

## ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ СПЕЦИФИЧЕСКИХ ИММУННЫХ КОМПЛЕКСОВ В ОПРЕДЕЛЕНИИ АКТИВНОСТИ ТУБЕРКУЛЕЗНОЙ ИНФЕКЦИИ

Старшинова А.А.<sup>1,3</sup>, Истомина Е.В.<sup>1</sup>, Зинченко Ю.С.<sup>1,3</sup>,  
Филатов М.В.<sup>1,2</sup>, Ланда С.Б.<sup>2</sup>, Бурдаков В.С.<sup>1,2,3</sup>, Беляева Е.Н.<sup>1</sup>,  
Назаренко М.М.<sup>1</sup>, Сапожникова Н.В.<sup>1</sup>, Яблонский П.К.<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup> ФГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии» Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия

<sup>2</sup> ФГБУ «Петербургский институт ядерной физики имени Б.П. Константинова» Национального исследовательского центра «Курчатовский институт», г. Гатчина, Ленинградская обл., Россия

<sup>3</sup> ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург, Россия

**Резюме.** Диагностика туберкулезной инфекции, в том числе с применением иммунологических методов, претерпела значительные изменения. Внедрение новых диагностических тестов позволило улучшить диагностику латентной туберкулезной инфекции (ЛТИ). Однако положительные результаты иммунологических тестов как у больных туберкулезом, так и у лиц с ЛТИ не позволяют прежде всего иммунологически разделить эти состояния, что требует разработки и внедрения новых диагностических подходов.

Было проведено проспективное исследование с обследованием двух групп пациентов: I группа (n = 50) – больные с верифицированным туберкулезом легких, МБТ (+); II группа (n = 15) – лица с ЛТИ и группа контроля – здоровые лица (n = 14). Комплекс обследования включал клинические, лучевые, бактериологические, иммунологические (пробу Манту с 2 ТЕ, тест T-SPOT, QFT и пробу с Диаскинтестом) методы. У всех пациентов и здоровых лиц с помощью метода динамического светорассеяния после добавления *in vitro* антигенов специфических пептидов ESAT-6 и SFP-10 были определены иммунные комплексы.

Полученные данные наглядно демонстрируют низкую информативность клинического метода в диагностике туберкулеза легких. При наличии характерных рентгенологических изменений бактериологическая верификация диагноза туберкулеза была получена только в 46% случаев. Применение различных иммунологических тестов позволяет получить положительные результаты тестов в 84-90% случаев одновременно с получением в 100% случаев положительных тестов у лиц с ЛТИ. Определение специфических иммунных комплексов методом динамического светорассеяния позволяет в 100% случаев определять активность туберкулезной инфекции и выявлять группу высокого риска по развитию активного туберкулеза у лиц с латентной туберкулезной инфекцией.

### Адрес для переписки:

Зинченко Юлия Сергеевна  
ФГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии» Министерства здравоохранения РФ  
191036, Россия, Санкт-Петербург, пр. Лиговский, 2-4.  
Тел.: 8 (921) 373-45-18.  
Факс: 8 (812) 579-25-73.  
E-mail: Ulia-Zinchenko@yandex.ru

### Address for correspondence:

Zinchenko Yulia S.  
St. Petersburg State Research Institute of Phthisiopulmonology  
191036, Russian Federation, St. Petersburg,  
Ligovsky ave., 2-4.  
Phone: 7 (921) 373-45-18.  
Fax: 7 (812) 579-25-73.  
E-mail: Ulia-Zinchenko@yandex.ru

### Образец цитирования:

А.А. Старшинова, Е.В. Истомина, Ю.С. Зинченко, М.В. Филатов, С.Б. Ланда, В.С. Бурдаков, Е.Н. Беляева, М.М. Назаренко, Н.В. Сапожникова, П.К. Яблонский «Диагностическое значение специфических иммунных комплексов в определении активности туберкулезной инфекции» // Медицинская иммунология, 2019. Т. 21, № 2. С. 269-278.  
doi: 10.15789/1563-0625-2019-2-269-278

### For citation:

A.A. Starshinova, E.V. Istomina, Yu.S. Zinchenko, M.V. Filatov, S.B. Landa, V.S. Burdakov, E.N. Belyaeva, M.M. Nazarenko, N.V. Sapozhnikova, P.K. Yablonkiy "Diagnostic value of specific immune complexes in detection of active tuberculosis infection", *Medical Immunology (Russia)/ Meditsinskaya Immunologiya*, 2019, Vol. 21, no. 2, pp. 269-278. doi: 10.15789/1563-0625-2019-2-269-278

Выводы: полученные в исследовании данные могут быть применены не только в диагностике активного туберкулеза при отсутствии верификации диагноза, но также позволяют выделить группу высоко риска по развитию заболевания у лиц с латентной туберкулезной инфекцией.

Ключевые слова: туберкулез, тест с аллергеном туберкулезным рекомбинантным, иммунологические тесты, латентная туберкулезная инфекция, метод динамического светорассеяния

## DIAGNOSTIC VALUE OF SPECIFIC IMMUNE COMPLEXES IN DETECTION OF ACTIVE TUBERCULOSIS INFECTION

Starshinova A.A.<sup>a,c</sup>, Istomina E.V.<sup>a</sup>, Zinchenko Yu.S.<sup>a,c</sup>, Filatov M.V.<sup>a,b</sup>, Landa S.B.<sup>b</sup>, Burdakov V.S.<sup>a,b,c</sup>, Belyaeva E.N.<sup>a</sup>, Nazarenko M.M.<sup>a</sup>, Sapozhnikova N.V.<sup>a</sup>, Yablonkiy P.K.<sup>a,c</sup>

<sup>a</sup> St. Petersburg State Research Institute of Phthisiopulmonology, St. Petersburg, Russian Federation

<sup>b</sup> St. Petersburg B. Konstantinov Institute of Nuclear Physics, National Research Center "Kurchatov Institute", Gatchina, Leningrad Region, Russian Federation

<sup>c</sup> St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russian Federation

**Abstract.** The diagnostics of tuberculosis infection, including immunological methods, evolved significant changes over time. Introduction of new diagnostic tests allowed to improve the diagnosis of latent tuberculosis infection (LTI). However, positive results of immunological tests in both tuberculosis patients and in those with LTI do not allow to differentiate between these conditions, thus requiring development and implementation of new diagnostic approaches.

