

На правах рукописи

**Манина
Вера Владимировна**

**ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ТЕСТЫ В ДИАГНОСТИКЕ
ТУБЕРКУЛЕЗА У ПАЦИЕНТОВ С ВИЧ-ИНФЕКЦИЕЙ С
РАЗЛИЧНЫМ УРОВНЕМ ИММУНОСУПРЕССИИ**

14.01.16 – фтизиатрия

14.01.09 – инфекционные болезни

Диссертация
на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Санкт-Петербург
2017

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования. Туберкулез распространён во всех регионах мира. По данным ВОЗ, в 2015 году 500 564 человека, больных туберкулёзом, имели положительный ВИЧ-статус, что составило 15% от всех случаев. Из них около 400 тысяч умерли от туберкулезной инфекции (ВОЗ, 2016). В последние годы в Российской Федерации наблюдается неуклонный рост заболеваемости туберкулезом у пациентов с ВИЧ-инфекцией. По данным Федерального центра мониторинга туберкулёза, число лиц с ВИЧ-инфекцией выросло в два раза, так например, в 2009 году показатель заболеваемости туберкулезом у лиц с ВИЧ составил 4,4 на 100 тысяч населения, а уже в 2015 году показатель вырос до 8,2 на 100 тысяч населения. При этом 9167 человек, живущих с ВИЧ-инфекцией, в 2015 году умерли от туберкулеза (Аналитический обзор статистических показателей, 2015; Нечаева О.Б., 2016).

До настоящего времени ранняя диагностика туберкулеза у пациентов с ВИЧ-инфекцией имеет существенные трудности в связи с нетипичным его течением, а также с остропрогрессирующим характером с высокой склонностью к генерализации, достигающей 70% (Баласанянц Г.С., 2014; Зимина В.Н., 2015; Пантелеев А.М. 2016; Adada H., 2014; Murray C.J. et al., 2014; Vanden Hof S. et al., 2015). В частности трудности лучевой диагностики туберкулеза у пациентов с ВИЧ-инфекцией обусловлены широким спектром легочной патологии со схожими рентгенологическими проявлениями, а также сочетанием его с рядом других заболеваний, имеющих схожую рентгенологическую симптоматику (Меринов А.В., 2014; Перфильев А.В., 2015; Saleeb P.G., 2014; Krauss M.R. et al., 2015).

Исторически скрининг туберкулеза проводится с использованием кожного теста с туберкулином. До 2001 года единственным доступным иммунологическим тестом была туберкулиновая проба, однако к настоящему времени доказана её низкая информативность (Барканова О.Н., 2015;

Кузьмина Н.В., 2015; Monge S. et al., 2014; Stout J.E. et al., 2014; Bourgarit A. et al., 2015). Признание того, что гамма-интерферон (IFN- γ) играет важную роль в регуляции клеточного иммунного ответа на туберкулезную инфекцию, привело к созданию IGRA-тестов (Converse P.J., 1997; Streeton J.A., 1998). В настоящее время QuantiFERON-TB Gold test (QFT) признается золотым стандартом в диагностике туберкулезной инфекции, однако данные о его информативности у пациентов с иммунодефицитом остаются спорными (Agbor A.A. et al., 2015; Kalokhe A.S. et al., 2015). Принцип проведения T-SPOT.TB (ELISPOTa), который основан на стимуляции специфическими пептидами Т-клеток и на их подсчете, позволяет применять данный иммунологический тест у пациентов с выраженной иммуносупрессией (Andrews J.R. et al., 2014). В международных исследованиях проводилось сравнение информативности IGRA-тестов, однако в Российской Федерации до 2012 года опыта применения подобных тестов не было.

Степень разработанности темы исследования

По данным международных исследований, диагностическая информативность IGRA-тестов (QuantiFERON®-TB Gold и ELISPOTa) составляет от 72 до 98% (Pai M., 2013; Adewole O.O., 2013, Park H., 2014, Sollai S., 2014). Применению IGRA-тестов уделяют большое внимание в особенности у пациентов с ВИЧ-инфекцией. При этом в отечественных публикациях в основном исследуют возможности теста с аллергеном туберкулезным рекомбинантным (АТР) в сравнении с пробой Манту с 2 ТЕ (Литвинов В.И., 2011; Дорошенкова А.Е., 2012; Белокуров М.А., 2016). Особое внимание уделяется выявлению латентной туберкулезной инфекции в группах риска (у лиц, живущих с ВИЧ, контактных лиц, медицинских работников, мигрантов и т.д.). В настоящее время экономическая целесообразность применения новых тестов (QuantiFERON®-TB Gold и ELISPOTa) доказана (National Centre for Global Health and Medicine, Tokyo, Japan, 2012).

Несмотря на большое число публикаций, сравнительных исследований по изучению диагностической информативности тестов, применяемых в настоящее время в Российской Федерации в диагностике туберкулеза, в том числе в сочетании с ВИЧ-инфекцией (пробы Манту с 2 ТЕ, пробы с аллергеном туберкулезным рекомбинантным (АТР), QuantiFERON®-TB Gold и ELISPOТа), не проводилось, а также не изучалось влияние уровня CD4 лимфоцитов на результаты данных тестов.

Цель исследования - повышение эффективности диагностики туберкулезной инфекции на фоне ВИЧ-инфекции с учетом различного уровня иммуносупрессии.

Задачи исследования:

- 1) сравнить показатели информативности иммунологических тестов нового поколения (кожной пробы с аллергеном туберкулезным рекомбинантным (АТР), QuantiFERON®-TB Gold (QFT) и ELISPOТа) в диагностике туберкулеза легких;
- 2) оценить информативность пробы Манту с 2 ТЕ, кожной пробы с аллергеном туберкулезным рекомбинантным (АТР), QuantiFERON®-TB Gold (QFT) и ELISPOТа в диагностике туберкулеза на фоне ВИЧ-инфекции;
- 3) изучить результаты иммунологических тестов (пробы с АТР, QFT и ELISPOТа) у лиц, живущих с ВИЧ-инфекцией, в зависимости от уровня иммуносупрессии;
- 4) разработать алгоритм диагностики туберкулеза на фоне ВИЧ-инфекции с учетом различного уровня иммуносупрессии с применением иммунологических тестов нового поколения (пробы с АТР, QFT и ELISPOТа).

