

ОТЗЫВ

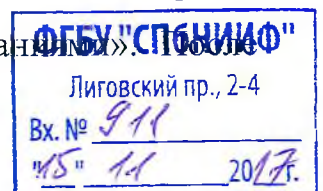
**официального оппонента на диссертацию
Маниной Веры Владимировны «Иммунологические тесты в диагностике
туберкулёза у пациентов с ВИЧ-инфекцией с различным уровнем
иммуносупрессии», представленной на соискание ученой
степени кандидата медицинских наук по специальностям
14.01.16- фтизиатрия, 14.01.09 – инфекционные болезни**

Актуальность темы диссертационного исследования, выполненного Маниной В.В., несомненна, так как освещает трудности ранней диагностики туберкулёза, в том числе и у пациентов с ВИЧ-инфекцией, а также открывает возможности ее оптимизации с помощью современных иммунологических тестов.

В Российской Федерации сохраняется рост числа новых случаев ВИЧ-инфекции. Тенденцией последних лет является выявление больных на поздних стадиях ВИЧ-инфекции с проявлениями выраженного иммунодефицита.

Туберкулез относится к наиболее частой вторичной патологии, регистрируемой у больных ВИЧ-инфекцией. Патогенетические особенности ВИЧ-инфекции, характерные нарушения в иммунной системе обуславливают особенности клинической картины и более тяжелое течение туберкулеза у подобных пациентов. Кроме того, у больных ВИЧ-инфекцией затруднена клиническая и радиологическая диагностика туберкулеза.

Исследовательская работа основана на результатах обследования 241 пациента, среди которых - 124 пациента с верифицированным туберкулезом легких, в том числе с ВИЧ-инфекцией. Исследование проводили 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».



проведения комплексного обследования пациенты были разделены на четыре группы: первую группу (n=55) составили пациенты с туберкулезом легких (ТЛ), вторую - пациенты с туберкулезом и ВИЧ-инфекцией (ТБ и ВИЧ-и) (n=69), третью (n=50) – лица с моно-инфекцией ВИЧ и четвертую (n=60) – здоровые лица.

Статистическая обработка полученных данных выполнена на высоком методическом уровне, что свидетельствует о высокой степени достоверности полученных результатов.

Научная новизна исследования и научных результатов

В процессе исследования Маниной В.В. впервые было проведено сравнение показателей информативности иммунологических тестов (пробы Манту с 2 ТЕ, пробы с аллергеном туберкулезным рекомбинантным, ELISPOTa и QFT), применяемых в диагностике туберкулезной инфекции. Доказана эффективность тестов в ранней диагностике туберкулеза у пациентов без ВИЧ-инфекции и с ВИЧ-инфекцией. Так было доказано, что IGRA - тесты (ELISPOT и QFT) имеют большую информативность, чем кожные пробы. При этом была отмечена необходимость дифференцированного подхода в применении пробы с АТР и IGRA – тестов в ранней диагностике туберкулезной инфекции у пациентов с ВИЧ-инфекцией исходя из количества CD4 – лимфоцитов.

Ценность для науки и практики выводов и рекомендаций, вытекающих из выполненной диссертационной работы, заключается в том, что в процессе исследования автором предложен новый подход в ранней диагностике туберкулёза с применением пробы Манту с 2 ТЕ, пробы с аллергеном туберкулезным рекомбинантным, ELISPOTa и QFT. Использование уже на ранних сроках обследования иммунологических тестов позволит выделить группу пациентов с низким риском специфического процесса, которые нуждаются в специализированной помощи.

Реализация и апробация результатов исследования

Разработанные в диссертации положения внедрены в практическую работу 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.

По материалам диссертации опубликовано 11 научных работ, из них 4 публикации в ведущих научных журналах и изданиях, рекомендованных ВАК Минобразования и науки России, 2 - в международных изданиях. Основные положения диссертации доложены и обсуждены на 8 научно-практических мероприятиях различного уровня.

Оценка содержания и оформления диссертации

Диссертационное исследование представляется целостным и законченным. Структура диссертации традиционна и соответствует разработанным стандартам. Диссертационная работа состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов, результатов собственных исследований, изложенных в двух главах, 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.

Во **введении** автором обоснована актуальность темы исследования, степень ее разработанности в литературе, определены цель и задачи

исследования, раскрыты научная новизна и практическая значимость работы, основы 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, в том числе внедрению иммунологических тестов и ранней диагностике туберкулеза у больных ВИЧ-инфекцией.