A prospective study enrolling two groups of patients was conducted as follows: group I (n = 50) included patients with verified pulmonary tuberculosis, MBT (+), whereas group II (n = 15) consisted of subjects with LTI, and control group was represented by healthy subjects (n = 14). The entire examination protocol included clinical, radiological, bacteriological, and immunological methods (Mantoux test with 2 TU, T-SPOT.TB, QFT and Diaskin test). Immune complexes were determined in all patients and healthy individuals by means of dynamic light scattering after the in vitro addition of specific antigens (ESAT-6 and SFP-10 peptides).

The data obtained have shown low informativity of clinical methods in diagnostics of pulmonary tuberculosis. In the presence of characteristic X-radiographic changes, bacteriological verification of tuberculosis was proven only in 46% of cases. Usage of various immunological tests allowed to obtain positive results in 84-90% of cases, along with 100% positivity in subjects with LTI. Detection of specific immune complexes by the method of dynamic light scattering allows to determine the activity of tuberculosis infection in 100 % of cases, and to identify the high-risk group for development of active tuberculosis among the subjects with latent tuberculosis infection.

Conclusions: the obtained data may be applied both for diagnosis of active tuberculosis in the absence of verified diagnosis, but also enable identification of a high-risk group for development of the disease in subjects with latent tuberculosis infection.

Keywords: tuberculosis, test with allergen tuberculosis recombinant, immunological tests, latent tuberculosis infection, dynamic light scattering method

Работа поддержана грантом Правительства РФ (договор № 14.W03.31.0009 от 13.02. 2017 г. «О выделении гранта для государственной поддержки научных исследований, проводимых под руководством ведущих ученых»).

### Введение

Туберкулез известен с глубокой древности. Однако, несмотря на повсеместно проводимую работу по борьбе с туберкулезом и совершенствование методов его диагностики и лечения, эпидемическая ситуация по туберкулезу остается весьма напряженной [3, 8, 19].

Согласно оценкам Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), в 2015 г. туберкулезом заболело 10,4 млн человек, в т.ч. 5,9 млн (56,0%) мужчин, 3,5 млн (34,0%) женщин и 1,0 млн (10,0%) детей. Более половины новых случаев (60,0%) заболевания приходится на шесть стран: Индию, Индонезию, Китай, Нигерию, Пакистан и Южную Африку [21]. С 2014 по 2015 г. темпы снижения заболеваемости ТБ составили во всем мире лишь 1,5%. В 2015 г. от туберкулеза умерло около 1,4 млн человек. Отмечено, что в период с 2000 по 2015 г. численность умерших от ТБ сократилась на 22,0%, однако и до настоящего

времени во всем мире туберкулезная инфекция остается одной из 10 ведущих причин смерти людей [18].

Осуществлять контроль за распространением туберкулезной инфекции без раннего выявления заболевания не представляется возможным [11, 14].

Латентная, или скрытая, туберкулезная инфекция является закономерным этапом развития инфекционного процесса в организме, который сопровождается персистенцией *M. tuberculosis* в организме и характеризуется длительным бессимптомным пребыванием возбудителя с сохранением его патогенетических свойств, способности к размножению и реверсии, о чем писали Dienes L. и Parish N.M. еще в середине и конце XX века.

В последние годы к диагностике латентной туберкулезной инфекции (ЛТИ) приковано особое внимание, в том числе благодаря внедрению различных иммунологических методов определения активности туберкулезной инфекции [1, 7, 17].

Революцией в разработке новых методов иммунологической диагностики стала расшифровка генома микобактерий туберкулеза, в котором закодировано более 4000 белков. Была выделена группа белков, экспрессирующихся при размножении микобактерий, кодируемых в зоне RDI (region of difference), названных ESAT-6 и CFP-10, что позволило разработать новые высокоинформативные иммунологические тесты *in vitro* (IGRA–тесты: QuantiFERON (QFT)-TB, T-SPOT.TB тест, IP-10) и *in vivo* (с туберкулином, с аллергеном туберкулезным рекомбинантным (проба с Диаскинтестом®)) [4, 10].

По мнению ряда авторов, лабораторные тесты QuantiFERON-TB Gold/ QuantiFERON-TB Gold In-Tube и ELISPOT/T-SPOT.TB должны дополнять туберкулинодиагностику, в первую очередь для идентификации ложноотрицательных результатов выявления латентной туберкулезной инфекции, активного туберкулеза и новых случаев туберкулеза у больных при проведении терапии ингибиторами TNF $\alpha$ , особенно в странах с умеренной и высокой распространенностью туберкулеза, а также могут служить полезными инструментами для скрининга и мониторинга латентной туберкулезной инфекции в комбинации с внутрикожной туберкулиновой пробой Манту с 2 ТЕ [4, 13, 16].

В России на основе белков, кодируемых в зоне RDI, в 2006 г. был разработан новый диагностический препарат Диаскинтест®, который представляет собой рекомбинантный белок CFP-10-ESAT-6, продуцируемый *Escherichia coli*. Основным механизмом действия теста также является формирование реакции гиперчувстви-

тельности замедленного типа. При этом белок CFP-10-ESAT-6 не обладает сенсибилизирующей активностью и не токсичен. Высокая диагностическая ценность пробы с Диаскинтестом (ДСТ) подтверждается во многих российских исследованиях [1, 7, 9].

