

АНТИГЕНЫ ESAT-6 И CFP-10 КАК СУБСТРАТ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОЙ МОЛЕКУЛЫ. ВОЗМОЖНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ В МЕДИЦИНЕ



Д.А. Кудлай^{1,2}, Н.П. Докторова³

¹ ФГБУ Государственный научный центр «Институт иммунологии» Федерального медико-биологического агентства, Москва, Россия

² ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), Москва, Россия

³ ФГБУ Национальный медицинский исследовательский центр фтизиопульмонологии и инфекционных заболеваний Минздрава России, Москва, Россия

Резюме. Рекомбинантные технологии уже давно и широко применяются в медицине. В статье представлен обзор применения медицинских технологий на основе белков ESAT-6 и CFP-10 в диагностике туберкулеза. ESAT-6 и CFP-10 — специфические белки, гены которых закодированы в зоне RD-1 (region of difference) *M. tuberculosis*. RD-1 фрагмент генома, отсутствующих у *M. bovis* BCG и у большинства нетуберкулезных микобактерий. Открытие антигенов ESAT-6 и CFP-10 позволило сделать первый и пока единственный прорыв в совершенствовании диагностики латентной туберкулезной инфекции со времен внедрения самой первой внутрикожной туберкулиновой пробы (ВТП). В статье описан принцип действия и опыт применения диагностических инструментов на основе ESAT-6 и CFP-10, таких как *in vitro* interferon-gamma release assays (IGRA-тесты) и *in vivo* аллерген туберкулезный рекомбинантный (АТР, Диаскинтест). АТР вводится внутрикожно, аналогично ВТП, и вызывает развитие аллергической реакции замедленного типа, что свидетельствует о присутствии *M. tuberculosis* в организме. Совместное применение ESAT-6 и CFP-10 для раннего выявления туберкулезной инфекции позволило компенсировать многие недостатки ВТП. В исследованиях доказана высокая чувствительность и специфичность тестов на основе ESAT-6 и CFP-10, благодаря чему на результаты тестирования перестало влиять наличие вакцинации БЦЖ в прошлом, снизилась частота ложноположительных результатов из-за реакции на нетуберкулезные микобактерии. Результаты крупного метаанализа исследований с участием пациентов из групп повышенного риска показали, что риск развития туберкулеза у лиц с положительным результатом IGRA-тестов превышает риск развития туберкулеза у лиц с отрицательным результатом в 9,35 раз (95% доверительный интервал (95% ДИ) [6,48–13,49]), в то время как в случае ВТП — в 4,24 раза (95% ДИ [3,3–5,46]). Общая точность АТР по данным метаанализа на основе 61 публикации составляет 95,1% (95% ДИ [95,06–95,1]). Проведенный анализ литературы продемонстрировал наличие значительной доказательной базы в отношении эффективности тестов на основе ESAT-6 и CFP-10 при диагностике туберкулезной инфекции. В статье рассмотрены диагностические тесты и вакцины на основе упомянутых белков, находящиеся в настоящее время на этапе разработки.

Ключевые слова: ESAT-6, CFP-10, *Mycobacterium tuberculosis*, биотехнологическая платформа, interferon-gamma release assays, IGRA-тесты, T-SPOT.TB, аллерген туберкулезный рекомбинантный, C-Tb, рекомбинантный белок ESAT-6–CFP-10.

Адрес для переписки:

Кудлай Дмитрий Анатольевич
115522, Россия, Москва, Каширское ш., 24,
ФГБУ ГНЦ «Институт иммунологии» ФМБА.
Тел.: 8 985 761-02-37.
E-mail: D624254@gmail.com

Contacts:

Dmitry A. Kudlay
115522, Russian Federation, Moscow, Kashirskoye sh., 24,
National Research Center — Institute of Immunology.
Phone: +7 985 761-02-37.
E-mail: D624254@gmail.com

Для цитирования:

Кудлай Д.А., Докторова Н.П. Антигены ESAT-6 и CFP-10 как субстрат биотехнологической молекулы. возможности применения в медицине // Инфекция и иммунитет. 2022. Т. 12, № 3. С. 439–449.
doi: 10.15789/2220-7619-EAC-1763

Citation:

Kudlay D.A., Doktorova N.P. ESAT-6 and CFP-10 antigens as a biotechnology molecule substrate. applications in medicine // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2022, vol. 12, no. 3, pp. 439–449.
doi: 10.15789/2220-7619-EAC-1763

ESAT-6 AND CFP-10 ANTIGENS AS A BIOTECHNOLOGY MOLECULE SUBSTRATE. APPLICATIONS IN MEDICINE

Kudlay D.A.^{a,b}, Doktorova N.P.^c

^a National Research Center — Institute of Immunology, Federal Medical-Biological Agency of Russia, Moscow, Russian Federation

^b I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russian Federation

^c National Medical Research Center for Phthisiopulmonology and Infectious Diseases, Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation

Abstract. Recombinant technologies have been long widely used in medicine. This article presents a review on the application of medical technologies based on ESAT-6 and CFP-10 proteins in diagnostics and prevention of tuberculosis. ESAT-6 and CFP-10 are specific proteins whose genes are encoded in the RD-1 zone (region of difference) of *M. tuberculosis*. *M. bovis* BCG and in most nontuberculous mycobacteria lack the RD-1 genome fragment. The discovery of ESAT-6 and CFP-10 antigens allowed to make the first and so far, the only breakthrough in improving the diagnostics of latent tuberculosis infection after the first tuberculin skin test (TST) was implemented. The article describes the principle of action and the experience with diagnostic tools based on ESAT-6 and CFP-10 such as *in vitro* interferon-gamma release assays (IGRA) and *in vivo* recombinant tuberculosis allergen (RTA, Diaskintest). RTA is inoculated intradermally similar to TST followed by developing delayed-type immune reaction detected in the area closest to *M. tuberculosis*. Combined use of ESAT-6 and CFP-10 for early detection of tuberculosis infection allowed to ameliorate for many drawbacks related to TST. High sensitivity and specificity was confirmed for ESAT-6- and CFP-10-based tests, so that former BCG vaccination had no more effect on test results and lowered frequency of false positive results due to reaction to non-tuberculous mycobacteria. The results of a large-scale meta-analysis on studies with patients at high risk demonstrated that the risk of developing tuberculosis in subjects with positive vs. negative IGRA was increased by 9.35-fold (95% confidence interval (CI) [6.48–13.49]), whereas for TST — by 4.24-fold (95% CI [3.3–5.46]). 95.1%, (95% CI [95.06–95.1]). Analyzing available publications demonstrated sufficient evidence base regarding efficacy of using ESAT-6–CFP-10-based tests in tuberculosis diagnostics. Finally, there are also reviewed the diagnostic tests and vaccines based on using such proteins currently being under development.

Key words: ESAT-6, CFP-10, *Mycobacterium tuberculosis*, biotechnology platform, interferon-gamma release assays, IGRAs, T-SPOT.TB, recombinant tuberculosis allergen, recombinant protein CFP-10:ESAT-6.

Введение

Рекомбинантные технологии уже давно и широко применяются в медицине. С их помощью создаются лекарственные, диагностические и профилактические средства. Рекомбинантные технологии являются отраслью генной инженерии и подразумевают модификацию генного материала (ДНК, РНК) с целью синтеза целевого белка. Синтезированные белки могут выступать в качестве лекарственных препаратов (инсулины, факторы свертывания крови, интерфероны, генотерапевтические препараты, ферментные средства талиглюцераза альфа, веллаглюцераза альфа и т. д.), средств профилактики (вакцины) и диагностики для использования в иммуногистохимии, иммуноферментном анализе, проточной цитофлуориметрии и др.