Научная новизна исследования. Впервые на статистически значимом материале было проведено сравнение показателей информативности и

конкордантности иммунологических тестов (пробы Манту с 2 ТЕ, пробы с аллергеном туберкулезным рекомбинантным, ELISPOTа и QFT), применяемых в диагностике туберкулезной инфекции. Доказана высокая диагностическая чувствительность всех тестов и низкая специфичность пробы Манту с 2 ТЕ в диагностике туберкулеза у пациентов без ВИЧ-инфекции. Впервые был проведен расчет показателей диагностической значимости иммунологических тестов (пробы Манту с 2 ТЕ, пробы с аллергеном туберкулезным рекомбинантным, ELISPOTа и QFT) и сопоставление их результатов при туберкулезе на фоне ВИЧ-инфекции. Также было доказано, что IGRA - тесты (ELISPOT и QFT) имеют большую информативность, чем кожные пробы. Установлена корреляционная зависимость от уровня иммуносупрессии на фоне ВИЧ-инфекции результатов кожных иммунологических тестов и отсутствие таковой у IGRA – тестов (ELISPOTа и QFT). Впервые доказана необходимость дифференцированного подхода в применении пробы с АТР и IGRA – тестов в ранней диагностике туберкулезной инфекции у пациентов с ВИЧ-инфекцией с учетом уровня CD4 – лимфоцитов.

Теоретическая и практическая значимость. Исследование показало, что низкая диагностическая специфичность пробы Манту с 2ТЕ не позволяет рекомендовать ее для ранней диагностики туберкулезной инфекции, в отличие от иммунологических тестов нового поколения (АТР, QFT, ELISPOTа). Отсутствие зависимости результатов иммунологических тестов *in vitro* (ELISPOTа и QFT) от уровня CD4 – лимфоцитов у пациентов с ВИЧ-инфекцией позволяют их применять для определения активности туберкулезной инфекции даже на фоне выраженной иммуносупрессии. Применение пробы с АТР у пациентов с ВИЧ-инфекцией при уровне CD4 – лимфоцитов менее 349 кл/мкл может приводить к получению ложноотрицательных результатов. Включение иммунологических тестов нового поколения (АТР, QFT, ELISPOTа) в алгоритм ранней диагностики с

дифференцированным подходом в их применении и учетом различного уровня иммуносупрессии на фоне ВИЧ-инфекции позволяет повысить эффективность ранней диагностики туберкулезной инфекции и определить группу высокого риска по развитию активного туберкулеза с целью своевременного назначения превентивного курса терапии.

Методология и методы исследования. При подготовке и проведении исследования была использована стандартная для диссертационного исследования методология, а также было представлено обоснование актуальности темы, определены цели и задачи работы. В процессе решения поставленных задач использовались математико-статистический, аналитический, графический и дискриминантный методы анализа материала, было проведено сравнительное одномоментное исследование с набором клинического материала в отделении терапии туберкулеза легких ФГБУ «СПб НИИФ» Минздрава России, в отделении туберкулеза и ВИЧ-инфекции ГБУЗ «Городская туберкулезная больница №2», в Санкт-Петербургском ГБУЗ «Городской Центр по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями». Автор данной диссертации основывается на результатах клинического, рентгенологического и иммунологического обследований 241 человека, в число которых входило 124 пациента с туберкулезом, в том числе и с ВИЧ-инфекцией. Исследование одобрено Независимым этическим комитетом при ФГБУ «СПб НИИФ» Минздрава Российской Федерации (выписка №16 от 04.04.14).

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Диагностическая чувствительность иммунологических тестов (пробы Манту с 2ТЕ, пробы с АТР, QFT и ELISPOТа) значимо не различается, в то время как диагностическая специфичность тестов нового поколения (пробы с АТР, QFT и ELISPOТа) в полтора раза выше, чем у пробы Манту с 2 ТЕ.

2. IGRA-тесты (ELISPOT и QFT) имеют более высокие показатели информативности в диагностике туберкулезной инфекции на фоне ВИЧ-инфекции по сравнению с кожными иммунологическими тестами (пробой с АТР и пробой Манту с 2 ТЕ). Доказано, что только результаты ELISPOTа имеют прямую корреляционную связь с активной туберкулезной инфекцией у ВИЧ - позитивных пациентов.
3. Данные ELISPOTа и QFT не зависят от уровня CD4-лимфоцитов, тогда как результаты кожных проб (АТР и Манту с 2 ТЕ) имеют обратную корреляционную зависимость с уровнем иммуносупрессии у пациентов с ВИЧ-инфекцией.
4. Обоснован дифференцированный подход в применении иммунологических тестов нового поколения в алгоритме диагностики туберкулезной инфекции на фоне ВИЧ с учетом различного уровня иммуносупрессии, где при уровне CD4-лимфоцитов менее 349 кл/мкл необходимо применение ELISPOTа и QFT.

Внедрение результатов работы в практику. Основные положения диссертации внедрены в практику работы ГБУЗ «Городская туберкулезная больница №2», Санкт-Петербургского ГБУЗ «Городской Центр по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями», отделения терапии туберкулеза легких ФГБУ «СПб НИИФ» Минздрава России, ГБУЗ «Противотуберкулезный диспансер №12», ГБУЗ «Противотуберкулезный диспансер №17», ГБУЗ «Областной противотуберкулезный диспансер», а также в учебный процесс кафедры социально значимых инфекций ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Минздрава России.