Однако применение данных иммунологических методов не позволило проводить дифференциальную диагностику между латентной туберкулезной инфекцией и активным туберкулезом, так как тесты показывают положительный результат в обоих случаях [2, 12, 20].

Поиск новых диагностических критериев для определения активности туберкулезной инфекции является приоритетной задачей при определении группы высокого риска развития туберкулеза.

**Цель исследования** – повышение ранней диагностики туберкулеза с помощью определения новых иммунологических критериев активности туберкулезной инфекции.

## Материалы и методы

Проспективное исследование было проведено за период с декабря 2016 года по июль 2017 года с включением 135 больных туберкулезом легких (I группа), которые проходили лечение на базе ФГБУ «Санкт-Петербургский НИИ фтизиопульмонологии» Минздрава РФ, 28 лиц с латентной туберкулезной инфекцией (ЛТИ) (II группа) и 24 человек (здоровых лиц) – группа контроля (III группа). Исследование было одобрено независимым этическим комитетом ФГБУ «СПб НИИФ» Минздрава России (выписка из протокола № 34.2 от 19.01.2017) и ФГБОУ ВО СПбГУ (выписка из протокола № 02-126 от 30.07.2017), все участники исследования подписали информированное согласие.

Диагноз «туберкулез легких» устанавливался при наличии клинических проявлений, характерных рентгенологических изменений; положительных результатов обследования на туберкулез (выявление в анализах мокроты *M. tuberculosis* (МВТ) и/или МТВ ДНК по данным молекулярно-генетических и бактериологических методов), гистологической верификации изменений в легких (выявление эпителиоидно-клеточных гранулем с участками казеозного некроза и кислотоустойчивых бактерий).

Критериями включения являлись: возраст от 18 до 65 лет; у больных туберкулезом – наличие бактериовыделения по данным лабораторного обследования; у лиц с ЛТИ – наличие положительного результата иммунологического теста при отсутствии клинических и рентгенологических данных об активном туберкулезе.

Критериями исключения являлись: анамнестические данные о применении иммуносупрессивной терапии, лечение противотуберкулезными препаратами более одного месяца, наличие ВИЧ-инфекции, сифилиса, опухолевых заболеваний, сахарного диабета, а также выявление других гранулематозных заболеваний легких.

Критериями включения для группы здоровых лиц являлись: отсутствие острых и хронических заболеваний, отсутствие риска развития туберкулеза и отрицательные результаты иммунологических тестов.

#### Методы исследования

Все пациенты прошли комплекс обследования, включавший клиническую оценку заболевания, мультиспиральную компьютерную томографию (МСКТ) органов грудной клетки, лабораторные исследования крови, стандартный комплекс обследования на туберкулез.

После комплексного обследования проводился забор крови для проведения QuantiFERON TB Gold (QFT) и ELISPOT, далее – постановка пробы Манту с 2ТЕ (ПМ/ТСТ) и пробы с аллергеном туберкулезным рекомбинантным (АТР/Диаскинтест /DST). За 5-летний период наблюдения тесты на высвобождение интерферона- $\gamma$  (IGRA-тесты) из-за ограниченных возможностей были выполнены только у части обследованных. Оценка результатов иммунологических проб осуществлялась с учетом полученной выборки по каждому тесту.

Постановка пробы с аллергеном туберкулезным рекомбинантным (DST) аналогична пробе с туберкулином. Инъекция проводится внутривенно, считывание результата осуществляется через 72 часа путем измерения диаметра папулы в месте инъекции.

Согласно инструкции при наличии папулы любого размера результаты DST интерпретировались как положительные. Наличие гиперемии при отсутствии папулы расценивалось как сомнительная проба. В настоящем исследовании для объективной оценки наличия папулы определен cut off  $\geq 5$  мм.

TST (tuberculin skin test) в рамках российского законодательства осуществлялся с применением туберкулина ППД-Л с 2 туберкулиновыми единицами (Россия, АО «Фармстандарт»). Результаты TST оценивались следующим образом: положительный – папула 5 и более мм, сомнительный – папула до 4 мм включительно или гиперемия любого размера. Отсутствие папулы и гиперемии при обоих тестах являлось отрицательным результатом.

Тест T-SPOT®.TB был выполнен в соответствии с инструкцией изготовителя (Оксфорд Иммунотек, Великобритания). Очищенные лим-

фоциты периферической крови инкубировали с антигенами теста с использованием культуральной среды GIBCO AIM-V™ (Invitrogen, Пейсли, Великобритания). Количество пятен в каждой лунке (представляющих клетки, секретирующие IFN $\gamma$ ) оценивалось визуально при помощи увеличительного стекла двумя независимыми наблюдателями, которые не знали результатов QFT. Результаты были интерпретированы в соответствии с критериями, определенными изготовителем для использования теста за пределами США. Положительный результат был определен как  $\geq 6$  пятен либо в лунке ESAT-6, либо в лунке CFP-10 после вычитания количества пятен, обнаруженных в отрицательной контрольной лунке, где отрицательный контроль имеет 0-5 пятен. Если отрицательная контрольная часть имела  $\geq 6$  пятен, панель ESAT-6 или CFP-10 для положительного результата должна была содержать по крайней мере вдвое больше пятен, обнаруженных на отрицательной панели. Результат был неопределенным, если в отрицательной контрольной лунке было более 10 пятен или менее 20 в контроле митогена (с  $< 6$  в лунках ESAT-6 и CFP-10).