Важность и необходимость рекомбинантных технологий обусловлена не только огромным потенциалом создания новых белковых молекул, но и рядом ограничений, связанных с источниками получения белка и особенностями реакции живых организмов на чужеродные белки. В силу сложности своего строения белки могут синтезироваться только живыми организмами, а выделение их из живых организмов связано с рядом проблем, к числу которых относятся потенциальные различия в строении

одного и того же белка и загрязнение целевого экстракта балластными веществами. Вторая проблема — любые чужеродные белки живыми организмами воспринимаются как антигены и при повторной встрече организма с антигеном развивается иммунный ответ. Введение гетерогенного по строению белка, смеси белков или смеси белков с низкомолекулярными соединениями усиливает иммунную реакцию на их повторное введение. При создании лекарственных средств в большинстве случаев (кроме, возможно, пищеварительных ферментов) это является неприемлемым — фармацевтическая субстанция должна быть стандартизованной и минимально иммуногенной, а применение рекомбинантных технологий позволяет в значительной мере устранить перечисленные проблемы. Напротив, при создании вакцин используются полноценные бактерии или вирусы в виде ослабленных (аттенуированных) штаммов или их фрагменты именно с целью формирования надежного иммунитета за счет воздействия целого комплекса антигенов. Промежуточное положение между лекарственными средствами и вакцинами занимают диагностические средства. В зависимости от цели применения, их состав и чистота могут заметно различаться, поэтому в некоторых случаях, например, при диагностике наличия аллергии используются экстракты

из источника аллергена, содержащие большое количество антигенов и балластных веществ, в других случаях может требоваться более чистое и однообразное по строению средство, так как это влияет на такие важные параметры любого диагностического теста как чувствительность и специфичность.

Настоящая работа посвящена рассмотрению биотехнологической платформы на основе рекомбинантных белков ESAT-6 и CFP-10 являющихся антигенами ряда микобактерий, включая *M. tuberculosis*, нашедших широкое применение в диагностике латентной туберкулезной инфекции.

Предпосылки разработки биотехнологической платформы на основе белков ESAT-6 и CFP-10 для совершенствования диагностики латентной туберкулезной инфекции

ESAT-6 и CFP-10 — белки, синтезируемые рядом микобактерий из группы *M. tuberculosis complex* — *M. tuberculosis*, *M. kansasii*, *M. szulgai* и *M. marinum* [4, 29]. ESAT-6 (англ. early secreted antigenic target) — ранний секретируемый антиген с массой 6 kDa обладает литической активностью и способствует проникновению микобактерии в клетку, а также дестабилизирует фагосомы, позволяя микобактерии покинуть фагосому и переместиться в цитозоль макрофага, тем самым избежав лизиса [36, 43]. CFP-10 (англ. culture filtrate protein, син. Rv3874) — белок клеточного фильтрата с массой 10 kDa, образующий комплекс с ESAT-6 и обеспечивающий его доставку к месту действия [43]. Оба белка являются антигенами микобактерий и широко используются в диагностике латентной туберкулезной инфекции (ЛТИ), а также являются компонентами противотуберкулезных вакцин, находящихся в данный момент на этапе клинических исследований [26, 23].

Арсенал средств для диагностики активного туберкулеза достаточно широк — микроскопические и микробиологические методы, молекулярно-генетическое тестирование, изучение клинических проявлений заболеваний, лучевые методы визуализации легких и лимфатических узлов и т. д. При этом для диагностики ЛТИ — формы заболевания, когда возбудитель туберкулеза только присутствует в организме человека, но инфекционный процесс еще не начался — упомянутые методы диагностики неприменимы [33]. Особое внимание к ЛТИ вызвано тем, что, согласно современной парадигме, лечение туберкулеза необходимо начинать на ранних стадиях, желательно на этапе

ЛТИ, не дожидаясь проявления клинических признаков заболевания. Такая практика обусловлена тем, что туберкулез является жизнеугрожающим заболеванием, лечение которого усложняется по мере его прогрессирования; распространены формы туберкулеза с устойчивостью к отдельным противотуберкулезным препаратам, что затрудняет и удлинит лечение; а также тем, что страдающие от туберкулеза могут инфицировать окружающих [3]. Самым высоким риском развития туберкулеза обладают люди, страдающие ВИЧ, часто контактирующие с больными туберкулезом, заключенные и страдающие силикозом легких. Меньшим, но повышенным по сравнению с общей популяцией, риском развития туберкулеза обладают беженцы, недавно прибывшие иммигранты, люди, нуждающиеся в диализе, недавно перенесшие пересадку органов, а также получающие иммуносупрессирующую терапию [21].