Апробация работы. По материалам диссертации опубликовано 11 научных работ, из которых 4 публикации – в ведущих научных журналах и изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки России, 2 - в

международных изданиях. Основные положения диссертации доложены и обсуждены на научно-практических мероприятиях различного уровня, в том числе: на научно-практической конференции молодых ученых с международным участием, посвященной Всемирному дню борьбы с туберкулезом «Новые технологии в эпидемиологии, диагностике и лечении туберкулеза взрослых и детей» (Москва, 2015), на XVIII Международной медико-биологической конференции молодых исследователей, посвященной двадцатилетию медицинского факультета СПб ГУ «Фундаментальная наука и клиническая медицина – Человек и его здоровье» (Санкт-Петербург, 2015); на VIII съезде фтизиатров и пульмонологов Узбекистана (Ташкент, 2015); на VII и VIII Ежегодных Всероссийских конгрессах по инфекционным болезням с международным участием (Москва, 2015, 2016); на X Российском съезде фтизиатров «Туберкулез в России: год 2015» (Воронеж, 2015), на II, III и IV конгрессах Национальной ассоциации фтизиатров (Санкт-Петербург, 2013, 2014, 2015); на 25 конгрессе Европейского респираторного общества (ERS) (Амстердам, 2015), на European AID Sclinical Society (Барселона, 2015); на 7 конференции Союза по борьбе с туберкулезом Европейского региона (Братислава, 2016).

Личный вклад автора диссертации заключается в оценке современного состояния области исследования, в самостоятельно разработанном дизайне исследования и постановке его задач, в непосредственном участии в комплексном обследовании, в том числе в выполнении иммунологических тестов (проба Манту с 2 ТЕ и проба с АТР, IGRA- тесты), ведении 241 пациента, включенного в исследование. Весь материал, представленный в диссертации, получен, обработан и проанализирован лично автором.

Объем и структура диссертации. Диссертационная работа состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов, двух глав, содержащих собственные результаты исследования, заключения, выводов и практических рекомендаций, а также списка литературы. Работа изложена

на 126 страницах, содержит 16 таблиц, иллюстрирована 19 рисунками и клиническими примерами. Список литературы включает 101 отечественный источник и 140 зарубежных.

ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Во **введении** обоснована актуальность темы исследования, степень ее разработанности в литературе, определены цель и задачи исследования, раскрыты научная новизна и практическая значимость работы, основные моменты методологии, а также положения, выносимые на защиту, степень личного вклада автора, данные по апробации и внедрению результатов исследования в практику.

В **первой главе**, состоящей из трех подразделов, приводится анализ научных трудов отечественных и зарубежных авторов, посвященных проблеме диагностики туберкулеза на фоне ВИЧ-инфекции, внедрению иммунологических тестов и ранней диагностике туберкулеза у лиц, живущих с ВИЧ-инфекцией.

Во **второй главе** представлено описание методологии и методов исследования, в котором анализируются данные клинического, рентгенологического, иммунологического методов обследования 241 человека (118 (48,9%) мужчин и 123 (51,1%) женщин; в возрасте от 18 до 75 лет, среди которых - 124 пациента с верифицированным туберкулезом легких, в том числе с ВИЧ-инфекцией, а также лица, живущие с ВИЧ-инфекцией (n=50) и здоровые лица (n=60). Из анализа были исключены семь пациентов, у которых были выявлены нетуберкулезные микобактерии. Исследование было одобрено Независимым этическим комитетом при ФГБУ «СПб НИИФ» Минздрава России (исходящий №16 от 04.04.14).

Дизайн исследования. За период с 2013 по 2015 годы было проведено сравнительное одномоментное исследование с набором клинического материала в отделении терапии туберкулеза легких ФГБУ «СПб НИИФ» Минздрава России, в отделении туберкулеза и ВИЧ-инфекции ГБУЗ

«Городская туберкулезная больница №2», в Санкт-Петербургском ГБУЗ «Городской Центр по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями». Проведено сравнение результатов иммунологических тестов в четырех группах: I (n=55) - пациенты с туберкулезом легких (ТЛ), II (n=69) – с туберкулезом и ВИЧ-инфекцией (ТБ и ВИЧ), III (n=50) – лица, живущие с ВИЧ-инфекцией, и IV (n=60) – здоровые лица.

Пациенты с туберкулезом и ВИЧ-инфекцией (II) достоверно часто по сравнению с больными без ВИЧ-инфекции (I) выявлялись при предъявлении жалоб (15,9% против 74,5%, где, $\chi^2 = 11,37$, $p < 0,001$), что отразилось и на структуре клинических форм заболевания. Во II группе достоверно чаще был диагностирован генерализованный туберкулез (40,7% против 1,8%, где $\chi^2 = 11,37$, $p < 0,001$), что свидетельствует о дефектах раннего выявления туберкулеза на фоне ВИЧ-инфекции.

Известно, что тяжесть специфического процесса при туберкулезе на фоне ВИЧ-инфекции (II группа (ТБ и ВИЧ)) зависит от уровня иммуносупрессии. Пациенты II группы в 21,1% случаев (12) имели 4Б и в 78,9% (45) случаев - 4В стадию ВИЧ-инфекции. Средний уровень CD4-лимфоцитов во II группе составил $246,6 \pm 21,1$ кл/мкл, в III группе – $166,1 \pm 34,1$ кл/мкл. Вирусная нагрузка ВИЧ в крови у больных с туберкулезом и ВИЧ-инфекцией составила 4,9 lg. Во II группе в 87,7 % случаев и в III - в 82,0% пациенты получали высокоактивную антиретровирусную терапию (ВААРТ).

Методы обследования. Все пациенты, включенные в исследование, были обследованы с применением клинических, рентгенологических, этиологических и иммунологических методов с включением пробы Манту с 2ТЕ, пробы с аллергеном туберкулезным рекомбинантным (АТР), QuantiFERON® Gold ELISA и ELISPOTa. Фрагмент работы по постановке иммунологических тестов *in vitro* (IGRA- тесты) выполнен совместно с к.м.н. О.А. Якуновой (иммунологическая лаборатория ФГБУ "СПб НИИФ"

Минздрава России). Этиологическая и рентгенологическая диагностика проводилась в подразделениях ФГБУ «СПб НИИФ» Минздрава России.

У всех пациентов после комплексного обследования осуществлялся забор крови для проведения тестов *in vitro*, а затем всем проводилась постановка кожных тестов (пробы с АТР и пробы Манту с 2ТЕ). С целью оценки субпопуляционного состава лимфоцитов в венозной крови применялась панель моноклональных антител (ИКО, НПЦ «Медбиоспектр» (г. Москва).