Тест QuantiFERON-TB Gold (QFT) также был выполнен в соответствии с инструкцией изготовителя (Селлестис Лимитед, Австралия). Венозную кровь собирали у каждого пациента из трех специальных эвакуированных и гепаринизированных пробирок крови, откалиброванных для натягивания 1 мл крови. Набор включал трубку, покрытую TB-Antigen, трубку NIL (отрицательный контроль) и митогенную (фитогемагглютининовую) трубку в качестве положительного контроля. Как рекомендовано, значение отсечки для положительного теста было IFN $\gamma > 0,35$  МЕ/мл, для TB-Antigen – минус NIL. Отрицательный результат был зарегистрирован, если этот ответ составлял  $< 0,35$  МЕ/мл, а контроль митогена – минус NIL  $\geq 0,5$  МЕ/мл. Если уровень IFN $\gamma$  как для TB-Antigen-NIL, так и для mitogen-NIL был меньше, чем их соответствующие отсечки, результат интерпретировался как неопределенный. Максимальный уровень IFN $\gamma$ , точно определяемый с помощью ИФА с QFT, составляет 10 МЕ/мл, и, таким образом, превышающие значения сообщаются как 10 МЕ/мл.

Результаты IGRA-тестов пограничной линии были классифицированы как отрицательные из-за неопределенной вероятности заражения ТБ.

Плазма всех включенных пациентов была исследована в ФГБУ «Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова» с определением образующихся *in vitro* иммунных комплексов (ИК) методом динамического светорассеяния (ДСР) по предложенной методике (заявка

на патент № 2015149694; дата публикации 24 мая 2017 г., Филатов М.В., Ланда С.Б.). Измерения проводились на лазерном корреляционном спектрометре (сертификат RU. С. 39.003. А № 5381) ЛКС-03 (ИНТОКС-МЕД, Россия) [5, 6].

Метод ДСР позволяет определить входящие в состав ИК компоненты без выделения комплексов из плазмы и определить крупные частицы, которыми являются ИК. Кроме того, метод позволяет работать с нативными образцами в физиологических условиях и имеет узкий круг необходимых преаналитических процедур: разбавление, центрифугирование, фильтрование [15].

Полученная от пациентов плазма крови разбавляется в 4 раза фосфатным буфером, содержащим 10 мМ концентрацию этилендиамин-тетрауксусной кислоты, подвергается центрифугированию в течение 15 минут при 15 тысячах оборотов в минуту и фильтрации через фильтр с размерами пор 100 нм для удаления всех частиц и белковых агрегатов, превышающих данный размер. Измерение ДСР полученного препарата должно показывать отсутствие каких-либо образований, превышающих по размеру 100 нм.

В полученные образцы плазмы объемом 400 мкл добавляют 10 мкл приготовленного антигена. В качестве специфического туберкулезного антигена применялись ESAT-6/SFP-10 (Генерим, Россия).

Для статистического анализа данных были использованы методы, доступные в программе Stata 14. При обработке результатов также методы описательной статистики, характеризующей субъекты, включенные в исследование. Для количественных параметров оценивались арифметическое среднее (Mean); стандартное отклонение (SD); 95% доверительный интервал (ДИ) для среднего. Для качественных переменных анализировалось абсолютное количество в формате n/N, а также доля (%). Для сравнения чувствительности различных тестов в каждой из групп был использован Q-критерий Кохрена. Для всех тестов было проведено попарное сравнение с результатами кожной пробы с Диаскинтестом при

величине cut-off  $\geq 5$  мм. Для целей проведения анализа отрицательные, сомнительные и неинтерпретируемые результаты были объединены в одну группу. Для каждой пары тестов был рассчитан коэффициент согласованности каппа, который учитывает возможность случайного совпадения результатов. Сравнение частоты наличия признака между подгруппами пациентов проводилось с помощью точного теста Фишера. Различия в сравниваемых группах считали достоверными при уровне статистических различий  $p < 0,05$ .

Также оценивались показатели диагностической значимости методов: диагностическая чувствительность (ДЧ); диагностическая специфичность (ДС); диагностическая эффективность (ДЭ). Расчет показателя отношения шансов (odds ratio, OR) производился по формуле:  $(a/c)/(b/d) = (a \cdot d)/(b \cdot c)$  (a – истинно положительный и b – ложноположительный результат; c – ложноотрицательный и d – истинно отрицательный результат). Значимой считалась величина относительного риска более 1,0.

## Результаты

Положительные результаты обследования по данным клинических, рентгенологических и бактериологических методов у больных туберкулезом (I группа) представлены в таблице 1.

Представленные в таблице 1 данные демонстрируют возможность получения положительного результата по данным методов, на основании которых осуществлялась диагностика туберкулеза. У всех больных определялось только наличие рентгенологических изменений, при этом клиническая симптоматика могла определяться в 70% случаев, а бактериологическое подтверждение диагноза было получено только в 45,2% случаев.

Применение иммунологических методов может улучшить диагностику туберкулеза в условиях отсутствия бактериовыделения. С целью анализа результатов тестов группа больных туберкулезом легких была разделена на две подгруппы Ia и Ib,

**ТАБЛИЦА 1. РЕЗУЛЬТАТЫ КОМПЛЕКСНОГО ОБСЛЕДОВАНИЯ С ПРИМЕНЕНИЕМ РАЗЛИЧНЫХ МЕТОДОВ У БОЛЬНЫХ ТУБЕРКУЛЕЗОМ**

TABLE 1. RESULTS OF EXAMINATION PATIENTS WITH TUBERCULOSIS WITH USING OF VARIOUS METHODS

Группа наблюдения Groups	Клиническая симптоматика Clinical symptoms (%/n)	Бактериологическое исследование мокроты Bacteriologic methods (%/n)	Рентгенологические изменения X-ray (%/n)
Больные туберкулезом TB patients n = 135	69,6 (94)	45,2 (61)	100 (135)
95% ДИ	62,4-72,6	36,6-51,6	100,0

с бактериовыделением и без бактериовыделения соответственно. Положительные результаты иммунологических тестов в подгруппах представлены в таблице 2.

