

Иммунодиагностические тесты в оценке специфической сенсibilизация организма *M. Tuberculosis* у детей в современных эпидемиологических условиях

Поддубная Л.В., Шилова Е.П., Щеглова А.И., Вараскин Н.А., Колонда А.Г.

ФГБОУ ВО НГМУ, ГБУЗ НСО ГОНКТБ, АО «Вектор-Бест» НСО

Имеются сведения об участии Т-клеток CD8<sup>+</sup> в защите организма от МБТ путем секреции IFN- $\gamma$  и других растворимых факторов, которые активируют макрофаги, подавляющие рост МБТ, или осуществляют лизис МБТ непосредственно в клетке. Цель исследования: определение клеточного иммунитета к *M. tuberculosis* у детей в возрасте до 7 лет с использованием иммунодиагностического теста QFT-Plus. Материал и методы исследования. Антигены, используемые в QFT-Plus, представляют собой пептидную смесь, имитирующую протеины ESAT-6 и CFP-10, которые стимулируют образование IFN- $\gamma$  Т-клетках лимфоцитами (CD4 и CD8) у инфицированных *M. Tuberculosis* (МБТК). Исследование проводилось на базе ДТБ. Включены в исследование 23 ребенка от 1 до 7 лет, ср. возраст 4,6 $\pm$ 1,5 лет. Девочки составили 40% (n=10), мальчики – 60%. Всем проводилось общее клиническое обследование: МСКТ, внутрикожные диагностические пробы - Манту и Диаскинтест и тест *in vitro* - QFT-Plus. Осуществлялся забор крови с литий-гепарином и передавался в АО «Вектор-Бест», где при помощи реагентов производства АО «Вектор-Бест» и экспериментального набора «Цитокин-стимул-Туб» АО «Вектор-Бест» определяли IFN- $\gamma$  (в МЕ/мл): спонтанное его количество (IFN- $\gamma$ Сп) и количество IFN- $\gamma$  при стимулировании иммунного ответа Т-клеток (CD4<sup>+</sup>) - IFN- $\gamma$  A1 и цитотоксических Т-лимфоцитов (CD8<sup>+</sup>) - IFN- $\gamma$  A2. Антигены, используемые в QFT-Plus, представляют собой пептидную смесь, имитирующую протеины ESAT-6 и CFP-10 МБТК (IFN- $\gamma$  A). При оценке теста *in vitro* QFT-Plus определяли разницу между IFN- $\gamma$  после стимуляции антигенами ТВ (A1 и A2) и спонтанного интерферона IFN- $\gamma$  при отсутствии какой-либо дополнительной индукции, что позволяло оценить степень сенсibilизации Т-клеток специфическими антигенами и возможность развития ГЗТ. Результат теста QFT-Plus считался положительным, если стимулированный IFN- $\gamma$  превышал спонтанное значение IFN- $\gamma$ , а разница (A1-Сп и A2- Сп) между ними составляла  $\geq 0,35$  МЕ/мл. Результаты исследования. Все наблюдавшиеся дети представляли группу риска по туберкулезу. У 15 из 23 пациентов установлен тесный контакт с больным туберкулезом, привиты вакциной БЦЖ- 65%. Инфицирование МБТ по результатам пр. Манту – у 22 детей, из них у 8 – первичное инфицирование. По результатам пробы Диаскинтест (ДСТ)– положительные у 15 детей, в том числе гиперергические (n=5), отрицательные – у 7 пациентов. По результатам теста QFT-Plus: у всех пациентов (n=23) спонтанное

количество IFN- $\gamma$  имело большой разброс от 0,002 до 5,449 МЕ/л. При стимуляции антигенами МБТК ESAT-6 и CFP-10, как Т-лимфоцитов CD4 (A1), так и CD-8 (A2), секреция IFN- $\gamma$  определялась в количестве от 0 до 10,441 МЕ/л и от 0 до 11,151 МЕ/л соответственно. По сравнению со спонтанным количеством IFN- $\gamma$  Сп секреция IFN- $\gamma$  при стимуляции Т-клеток CD4 (A1) увеличивалась от 1,4 до 18,6 раз, а Т-клеток CD8 (A2) - от 1,3 до 17,7 раз. Разница между количеством секретируемого IFN- $\gamma$  (A1 – Сп), также IFN- $\gamma$  (A2 – Сп), у 15 (65%) пациентов находилась в пределах от 0,41 до 7,8 МЕ/л, что  $\geq$  0,35 МЕ/мл и соответствовала положительному результату теста. У 1/3 (n=8) детей эта разница составляла от -0,01 до 0,06 МЕ/мл, т.е.  $<0,35$ , и подтверждала отрицательный результат теста. Установлена прямая положительная корреляция между результатами теста QFT-Plus и пр. Диаскинтест. Коэффициент корреляции результатов пробы ДСТ и секретируемого IFN- $\gamma$  Т-лимфоцитами CD4 (A1-Сп) составил  $r=0,457$ ; а ДСТ и Т-лимфоцитами CD8 (A2-Сп) -  $r=0,598$ . У пациентов с гиперергической пробой ДСТ (n=5) и с положительными реакциями (n=10) ср. значения секреции IFN- $\gamma$  при стимуляции CD4 составило ( $4,79 \pm 3,69$  и  $4,56 \pm 2,46$  соответственно) и CD8 ( $5,01 \pm 3,69$  и  $4,78 \pm 2,46$  соответ.), ( $p=0,958879$ ). У пациентов с отрицательным ДСТ стимуляция как CD4 (A1), так и CD8 (A2), характеризовалась очень низким и даже отсутствием секреции IFN- $\gamma$  (0,0-0,2 МЕ/мл и 0,05-0,2 МЕ/мл соответ.). Результаты пробы Диаскинтест (положительные и отрицательные) в 95,7 % случаях соответствовали результатам теста QFT-Plus. Оценка согласованности тестов по доле совпадающих результатов и коэффициенту каппа Коэна почти идеальное ( $\kappa=0,9$ ). Выводы. Формирование иммунного клеточного ответа у детей в возрасте до 7 лет ассоциировалось с повышением секреции IFN- $\gamma$  при стимуляции антигенами ESAT-6 и CFP-10 МБТК, как Т- лимфоцитами CD4, так и CD-8. По количеству секретируемого IFN- $\gamma$  иммунными клетками достоверного различия не установлено. Оценка согласованности тестов (пробы Диаскинтест и теста QFT-Plus) по доле совпадающих результатов (положительные и отрицательные) и коэффициенту каппа Коэна почти идеальное ( $\kappa=0,9$ ).

Поддубная Людмила Владимировна poddludmila@yandex.ru