Статистический анализ полученных результатов. Обработка материала осуществлялась с использованием пакета прикладных программ Statistica 6.0 (США). Средние значения количественных признаков приведены в тексте в виде $M \pm m$, где M – среднее арифметическое, m – ошибка среднего. Для оценки взаимосвязей между признаками использовался коэффициент корреляции Пирсона (r). Различия или показатели связи считались значимыми при уровне $p < 0,05$ и более. Применялся критерий хи-квадрат (χ^2). Для оценки взаимозависимостей между показателями использовался ранговый коэффициент корреляции Спирмена. Оценивались показатели диагностической значимости методов: диагностическая чувствительность (ДЧ); диагностическая специфичность (ДС); диагностическая эффективность (ДЭ); прогностическая значимость положительного результата (ПЗПР) и прогностическая значимость отрицательного результата (ПЗОР), относительного риска (*ratio risk* (RR)) и отношения шансов (*odds ratio*(OR)). Эффективность диагностического алгоритма была доказана на основании применения дискриминантного анализа после построения двух диагностических моделей: диагностики туберкулезной инфекции с применением иммунологических тестов нового поколения без ВИЧ-инфекции (Wilks' Lambda: ,03866 approx. F (58,266) =18,740 $p < 0,00011$) и на фоне ВИЧ- инфекции (Wilks' Lambda: ,04025 approx. F (52,272) =20,841 $p < 0,0009$).

Согласно поставленным задачам исследования, представлен анализ данных иммунологического обследования и рассчитаны показатели диагностической значимости примененных тестов у пациентов с верифицированным туберкулезом без ВИЧ и на фоне ВИЧ-инфекции, в том числе с различным уровнем иммуносупрессии.

С целью решения поставленных задач пациенты с ВИЧ-инфекцией во II и III группах были распределены на подгруппы с учетом уровня иммуносупрессии для определения зависимости результатов иммунологических тестов от уровня CD4- лимфоцитов.

Сравнение результатов всех иммунологических методов у пациентов с туберкулезом легких с бактериовыделением (n=37) представлено на рисунке 1.

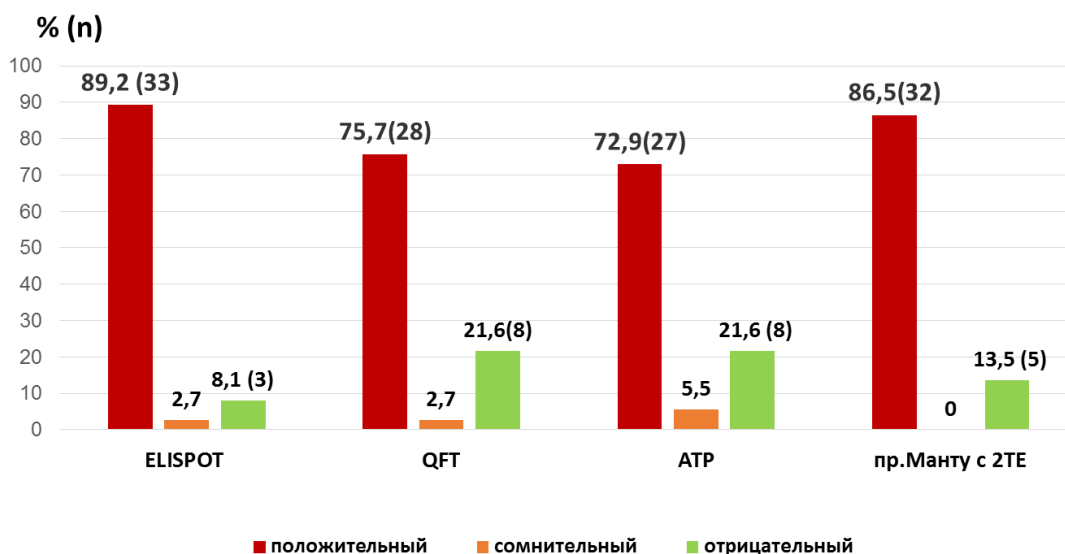


Рисунок 1. Результаты иммунологических тестов у больных туберкулезом легких с бактериовыделением

Согласно представленным на рисунке 1 данным, число положительных результатов у больных туберкулезом легких было сопоставимо между собой с некоторым преобладанием по ELISPOTу (89,2%).

Существенные различия по результатам тестов были получены у здоровых лиц (IV) (n= 58), что характеризует специфичность тестов (рисунок 2).

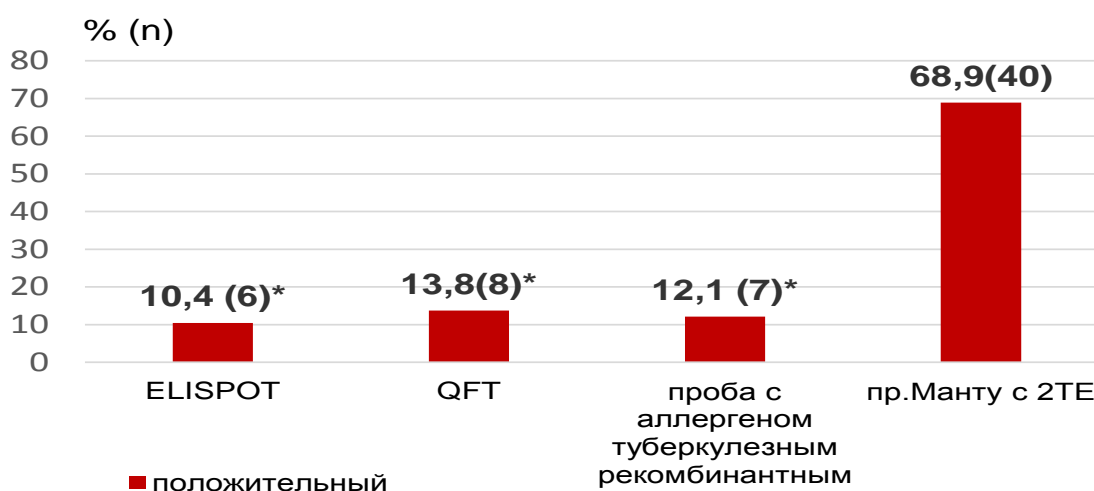


Рисунок 2. Положительные результаты иммунологических тестов у здоровых лиц

Примечание - * $p < 0,001$ – при сравнении результатов тестов в группе

Как представлено на рисунке 2, у здоровых лиц иммунологические тесты нового поколения (ELISPOT, QFT, проба с АТР) демонстрируют сопоставимое число положительных результатов, в отличие от пробы Манту с 2 ТЕ. Проведенный корреляционный анализ позволил выявить прямую среднюю силу корреляционной связи между отрицательными результатами тестов и активностью туберкулезной инфекции, где проба с АТР ($r = - 0,759$); QFT ($r = - 0,708$) и ELISPOT ($r = - 0,778$) показали одинаковые результаты, в отличие от пробы Манту с 2 ТЕ ($r = - 0,264$), которая имела слабую корреляционную связь с отрицательными результатами тестов.