Как представлено в таблице 2, получение положительных результатов с применением иммунологических тестов у больных туберкулезом варьируется от 84,9 до 90,6% в Ia и от 69,4

**ТАБЛИЦА 2. РЕЗУЛЬТАТЫ РАЗЛИЧНЫХ ДИАГНОСТИЧЕСКИХ ТЕСТОВ У БОЛЬНЫХ ТУБЕРКУЛЕЗОМ**

TABLE 2. RESULTS OF DIFFERENT DIAGNOSTIC TESTS IN TB PATIENTS

Группа Group	Результат теста Results of tests	T-SPOT	QTF	DST	Проба Манту Mantoux test	p (Q-крит.) (Q test)
ТБ/МТБ (+) TB MBT (+) Ia	Положительный Positive	48/53 (90,6%)	40/46 (87,0%)	47/53 (88,7%)	45/53 (84,9%)	0,903
	95% ДИ 95% CI	82,5-98,6	77,0-96,9	80,0-97,4	75,1-94,7	
ТБ/МТБ (-) TB MBT (-) Ib	Положительный Positive	50/64 (78,1%)	25/36 (69,4%)	59/74 (79,7%)	46/55 (83,6%)	
	95% ДИ 95% CI	62,5-88,1	62,0-78,4	68,0-82,6	81,4-92,4	

**ТАБЛИЦА 3. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ИММУННЫХ КОМПЛЕКСОВ В КРОВИ ПОСЛЕ ДОБАВЛЕНИЯ АНТИГЕННОГО МАТЕРИАЛА ESAT-6/SFP-10 В ГРУППАХ, M±SD/n (%)**

TABLE 3. DETECTION OF IMMUNE COMPLEXES AFTER STIMULATION ESAT-6/CFP-10 ANTIGENS IN BLOOD IN GROUPS, M±SD/n (%)

Показатели Indicators	Норма Norm	Ia подгруппа (туберкулез легких, МБТ (+)) Ia subgroup (pulmonary tuberculosis, MBT (+)) (n = 50)	II группа (ЛТИ) II group (LTI) (n = 15)	III группа здоровые лица (группа контроля) III group healthy subjects (control group) (n = 14)
Суммарные иммунные комплексы Immune complexes	Менее 1,0 Less	7,25±2,8 50 (100,0)	2,28±1,5* 14 (93,3)	2,92±0,8** 13 (92,9)
IgG1	Менее 1,0 Less	4,25±2,0 50 (100,0)	2,38±2,0* 13 (86,7)	2,99±0,3** 12 (85,7)
IgG3	Менее 1,0 Less	3,2±1,2 48 (96,0)	0,32±1,2* 3 (20,0)*	0,3±0,3** 1 (7,4)**
IgE	Менее 1,0 Less	3,48±1,9 46 (92,0)	0,2±1,9* 1 (6,7)*	0,27±0,1** 2 (14,3)**
IgG1 + IgG3	Менее 1,0 Less	4,08±2,1 47 (94,0)	0,16±1,1* 1 (6,7)*	0 0
IgG1 + IgE	Менее 1,0 Less	7,72±4,0 13 (26,0)	0,42±2,0* 1(6,7)	0,73±2,0** 2(14,3)**
IgG3 + IgE	Менее 1,0 Less	7,15±3,6 30 (57,0)	0 0	0 0

Примечание. \* – отличия значимы (p < 0,001 для всех показателей) по сравнению с группой II; \*\* – отличия значимы (p < 0,001 для всех показателей) по сравнению с контрольной группой.

Note. \*, differences are significant (p < 0.001 for all indicators) in comparison with group II. \*\*, differences are significant (p < 0.001 for all indicators) in comparison with control group.

до 83,6% в Ib подгруппе в зависимости от применения тестов.

Таким образом, проведенный комплекс обследования наглядно демонстрирует отсутствие возможности верификации диагноза туберкулеза легких в половине случаев, при этом при наличии соответствующих рентгенологических изменений клиническая симптоматика регистрируется в 60% случаев.

Регистрация латентной туберкулезной инфекции возможна только при наличии положительного иммунологического теста. В данном исследовании учитывались только результаты новых иммунологических тестов (T-SPOT, QFT и DST) при отсутствии клинических и рентгенологических проявлений активного туберкулеза. Очевидно, что у лиц с ЛТИ в 100% случаев имеет место положительный иммунологический тест, тогда как положительный тест у больных туберкулезом был в 69,4 и 90,6% случаев в зависимости от диагностических возможностей применяемого теста. Полученные данные демонстрируют отсутствие возможности подтвердить туберкулез на основании бактериологических методов и различить ЛТИ и активный туберкулез при отсутствии различий по результатам существующих иммунологических методов, что требует разработки новых критериев определения активности туберкулезной инфекции на основании именно иммунологических методов, которые позволяют без выявления возбудителя констатировать им-

мунный ответ на наличие микобактерий туберкулеза в организме человека.

Далее был проведен анализ уровня иммуноглобулинов, которые определялись в трех группах наблюдения с помощью метода динамического светорассеяния. При этом определение иммуноглобулинов осуществлялось у больных туберкулезом с верифицированным диагнозом (Ia подгруппа).

Результаты определения уровня специфических ИК в плазме крови в группах сравнения (Ia и II), а также в группе контроля (III) представлены в таблице 3.

Согласно представленным в таблице 3 данным, суммарные ИК определялись во всех группах в одинаковом проценте случаев, но во II и III группах они регистрировались на достоверно низком уровне, так же как IgG1. Следует отметить, что во II и III группах в единичных случаях определялись IgG3 и IgE, так же как изотипы IgG1 + IgG3, IgG1 + IgE и IgG3 + IgE.