Во **второй главе** автор представила описание пациентов и методов исследования, анализ данных клинического, рентгенологического, иммунологического методов обследования 241 человека (118 мужчин - 48,9% и 123 женщин - 51,1%); в возрасте от 18 до 75 лет, среди которых - 124 пациента с верифицированным туберкулезом легких, в том числе с ВИЧ-инфекцией, а также больные моно-инфекцией ВИЧ (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).

За период с 2013 по 2015 годы автором 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».

Согласно результатам исследования, пациентов с туберкулезом и ВИЧ-инфекцией (II) достоверно часто по сравнению с больными без ВИЧ-инфекции (I) выявляли 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/ВИЧ-и) зависит от выраженности иммуносупрессии. Пациенты II группы в 21,1% случаев (12) имели стадию ВИЧ-инфекции 4Б и в 78,9% (45) случаев – 4В стадию. Количество CD4-лимфоцитов во II группе составило в среднем $246,6 \pm 21,1$ клеток/мкл, в III группе – $166,1 \pm 34,1$ клеток/мкл. Содержание РНК ВИЧ (вирусная нагрузка) в плазме крови больных с ТБ/ВИЧ-и было равно 4,9 lg. Во II группе в 87,7 % случаев и в III – в 82,0% пациенты получали антиретровирусную терапию (АРВТ).

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). Этиологическую и рентгенологическую диагностику проводили в подразделениях ФГБУ «СПб НИИФ» Минздрава России.

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

Статистический анализ полученных результатов проведен 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 использовали коэффициент корреляции Пирсона (r). Различия или показатели связи считали значимыми при уровне $p < 0,05$ и более. Применяли критерий хи-квадрат (χ^2). Для оценки взаимозависимостей между показателями использовали ранговый коэффициент корреляции Спирмена. Оценивали 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.

В соответствии с поставленными задачами исследования автором 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 в зависимости от выраженности иммуносупрессии.

С целью решения поставленных задач больные ВИЧ-инфекцией во II и III группах были распределены на подгруппы в зависимости от выраженности иммуносупрессии для определения информативности результатов иммунологических тестов при различном количестве CD4-лимфоцитов.

Показано, что 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 высокую специфичность тестов нового поколения.

У здоровых лиц иммунологические тесты нового поколения (ELISPOT, QFT, проба с АТР) продемонстрировали сопоставимое число положительных результатов, в отличие от пробы Манту с 2 ТЕ. Проведенный корреляционный анализ позволил выявить прямую корреляционную связь средней силы 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. 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 свидетельствует о невозможности применения данного метода для ранней диагностики туберкулезной инфекции.

Сравнение всех изучаемых иммунологических методов во II группе больных туберкулезом и ВИЧ-инфекцией (n = 63) показал высокий процент положительных данных по ELISPOT (65,1%). Достоверно чаще регистрировали положительные результаты как по сравнению с пробой Манту с 2 ТЕ, так и с АТР. Частота положительных результатов IGRA –тестов в III группе (n=46) была сопоставима между собой. В III группе, также как и во II группе положительные пробы с АТР и ПМ были выявлены в два раза реже, чем по IGRA –тестам.

Только у ELISPOTa ($r = +0,68$) была обнаружена прямая корреляционная связь между положительным результатом теста у больных ВИЧ-инфекцией и активностью туберкулезной инфекции.

На основании полученных результатов был проведен расчет информативности тестов для диагностики активного туберкулеза у больных ВИЧ-инфекцией.

У больных ВИЧ-инфекцией диагностическая чувствительность IGRA-тестов была существенно ниже, чем у больных только ТБ (ELISPOT - 69,1% против 97,1%; QFT - 61,3% против 76,5%). Достоверные отличия в ДЧ ($p < 0,001$) были получены при использовании тестов *in vivo*: проба с АТР - 11,9% против 79,4%; проба Манту с 2 ТЕ - 15,3% против 86,5%.

При проведении корреляционного анализа выявлена обратная зависимость ($r = - 0,6$) между положительным результатом пробы с АТР и количеством CD4-лимфоцитов у больных ТБ/ВИЧ-и. Аналогичная связь была обнаружена и при анализе результатов ПМ и количества CD4-лимфоцитов в крови ($r = - 0,7$). Важно отметить, что между результатами ELISPOTa, QFT и количеством CD4-лимфоцитов подобной корреляции зарегистрировано не было ($r = - 0,16$ и $r = - 0,04$, соответственно).

Сравнительный анализ положительных результатов всех иммунологических тестов (ELISPOTa, 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) в зависимости от выраженности иммуносупрессии у больных ВИЧ-инфекцией.