Далее был проведен расчет показателей диагностической значимости всех иммунологических тестов (таблица 1).

Таблица 1 - Показатели информативности иммунологических методов в определении активности туберкулезной инфекции у пациентов с туберкулезом легких (%)

Иммунологические методы	ДЧ	ДС	ДЭ	ПЗПР	ПЗОП
Проба Манту с 2 ТЕ	86,5	31,1	58,8	48,1	81,8
Проба с АТР	79,4	87,9	82,5	87,1	89,7
QFT	76,5	86,2	82,0	87,5	83,3
ELISPOT	97,1	89,7	93,4	91,7	85,0

Представленные в таблице 1 показатели диагностической значимости иммунологических тестов в определении активности туберкулезной инфекции свидетельствуют о равноценной чувствительности тестов. При этом значимые отличия имеют иммунологические тесты нового поколения по специфичности в сравнении с результатами пробы Манту с 2 ТЕ (58,8%), что говорит о невозможности применения данного метода для ранней диагностики туберкулезной инфекции.

Сравнение всех изучаемых иммунологических методов во II группе у пациентов с туберкулезом и ВИЧ-инфекцией (n = 63) представлено на рисунке 3.

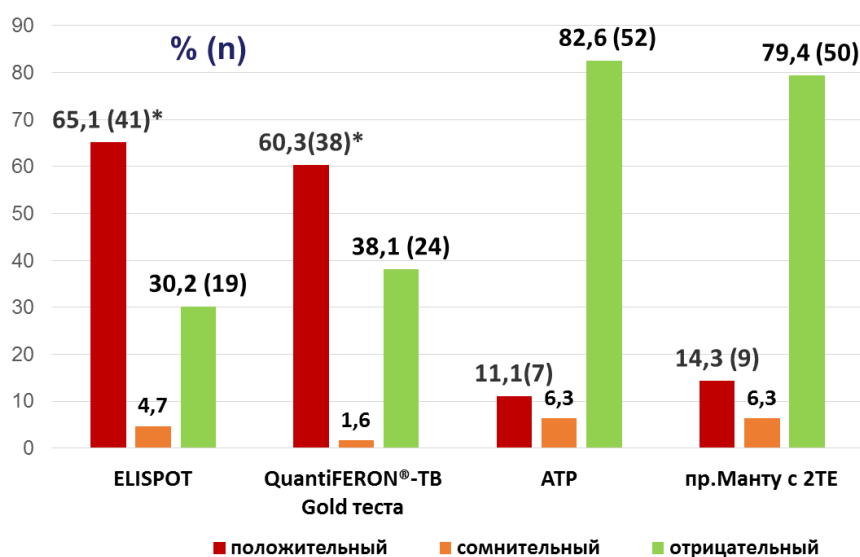


Рисунок 3. Результаты иммунологических тестов у пациентов с туберкулезом и ВИЧ-инфекцией

Примечание - *p<0,001 – при сравнении результатов тестов в группе

Как представлено на рисунке 3, более высокий процент положительных данных показал ELISPOT (65,1%). Результаты были достоверно чаще положительными как по сравнению с ПМ (65,1% против 14,3%, $\chi^2 = 33,95$, $t=5,75$, $p<0,001$), так и с АТР (65,1% против 11,1%, $\chi^2 = 38,90$, $t=6,04$, $p<0,001$). QFT определялись достоверно чаще как в сравнении с ПМ (60,3% против 14,3%, $\chi^2 = 33,21$; $t=5,73$, $p<0,05$), так и с АТР (60,3% против 11,1%, $\chi^2 = 28,53$; $t=6,03$, $p<0,001$).

Число положительных результатов IGRA –тестов в III группе (n=46) было сопоставимо между собой (26,1% и 21,7 % по ELISPOTу и QFT соответственно) (рисунок 4).



Рисунок 4. Положительные результаты иммунологических тестов у лиц с ВИЧ-инфекцией (III группа)

Примечание - * $p<0,05$ – при сравнении результатов тестов в группе

Представленные на рисунке 4 данные свидетельствуют, что в III группе, также как и во II группе положительные пробы с АТР и ПМ получены в два раза реже, чем по IGRA –тестам.

У ELISPOTа ($r = +0,68$) была выявлена прямая корреляционная зависимость положительных результатов теста у пациентов с ВИЧ-

инфекцией и активностью туберкулезной инфекции. Подсчет количества спотов показал достоверные различия по числу спотов во II (ТБ +ВИЧ) группе по сравнению с III (ВИЧ) ($12,0 \pm 1,4$ (II) против $3,71 \pm 0,9$ (III), $p < 0,05$).

Полученные в III группе результаты позволили рассчитать информативность тестов в диагностике активного туберкулеза на фоне ВИЧ-инфекции, которые, как представлено в таблице 2, ниже данных показателей в группе пациентов с туберкулёзом без ВИЧ.

Таблица 2 -Показатели информативности иммунологических методов в определении активности туберкулезной инфекции на фоне ВИЧ-инфекции (%)

Методы диагностики	ДЧ	ДС	ДЭ	ПЗПР	ПЗОР
Проба Манту с 2 ТЕ	15,3	31,1	23,2	18,4	26,5
Проба с АТР	11,9	87,9	49,9	50,0	49,5
QFT	61,3	86,2	73,8	82,6	67,6
ELISPOT	69,1	89,7	79,4	87,2	73,2

На фоне ВИЧ-инфекции диагностическая чувствительность IGRA-тестов существенно ниже, чем без ВИЧ (ELISPOT (69,1% против 97,1%); QFT (61,3% против 76,5%)). Более значимые отличия в ДЧ показали тесты *in vivo* (проба с АТР (11,9% против 79,4%) и проба Манту с 2 ТЕ (15,3% против 86,5%)), которые были достоверными ($p < 0,001$).