На основании полученных данных был проведен расчет показателей диагностической значимости метода, которые представлены в таблице 4.

Как представлено в таблице 4, определение общих ИК, стимулированных специфическим антигеном, не имеет высокой диагностической значимости при определении туберкулезной инфекции, но изотипы иммуноглобулинов демонстрируют высокую специфичность и чувствительность.

**ТАБЛИЦА 4. ПОКАЗАТЕЛИ ДИАГНОСТИЧЕСКОЙ ЗНАЧИМОСТИ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СПЕЦИФИЧЕСКИХ ИММУННЫХ КОМПЛЕКСОВ**

TABLE 4. INDICATORS OF THE DIAGNOSTIC OF DEFINITION SPECIFIC IMMUNE COMPLEXES

Показатели Indicators	Диагностическая чувствительность Diagnostic sensitivity	Диагностическая специфичность Diagnostic specificity	Диагностическая значимость Diagnostic value
	(%)		
Суммарные иммунные комплексы Immune complexes	79,3	7,7	43,5
IgG1	80,6	1,6	41,2
IgG3	97,9	100,0	98,9
IgE	95,8	100,0	97,9
IgG1 + IgG3	100,0	100,0	100,0
IgG1 + IgE	86,7	100,0	93,4
IgG3 + IgE	100,0	100,0	100,0

Определение низкого уровня иммунных комплексов в условиях высокого уровня распространения туберкулезной инфекции является допустимым и может свидетельствовать о наличии слабых проявлений латентной туберкулезной инфекции, а также подтверждает высокую чувствительность метода. Однако не является понятным отсутствие высокого уровня ИК у лиц с латентной туберкулезной инфекцией. При этом полученные результаты позволяют выявлять группу высокого риска по развитию активного туберкулеза среди лиц с латентной туберкулезной инфекцией.

## Обсуждение

Известно, что, несмотря на значительную долю инфицированных микобактерией туберкулеза (МБТ) людей, составляющую примерно одну треть населения земного шара, только в 5-10% случаев происходит развитие туберкулеза в той или иной клинической форме. У остальных инфекция носит латентный, бессимптомный характер. В результате взаимодействия звеньев врожденного и адаптивного иммунитета в большинстве случаев происходит либо полное освобождение от инфекции, либо подавление ее активности и перевод в латентную форму. В отдельных случаях возможны нарушения в этой цепи взаимодействий, что приводит к развитию инфекции не только в легких, но и распростра-

нение МБТ с кровью в различные ткани организма. Уже доказано, что лица, которые имеют положительные иммунологические тесты, определяющие латентную туберкулезную инфекцию, являются группой высокого риска по развитию активной туберкулезной инфекции. Однако результаты проведенных до настоящего времени исследований не продемонстрировали достоверно значимых иммунологических различий между этими состояниями [13].

Определение специфических иммунных комплексов позволило наиболее точно из всех существующих сегодня иммунологических методов в 100% случаев определить активность туберкулезной инфекции у больных туберкулезом, а также выявить достоверную разницу между активной и латентной туберкулезной инфекцией. В исследовании удалось получить данные, которые позволяют выявить группу особого риска в развитии активного туберкулеза среди лиц с положительными иммунологическими тестами. Низкий уровень изоформ специфических иммуноглобулинов у лиц с ЛТИ позволяет говорить о благоприятном прогнозе в отношении развития активного туберкулеза, и, наоборот, нарастание в динамике уровня изоформ IgG3 и IgE может свидетельствовать о неблагоприятной тенденции в отношении развития туберкулезной инфекции. В настоящее время такой прогноз невозможно осуществить с применением используемых в клинической практике иммунологических тестов.

## Список литературы / References

1. Белокуров М.А., Старшинова А.А., Журавлев В.Ю., Кирюхина Л.Д., Павлова М.В., Арчакова Л.И., Козак А.Р., Цинзерлинг В.А., Яблонский П.К. Возможности иммунологических методов в дифференциальной диагностике саркоидоза и туберкулеза органов дыхания // Журнал инфектологии, 2015. Т. 7, № 2. С. 98-104. [Belokurov M.A., Starshinova A.A., Zhuravlev V.Yu., Kiryukhina L.D., Pavlova M.V., Archakova L.I. Possibilities of immunological methods in differential diagnostics of sarcoidosis and tuberculosis of respiratory organs. *Zhurnal infektologii = Journal of Infectology*, 2015, Vol. 7, no. 2, pp. 98-104. (In Russ.)]
2. Васильева Е.А., Вербов Н.В., Тотолян А.А. Иммунологические методы в дифференциальной диагностике активного туберкулеза легких и латентной туберкулезной инфекции // Медицинский альянс, 2015. № 1. С. 92-93. [Vasilyeva E.A., Verbov N.V., Totolyan A.A. Immunological methods in differential diagnosis of active pulmonary tuberculosis and latent tuberculosis infection. *Meditsinskiy alyans = Medical Alliance*, 2015, no. 1, pp. 92-93. (In Russ.)]
3. Васильева И.А., Белиловский Е.М., Борисов С.Е., Стерликов С.А. Глобальные отчеты Всемирной организации здравоохранения по туберкулезу: формирование и интерпретация // Туберкулез и болезни легких, 2017. Т. 95, № 5. С. 7-16. [Vasilyeva I.A., Belilovsky E.M., Borisov S.E., Sterlikov S.A. Global reports of the World Health Organization on tuberculosis: formation and interpretation. *Tuberkulez i bolezni legkikh = Tuberculosis and Lung Diseases*, 2017, Vol. 95, no. 5, pp. 7-16. (In Russ.)]
4. Кисличкин Н.Н., Ленхерр-Ильина Т.В., Красильников И.В. Диагностика туберкулеза. Туберкулин и группа препаратов на основе белков ESAT-6/CFP-10 // Инфекционные болезни, 2016. Т. 14, № 1. С. 48-54. [Kislichkin N.N., Lenherr-Ilyina T.V., Krasilnikov I.V. Diagnosis of tuberculosis. Tuberculin and a group of drugs based on proteins ESAT-6/CFP-10. *Infektsionnye bolezni = Infectious Diseases*, 2016, Vol. 14, no. 1, pp. 48-54. (In Russ.)]
5. Кораблев П.В., Ланда С.Б., Семенова Е.В., Филатов М.В. Динамическое светорассеяние – простой и чувствительный метод, позволяющий определять появление иммунных комплексов в биологических жидкостях // Биопрепараты, 2015. № 54. С. 53-58. [Korablev P.V., Landa S.B., Semenova E.V., Filatov M.V. Dynamic light scattering – a simple and sensitive method to determine the occurrence of immune complexes in biological fluids. *Biopreparaty = Biopreparation*, 2015, no. 54, pp. 53-58. (In Russ.)].