Согласно полученным автором данным, IGRA – тесты позволяют определить активность туберкулезной инфекции у больных ВИЧ-инфекцией при наличии выраженной иммуносупрессии (CD4-лимфоциты - менее 199 клеток/мкл) в 18,7% по ELISPOTу и в 12,5% по QFT, что позволяет оптимизировать работу фтизиатра и целенаправленно применять превентивное лечение. работу. По пробе с АТР и пробе Манту с 2 ТЕ

положительные данные в данной подгруппе получены не были, что не позволяет применять данные тесты в ранней диагностике туберкулезной инфекции у больных ВИЧ-инфекцией при наличии выраженной иммуносупрессии.

Результаты, полученные в ходе исследования, позволили автору разработать алгоритм ранней диагностики туберкулезной инфекции у больных ВИЧ-инфекцией с учетом выраженности иммуносупрессии.

С целью ранней диагностики туберкулезной инфекции у больных ВИЧ-инфекцией без иммуносупрессии можно применять любые иммунологические тесты нового поколения (пробы с АТР, QFT и ELISPOTa), тогда как у больных со сниженным количеством CD4-лимфоцитов (менее 349 клеток/мкл) следует использовать только IGRA-тесты (QFT и ELISPOT), в следствие их высокой информативности у данной категории пациентов. При получении положительного результата даже одного из тестов необходимо проведение фтизиатрического обследования.

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. У больных ВИЧ-инфекцией определение активности туберкулезной инфекции с применением иммунологических тестов нового поколения следует проводить с учетом выраженности иммуносупрессии. При количестве CD4-лимфоцитов 350 клеток/мкл и более можно использовать пробу с АТР, ELISPOT или QFT, тогда как при количестве CD4-лимфоцитов менее 349 клеток/мкл не рекомендуется применять пробу с АТР, что обусловлено наличием зависимости результатов теста от выраженности иммуносупрессии. Включение иммунологических тестов нового поколения в разработанный алгоритм ранней диагностики туберкулезной инфекции у больных ВИЧ-инфекцией, в котором представлен дифференцированный подход в выборе тестов на основании выраженности 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.

Принципиальных замечаний по главам диссертационной работы нет. Обращает на себя внимание глубокое изучение автором литературных источников и критическое сопоставление их данных с собственными результатами. Выводы диссертации основаны на фактическом материале результатов проведенных исследований, целиком вытекают из материалов работы, достоверны. Представленные автором практические рекомендации важны для практики, так как направлены на улучшение ранней диагностики туберкулеза у больных ВИЧ-инфекцией.

Оценивая работу в целом, следует отметить, что она написана хорошим языком, легко читается, фактический материал изложен в большом числе таблиц и рисунков.

Личный вклад Маниной В.В. в исследование данной темы несомненен. Автореферат соответствует содержанию диссертационной работы.

Заключение

Диссертация Маниной Веры Владимировны «Иммунологические тесты в диагностике туберкулёза у пациентов с ВИЧ-инфекцией с различным уровнем иммуносупрессии», выполненная под научным руководством доктора медицинских наук Старшиновой А.А. и доктора медицинских наук Пантелеева А.М., представляет собой научно-квалификационную работу, в которой решена актуальная, имеющая важное значение для фтизиатрии проблема ранней диагностики туберкулеза с помощью иммунологических методов.

Актуальность выбранной темы, научная новизна и практическая значимость полученных результатов свидетельствуют о том, что

диссертационная работа Маниной В.В. полностью соответствует требованиям п.9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 30.01.02 г. № 74 (в редакции постановления Правительства Российской Федерации от 24.09.2013г. № 842), предъявляемым к диссертациям, представленным на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, а автор заслуживает присвоения ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям 14.01.16 «фтизиатрия», 14.01.09 «инфекционные болезни».

Официальный оппонент:

**ведущий научный сотрудник специализированного
научно-исследовательского отдела эпидемиологии
и профилактики СПИД ФБУН «Центральный
научно-исследовательский
институт эпидемиологии»
Роспотребнадзора
доктор медицинских наук, профессор
(шифр специальности 14.01.09)**

Кравченко А.В.

Подпись доктора медицинских наук Кравченко А.В. заверяю:

**Ученый секретарь
ФБУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора,
Кандидат медицинских наук**

Никитина Т.С.

111123, Москва, ул. Новогиреевская, д.3а; тел. 8 (495)366-05-18
e-mail: Alexey-kravtchenko@yandex.ru; сайт: www.crie.ru



«13» _ноября___ 2017 год