Согласно полученным данным, частота положительных результатов по ELISPOTу и QFT не зависит от уровня иммуносупрессии (рисунок 5).

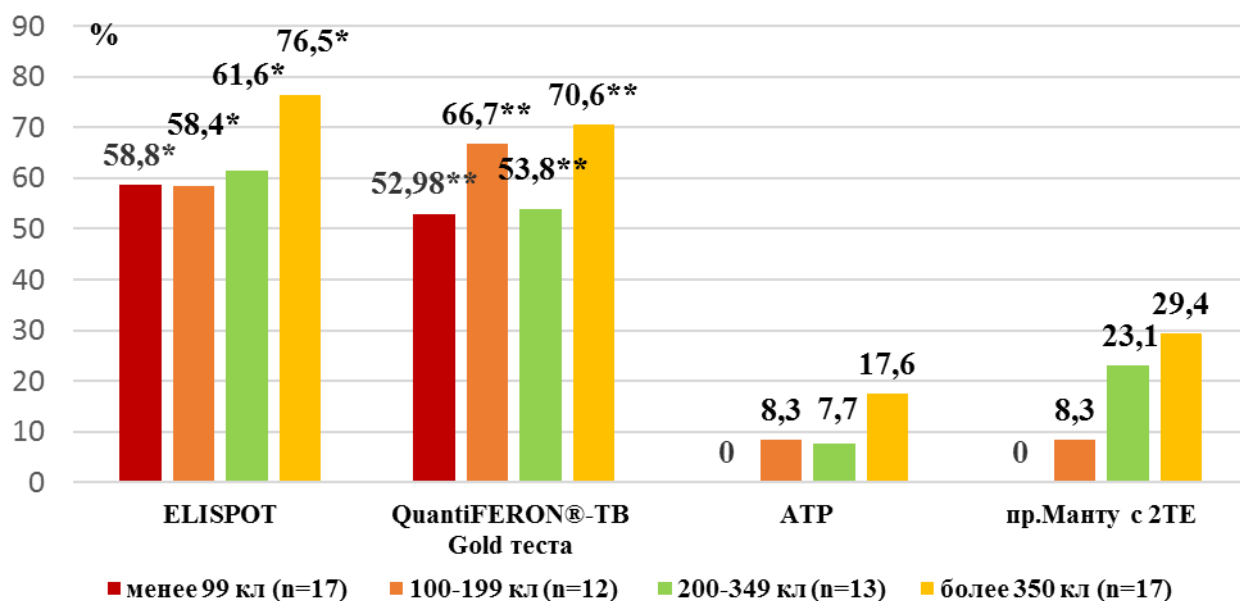


Рисунок 5. Положительные результаты иммунологических тестов в подгруппах с различным уровнем иммуносупрессии

Примечание:

- * $p < 0,05$ – при сравнении результатов ELISPOTа и тестов *in vivo* в подгруппах;
- ** $p < 0,05$ – при сравнении результатов QFT и тестов *in vivo* в подгруппах.

По QFT число положительных результатов было достоверно выше, чем по пробе Манту с 2ТЕ ($t=3,92$, $p < 0,05$) и пробе с АТР ($t=3,17$, $p < 0,05$). Аналогичные результаты были получены при сравнении ELISPOTа и кожных проб ($t=5,2$ (АТР), $t=4,2$ (ПМ) соответственно, $p < 0,05$).

При проведении корреляционного анализа была получена обратная зависимость ($r = - 0,6$) между положительным результатом пробы с АТР и уровнем CD4-лимфоцитов у пациентов с ТБ и ВИЧ-инфекцией. Аналогичная связь была выявлена и при анализе результатов ПМ и уровня CD4-лимфоцитов в крови ($r = - 0,7$). Важно отметить, что между результатами ELISPOTа, QFT и уровнем CD4-лимфоцитов подобной корреляции выявлено не было ($r = - 0,16$ и $r = - 0,04$ соответственно).

Сравнительный анализ положительных результатов всех иммунологических тестов (ELISPOTа, QFT, пробы с АТР и пробы Манту с 2

ТЕ) показал значимые различия между положительными результатами IGRA-тестов и проб *in vivo* (пробы с АТР и пробы Манту с 2 ТЕ) при различном уровне иммуносупрессии у лиц, живущих с ВИЧ-инфекцией (рисунок 6).

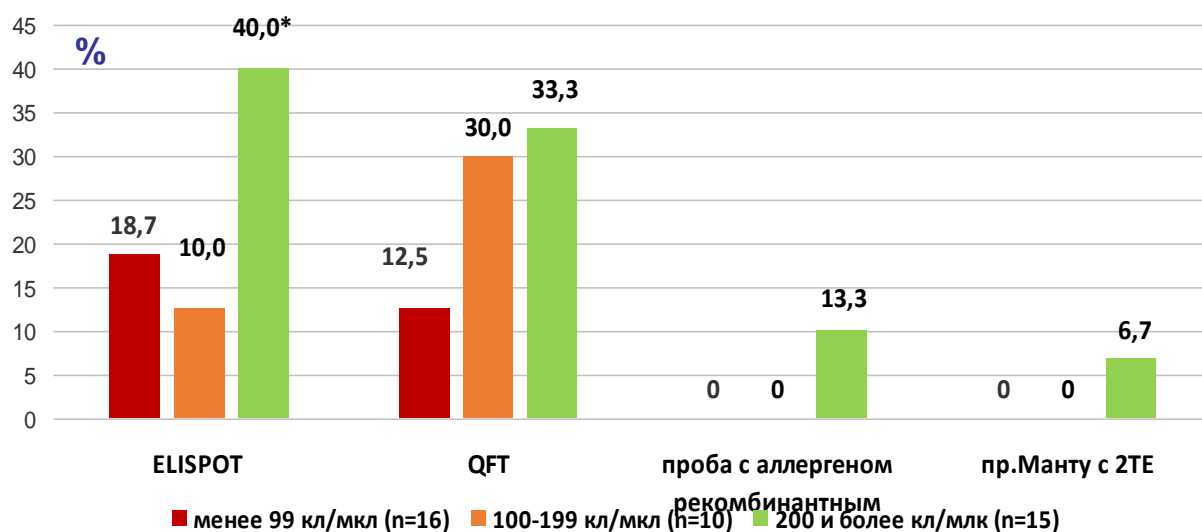


Рисунок 6. Положительные результаты иммунологических тестов в подгруппах III группы у лиц, живущих с ВИЧ-инфекцией