6. Ланда С.Б., Филатов М.В., Арутюнян А.В., Варфоломеева Е.В. Исследование образования мегамолекулярных комплексов в плазме крови методом лазерной корреляционной спектроскопии // Клиническая лабораторная диагностика, 2008. № 4. С. 37-41. [Landa S.B., Filatov M.V., Arutiunian A.V., Varfolomeeva E.V. Study of plasma megamolecular complexation by laser correlation spectroscopy. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika = Russian Clinical Laboratory Diagnostics*, 2008, no. 4, pp. 37-41. (In Russ.)]
7. Моисеева Н.Н., Одинец В.С. Анализ результатов применения аллергена туберкулезного рекомбинантного «Диаскинтест» для массовой диагностики // Медицинский альянс, 2015. № 1. С. 132-133. [Moiseeva N.N., Odinets V.S. Analysis of the results of the application of the allergen of the tuberculous recombinant "Diaskintest" for mass diagnostics. *Meditinskiy alyans = Medical Alliance*, 2015, no. 1, pp. 132-133. (In Russ.)]
8. Нечаева О.Б. Эпидемическая ситуация по туберкулезу в России // Заместитель главного врача, 2015. № 7. С. 17-23. [Nechaeva O.B. The epidemic situation of tuberculosis in Russia. *Zamestitel' glavnogo vracha = Chief Deputy*, 2015, no. 7, pp. 17-23. (In Russ.)]
9. Слогодская Л.В. Кожные иммунологические пробы при туберкулезе – история и современность // Туберкулез и болезни легких, 2013. № 5. С. 39-47. [Slogotskaya L.V. Skin immunological tests for tuberculosis – history and modernity. *Tuberkulez i bolezni legkikh = Tuberculosis and Lung Diseases*, 2013, no. 5, pp. 39-47. (In Russ.)]
10. Старшинова А.А., Пантелеев А.М., Васильева Е.В., Манина В.В., Павлова М.В., Сапожникова Н.В. Применение современных иммунологических методов в диагностике туберкулеза у пациентов с ВИЧ-инфекцией // Журнал инфектологии, 2015. Т. 7, № 3. С. 126-130. [Starshinova A.A., Panteleev A.M., Vasilyeva E.V., Manina V.V., Pavlova M.V., Sapozhnikova N.V. Application of modern immunological methods in the diagnosis of tuberculosis in patients with HIV infection. *Zhurnal infektologii = Journal of Infectology*, 2015, Vol. 7, no. 3, pp. 126-130. (In Russ.)]
11. Филимонов П.Н. К дискуссии о латентной туберкулезной инфекции // Туберкулез и болезни легких, 2014. № 5. С. 69-74. [Filimonov P.N. Towards a discussion about latent tuberculosis infection. *Tuberkulez i bolezni legkikh = Tuberculosis and Lung Diseases*, 2014, no. 5, pp. 69-74. (In Russ.)]
12. Ayubi E., Doosti-Irani A., Sanjari Moghaddam A., Khazaei S., Mansori K., Safiri S., Sani M., Mostafavi E. Comparison of QuantiFERON-TB Gold In-Tube, no. QFT-GIT and tuberculin skin test (TST) for diagnosis of latent tuberculosis in haemodialysis (HD) patients: a meta-analysis of κ estimates. *Epidemiol. Infect.*, 2017, Vol. 145, no. 9, pp. 1824-1833.
13. Doosti-Irani A., Ayubi E., Mostafavi Doosti-Irani E. Tuberculin and QuantiFERON-TB-Gold tests for latent tuberculosis: a meta-analysis. *Occup. Med. (Lond.)*, 2016, Vol. 66, no. 6, pp. 437-445.
14. Koufopoulou M., Sutton A.J., Breheny K., Diwakar L. Methods used in economic evaluations of tuberculin skin tests and interferon gamma release assays for the screening of latent tuberculosis infection: a systematic review. *Value Health*, 2016, Vol. 19, no. 2, pp. 267-276.
15. Lebedev A.D., Ivanova M.A., Lomakin A.V., Noskin V.A. Heterodyne quasi-elastic light-scattering instrument for biomedical diagnostics. *Appl. Opt.*, 1997, Vol. 36, no. 30, pp. 7518-7522.
16. Lee J.Y., Jung Y.W., Jeong I., Joh J.S., Sim S.Y., Choi B., Jee H.G., Lim D.G. Immune parameters differentiating active from latent tuberculosis infection in humans. *Tuberculosis (Edinb)*, 2015, Vol. 95, no. 6, pp. 758-763.
17. Mamishr S., Pourakbari B., Marjani M., Mahmoudi S. Diagnosis of latent tuberculosis infection among immunodeficient individuals: review of concordance between interferon-gamma release assays and the tuberculin skin test. *Br. J. Biomed. Sci.*, 2014, Vol. 71, no. 3, pp. 115-124.
18. Matteelli A., Centis R., d'Ambrosio L., Sotgiu G., Tadolini M., Pontali E., Spanevello A., Migliori G.B. World Health Organization strategies for the programmatic management of drug-resistant tuberculosis. *Expert. Rev. Respir. Med.*, 2016, Vol. 10, no. 9, pp. 991-1002.
19. Matteelli A., Sulis G., Capone S., d'Ambrosio L., Migliori G.B., Getahun H. Tuberculosis elimination and the challenge of latent tuberculosis. *Presse Med.*, 2017, Vol. 46, no. 2, Pt 2, pp. e13-e21.
20. Sen W., Wua J., Chena J., Gaoa Y., Shu Zh., Zhou Z., Huangb H., Shaoa L., Jina J., Zhanga Y., Ganga W. Evaluation of Mycobacterium tuberculosis-specific antibody responses for the discrimination of active and latent tuberculosis infection. *Int. J. Infect. Dis.*, 2018, Vol. 70, pp. 1-9.
21. World Health Organization. Global tuberculosis report, 2016, p. 10. [Электронный ресурс]: сайт. Режим доступа: <https://www.who.int/tb/publications/2016/en/>. [World Health Organization. Global tuberculosis report, 2016, p. 10. [Electronic resource]. Access mode: <https://www.who.int/tb/publications/2016/en/>.

