и сотрудниками лабораторий, все контактировали с *M. tuberculosis*.

Всем обследуемым была поставлена туберкулиновая кожная проба, проведен QuantiferON-TBGold и собран анамнез.

В крови людей, инфицированных *M. tuberculosis complex*, присутствуют лимфоциты, распознающие пептидные антигены. Данные антигены отсутствуют у всех штаммов БЦЖ и большинства нетуберкулезных микобактерий. Тест QFT-GIT основан на количественном определении IFN- γ .

В состав набора QFT-GIT входят специальные пробы для сбора крови: контрольная проба (отрицательный контроль), проба, содержащая антигены *M. tuberculosis*, и проба, содержащая митоген

(положительный контроль). Применение положительного контроля целесообразно, если есть сомнения относительно иммунного статуса пациента. Для определения количества IFN- γ , присутствующего в каждой из трех пробирок, используется иммуноферментный анализ.

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием программ «Statistica» 8–9 («StatSoft», США).

Результаты и их обсуждение. Всем участвующим в исследовании пациентам была поставлена туберкулиновая кожная проба, и у 97 % (32/33) получен положительный результат (табл. 1).

Таблица 1
Сопоставления результатов туберкулиновой пробы и результатов QuantiferON-TBGold

	Реакция Манту	QFT-G положительный	QFT-G отрицательный
Группа 1 ($n = 17$)	положительная	13 (76,5 %)	3 (17,6 %)
	отрицательная	-	1 (5,9 %)
Группа 2 ($n = 16$)	положительная	6 (37,5 %)	10 (62,5 %)
	отрицательная	0	0
Всего ($n = 33$)	положительная	19 (57,6 %)	13 (39,4 %)
	отрицательная	-	1 (3,0 %)

У 16 (94 %) лиц из группы больных туберкулезом легких получены положительные результаты ТКП, в том числе у лиц с отрицательным результатом микроскопии мокроты или культурального исследования, однако с характерной рентгенологической картиной.

У 70 % пациентов с туберкулезом легких получен положительный результат на *M. tuberculosis* при культуральном методе исследования и у 23,5 % были положительными результаты микроскопии мазка мокроты.

У 13 из 17 пациентов с туберкулезом легких (76,5 %) и у 6 из 16 (37,5 %) здоровых доноров получен положительный ответ при постановке QFT-GIT (табл. 2).

Таблица 2
Результаты постановки QuantiferON®-TB Gold IT в группах

Результат QuantiferON-TBGold	Пациенты с туберкулезом легких	Практически здоровые лица
Положительный	13 (76,5 %)	6 (37,5 %)
Отрицательный	4 (23,5 %)	10 (62,5 %)
Всего	17 (100 %)	16 (100 %)

В настоящем исследовании жизнеспособные *M. tuberculosis* были обнаружены у нескольких пациентов при культуральном исследовании мокроты, а при использовании иммунологических тестов (ТКП и QFG-IT) у этих пациентов получен отрицательный результат. В трех подтвержденных случаях туберкулеза легких QuantiferON-TBGold был отрица-

тельный. У всех лиц с положительной туберкулиновой кожной пробой был получен положительный ответ QFT-GIT, включая случаи туберкулеза легких. Расхождения, наблюдающиеся между иммунологическими и бактериологическими анализами, скорее всего, происходят из-за неполной функциональности Т-клеток у пациентов с туберкулезом легких.

Совпадение положительных результатов туберкулиновой пробы Манту и QFT-G в группе положительного контроля составила 76,5 %, в основной группе – 37,5 %.

Доля положительных результатов в группе 1 составила 13 из 17 (76,5 %). Количество отрицательных результатов исследования в группе 2 – 10 из 16 (62,5 %). Чувствительность метода составила 76,5 %, специфичность метода – 65,5 %.

Заключение

Данные исследования показали, что QuantiFERON®-TB Gold IT обладает высокой информативностью, эффективен и перспективен для применения с целью диагностики туберкулезной инфекции. Однако необходимо помнить, что QuantiFERON®-TB Gold IT является непрямым методом выявления *M. tuberculosis* и должен использоваться в совокупности с оценкой риска инфицирования и другими клиническими и лабораторными данными.