Примечание - * $p < 0,05$ – при сравнении результатов ELISPOTа и тестов *in vivo* в подгруппах

IGRA – тесты (в 18,7% по ELISPOTу и в 12,5% по QFT) позволяют определить активность туберкулезной инфекции у лиц, живущих с ВИЧ-инфекцией с высоким уровнем иммуносупрессии менее 199 кл/мкл. По пробе с АТР и пробе Манту с 2 ТЕ положительные данные в данной подгруппе не определялись.

Полученные в результате исследования данные позволили разработать алгоритм ранней диагностики туберкулезной инфекции на фоне ВИЧ-инфекции с учетом различного уровня иммуносупрессии (рисунок 7).



Рисунок 7. Алгоритм ранней диагностики туберкулезной инфекции на фоне ВИЧ-инфекции с применением иммунологических тестов нового поколения (пробы с АТР, QFT и ELISPOTa)

Как представлено на рисунке 7, ранняя диагностика туберкулезной инфекции на фоне ВИЧ-инфекции без иммуносупрессии может осуществляться с применением любого иммунологического теста нового поколения (пробы с АТР, QFT и ELISPOTa), тогда как при уровне CD4-лимфоцитов менее 349 кл/мкл могут быть применимы только IGRA-тесты (QFT и ELISPOT), что обусловлено их высокой информативностью. Получение положительного результата одного из теста требует проведения фтизиатрического обследования.

Проведенный дискриминантный анализ позволил сравнить информативность алгоритма ранней диагностики туберкулеза с применением иммунологических тестов без ВИЧ-инфекции и на фоне ВИЧ-инфекции (рисунок 8 (А) и Б)).

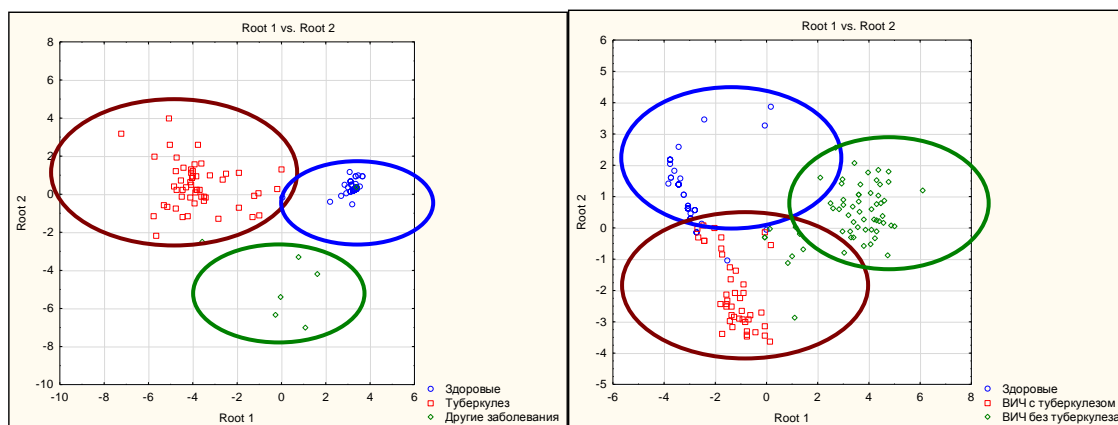


Рисунок 8 - Результаты дискриминантного анализа алгоритма ранней диагностики туберкулезной инфекции у пациентов без ВИЧ-инфекции (А) и на фоне ВИЧ (Б)

Как представлено на рисунке 8 (А и Б), поля групп практически не пересекаются. Расчет эффективности алгоритмов составил 98,9% без ВИЧ и 90,85% - на фоне ВИЧ-инфекции.

Таким образом, на основании полученных в исследовании данных была доказана низкая специфичность пробы Манту с 2 ТЕ, что не позволяет применять данную пробу с целью ранней диагностики туберкулезной инфекции. На фоне ВИЧ-инфекции определение активности туберкулезной инфекции с применением иммунологических тестов нового поколения должна осуществляться с учетом уровня иммуносупрессии пациентов. При уровне CD 4 - лимфоцитов более 350 кл/мкл может быть применена проба с АТР, ELISPOT или QFT, тогда как при иммуносупрессии менее 349 кл/мкл не рекомендовано использование пробы с АТР, что обусловлено обратной корреляционной зависимостью результатов теста с уровнем иммуносупрессии. Включение иммунологических тестов нового поколения в разработанный алгоритм ранней диагностики туберкулезной инфекции на фоне ВИЧ-инфекции, который определяет дифференцированный подход в выборе тестов с учетом уровня иммуносупрессии, позволяет своевременно направить на обследование к фтизиатру пациентов с высоким риском развития активного туберкулеза и обоснованно назначить превентивный курс терапии при выявлении латентной туберкулезной инфекции.