**Авторы:**

Старшинова А.А. – д.м.н., ведущий научный сотрудник ФГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии» Министерства здравоохранения РФ; ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург, Россия

**Authors:**

Starshinova A.A., PhD, MD (Medicine), Leading Research Associate, St. Petersburg State Research Institute of Phthisiopulmonology; St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russian Federation

**Истомина Е.В.** — врач-фтизиатр, младший научный сотрудник ФГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии» Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия

**Зинченко Ю.С.** — врач-пульмонолог, младший научный сотрудник ФГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии» Министерства здравоохранения РФ; ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург, Россия

**Филатов М.В.** — к.б.н., старший научный сотрудник, заведующий лабораторией клеточной биологии ФГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии» Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург; ФГБУ «Петербургский институт ядерной физики имени Б.П. Константинова» Национального исследовательского центра «Курчатовский институт», г. Гатчина, Ленинградская обл., Россия

**Ланда С.Б.** — к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории медицинской биофизики ФГБУ «Петербургский институт ядерной физики имени Б.П. Константинова» Национального исследовательского центра «Курчатовский институт», г. Гатчина, Ленинградская обл., Россия

**Бурдаков В.С.** — старший лаборант лаборатории клеточной биологии, научный сотрудник ФГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии» Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург; ФГБУ «Петербургский институт ядерной физики имени Б.П. Константинова» Национального исследовательского центра «Курчатовский институт», г. Гатчина, Ленинградская обл.; ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург, Россия

**Беляева Е.Н.** — врач-фтизиатр, младший научный сотрудник ФГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии» Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия

**Назаренко М.М.** — врач-фтизиатр, младший научный сотрудник ФГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии» Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия

**Сапожникова Н.В.** — к.м.н., старший научный сотрудник ФГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии» Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия

**Яблонский П.К.** — д.м.н., профессор, директор ФГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии» Министерства здравоохранения РФ; декан медицинского факультета ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург, Россия

**Istomina E.V.**, Phthisiatrician, Junior Research Associate, St. Petersburg State Research Institute of Phthisiopulmonology, St. Petersburg, Russian Federation

**Zinchenko Yu.S.**, Pulmonologist, Junior Research Associate, St. Petersburg State Research Institute of Phthisiopulmonology; St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russian Federation

**Filatov M.V.**, PhD (Biology), Senior Research Associate, Head, Laboratory of Cell Biology, St. Petersburg State Research Institute of Phthisiopulmonology, St. Petersburg; St. Petersburg B. Konstantinov Institute of Nuclear Physics, National Research Center “Kurchatov Institute”, Gatchina, Leningrad Region, Russian Federation

**Landa S.B.**, PhD (Biology), Senior Research Associate, Laboratory of Medical Biophysics, St. Petersburg B. Konstantinov Institute of Nuclear Physics, National Research Center “Kurchatov Institute”, Gatchina, Leningrad Region, Russian Federation

**Burdakov V.S.**, Senior Laboratory Assistant, Laboratory of Cell Biology, Research Associate, St. Petersburg State Research Institute of Phthisiopulmonology, St. Petersburg; St. Petersburg B. Konstantinov Institute of Nuclear Physics, National Research Center “Kurchatov Institute”, Gatchina, Leningrad Region; St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russian Federation

**Belyaeva E.N.**, Phthisiatrician, Junior Research Associate, St. Petersburg State Research Institute of Phthisiopulmonology, St. Petersburg, Russian Federation

**Nazarenko M.M.**, Phthisiatrician, Junior Research Associate, St. Petersburg State Research Institute of Phthisiopulmonology, St. Petersburg, Russian Federation

**Sapozhnikova N.V.**, PhD (Medicine), Senior Research Associate, St. Petersburg State Research Institute of Phthisiopulmonology, St. Petersburg, Russian Federation

**Yablonkiy P.K.**, PhD, MD (Medicine), Professor, Director, St. Petersburg State Research Institute of Phthisiopulmonology; Dean, Faculty of Medicine, St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russian Federation

Поступила 21.06.2018

Отправлена на доработку 02.07.2018

Принята к печати 20.09.2018

Received 21.06.2018

Revision received 02.07.2018

Accepted 20.09.2018