ВЫВОДЫ

1. Все иммунологические тесты, применяемые для определения активности туберкулезной инфекции, имеют высокую диагностическую чувствительность (проба Манту с 2 ТЕ – 86,5%, АТР – 79,4%, QFT – 76,5%, ELISPOT – 97,1%), тогда как специфичность пробы с АТР - 87,9%, QFT – 86,2% и ELISPOТа - 89,7% в полтора раза выше, чем пробы Манту с 2 ТЕ (58,8%).
2. Показатели информативности ELISPOТа (79,4%) и QFT (73,8%) на фоне ВИЧ-инфекции на 30% выше пробы с АТР и на 50% - пробы Манту с 2 ТЕ. Только у ELISPOТа доказана прямая корреляционная связь ($r = +0,8$) между положительными результатами теста и активностью туберкулезной инфекции.
3. Результаты ELISPOТа и QFT не имеют прямой корреляционной зависимости с уровнем иммуносупрессии, тогда как показатели кожных тестов (пробы Манту с 2 ТЕ и АТР) находятся в обратной корреляционной зависимости ($r = - 0,7$) от уровня CD4- лимфоцитов при определении активности туберкулезной инфекции на фоне ВИЧ-инфекции.
4. Эффективность алгоритма ранней диагностики туберкулезной инфекции составляет 90,85% у пациентов с ВИЧ-инфекцией при уровне CD4-лимфоцитов более 350 кл/мкл с применением любого иммунологического теста нового поколения (пробы с АТР, ELISPOT и QFT) и при уровне иммуносупрессии менее 349 кл/мкл только IGRA-тестов (ELISPOТа и QFT)

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Ранняя диагностика туберкулезной инфекции без ВИЧ-инфекции может осуществляться с применением любого иммунологического теста нового поколения (пробы с АТР, ELISPOТа или QFT).
2. Определение активности туберкулезной инфекции на фоне ВИЧ-инфекции должно проводиться с учетом различного уровня иммуносупрессии.
3. Необходим дифференцированный подход в выборе иммунологических тестов нового поколения: применение пробы с АТР у пациентов с ВИЧ-инфекцией возможно только при уровне CD4-лимфоцитов более 350 кл/мкл, тогда как при уровне иммуносупрессии менее 349 кл/мкл необходимы IGRA – тесты (ELISPOT или QFT).
4. Получение положительного результата по пробе с АТР, ELISPOТу или QFT диктует необходимость обследования пациентов для выявления активного туберкулеза. Диагностика латентной туберкулезной инфекции у лиц, живущих с ВИЧ-инфекцией, требует более длительного наблюдения и проведения профилактических мероприятий, что обусловлено высоким риском развития заболевания.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

**Работы, опубликованные в ведущих рецензируемых журналах,
рекомендованных ВАК Министерства образования и науки Российской
Федерации**

1. Применение T-spot у больных ВИЧ-инфекцией / А.М. Пантелеев, **В.В. Манина**, А.А. Старшинова, В.Ю. Журавлев // Туберкулез и болезни легких. - 2014. - №9.- С.52-53.
2. Применение современных иммунологических методов в диагностике туберкулеза у пациентов с ВИЧ-инфекцией / А.А. Старшинова, А.М. Пантелеев, Е.В. Васильева, **В.В. Манина**, М.В. Павлова, Н.В. Сапожникова // Журнал инфектологии. - 2015. - Т.7, №3. - С.126-131.

3. Возможности различных иммунологических тестов в диагностике туберкулеза у пациентов с ВИЧ-инфекцией / А.А. Старшинова, А.М. Пантелеев, **В.В. Манина**, Е.В. Истомина, Д.Н. Афонин, В.Ю. Журавлев // Туберкулёз и болезни лёгких. - 2016. - 94(8).- С.14-22.
4. Иммунологические методы у пациентов с туберкулезом и ВИЧ-инфекцией при различном уровне иммуносупрессии / **В.В. Манина**, А.А. Старшинова, А.М. Пантелеев, В.Ю. Журавлев, Н.В. Сапожникова, И.В. Чернохаева, Е.Н. Беляева, М.В. Павлова // Туберкулез и болезни легких. – 2015.- №7.- С.-87-88.

Работы, опубликованные в других изданиях

5. Выявление латентной туберкулезной инфекции среди групп риска по развитию туберкулеза / Н.В. Сапожникова, Е.В. Истомина, А.А. Старшинова, А.М. Пантелеев, В.Ю. Журавлев, И.В. Чернохаева, Е.Н. Беляева, **В.В. Манина**, М.В. Павлова // Туберкулез и болезни легких: Материалы съезда фтизиатров России и 10-го съезда Российского общества фтизиатров 26-28 мая 2015 г., Воронеж. - 2015. - №7. - С. - 123.
6. Результаты QuantiFERON®-TB Gold и TB.SPOT ТЕСТА у пациентов с туберкулезом и ВИЧ-инфекцией при различном уровне иммуносупрессии / **В.В. Манина**, А.А. Старшинова, А.М. Пантелеев, В.Ю. Журавлев, Н.В. Сапожникова, И.В. Чернохаева, Е.Н. Беляева, М.В. Павлова // Медицинская иммунология "Дни иммунологии в Санкт-Петербурге 2015". - 2015.– Т.17. - № S. - С.205.
7. Значение иммунологических тестов в диагностике туберкулеза у пациентов с ВИЧ-инфекцией / **В.В. Манина**, А.А. Старшинова, А.М. Пантелеев, В.Ю. Журавлев, М.В. Павлова, Н.В. Сапожникова, П.К. Яблонский // Медицинский альянс. – 2015. – №1. – С.220-221.
8. The value of immunological methods in the diagnosis of tuberculosis in patients with HIV / **V. Manina**, A. Starshinova, A. Panteleev, V. Zhuravlev, M. Pavlova, N. Sapozhnikova, P. Yablonskii // Eur. Respir. J. – 2015. - Vol. 46. - N S 59. - RA 2981.
9. Сравнение иммунологической значимости иммунологических тестов в диагностике туберкулеза у пациентов с ВИЧ-инфекцией/ **В.В. Манина**, А.А. Старшинова, А.М. Пантелеев // Материалы VIII Съезда фтизиатров и пульмонологов Узбекистана. - Ташкент, 2015. - С. 97.
10. Результаты иммунологических тестов *in vitro* и *in vivo* в диагностике туберкулеза у пациентов с ВИЧ-инфекцией в зависимости от уровня иммуносупрессии / **В.В. Манина**, А.А. Старшинова, А.М. Пантелеев, В.Ю. Журавлев, О.А. Якунова, П.К. Яблонский // Туберкулез и социально значимые заболевания. -2016. - №1.- С.37-42.
11. Информативность комплекса ранней диагностики туберкулеза у лиц, живущих с ВИЧ-инфекцией, с применением иммунологических методов нового поколения / **В.Н. Манина**, Д.Н. Афонин, А.М. Пантелеев // Фтизиатрия и пульмонология. – 2017. - №2 (15). - С. 88-111.