До 1996 г. единственным широко применяемым и хорошо изученным способом массового скрининга на туберкулез была туберкулиновая проба (проба Манту, внутрикожная туберкулиновая проба [ВТП]) — внутрикожное введение туберкулина (здесь и далее под туберкулином имеется в виду туберкулин PPD, от англ. purified protein derivative) с последующей регистрацией ответа на введение. Возникновение ответа, проявляющегося формированием инфильтрата (папулы) в месте введения, должно свидетельствовать о наличии сенсibilизации организма возбудителем туберкулеза и о его присутствии в организме, что является основанием для начала превентивной противотуберкулезной терапии, однако в действительности причин ответа несколько больше, что затрудняет интерпретацию результатов. Первое, на что следует указать, это то, что туберкулин является не чистым соединением, а смесью — фильтратом убитых нагреванием *M. tuberculosis* (в случае туберкулина PPDRT23 и PPD-S) или *M. tuberculosis* и *M. bovis* (в случае туберкулина PPD-L). Следствием упомянутого факта является достаточно высокая чувствительность теста, но низкая специфичность. Возникновение ответа на его введение может означать как сенсibilизацию, указывающую на присутствие в организме микобактерий, способных вызвать туберкулез, так и на присутствие в организме нетуберкулезных микобактерий, которые не способны вызвать туберкулез, или наличие в анамнезе вакцинации БЦЖ (вакцина, содержащая аттенуированный штамм *M. bovis* субштамма BCG-1, обладающий ослабленной вирулентностью и практически полной неспособностью вызвать туберкулез у человека). Последний фактор особенно сильно влияет на интерпретацию результатов ввиду того, что вакцина БЦЖ является

очень распространенной в ряде стран и в том числе в РФ. Так, в РФ БЦЖ прививаются около 95% детей, что означает, что у большинства из них ВТП укажет на потенциальное присутствие возбудителя туберкулеза, что на деле окажется ложноположительным результатом в большинстве случаев [5, 18]. Подводя итоги массовой туберкулинодиагностики, проведенной в Москве с 2000 по 2006 г., было подсчитано, что не более 1% от положительно ответивших на ВТП детей и подростков в итоге были взяты под диспансерное наблюдение. Специфичность ВТП составила 41,7% у детей и 22,2% у подростков. Сходные результаты были получены и в других субъектах [13]. Результаты другого сравнительного исследования показали, что каждый второй ребенок, получающий превентивную химиотерапию на основании результатов ВТП, может получать ее необоснованно [1].

Стоит отметить и достаточно высокую частоту ложноотрицательных результатов ВТП у отдельных групп лиц: пациентов с распространенным активным туберкулезом, у которых частота ложноотрицательных результатов ВТП может достигать 17% и дополнительно увеличиваться по мере возрастания тяжести инфекционного процесса; пациентов с ВИЧ, у которых частота ложноотрицательных результатов может достигать 28% при уровне CD4-клеток 400–500 кл/мкл и до 100% при уровне CD4-клеток менее 200 кл/мкл; у пожилых людей, у которых частота ложноотрицательных результатов может достигать 30%. К другим недостаткам этого теста относятся: низкая чувствительность у иммунокомпрометированных пациентов (например, у пациентов с ВИЧ), необходимость повторного посещения врача для интерпретации результатов [33]. Суммируя вышеперечисленные недостатки, можно сказать, что основной проблемой ВТП является высокая частота ложноположительных результатов, что приводит к проведению излишних медицинских манипуляций с пациентами и нерациональному расходованию медицинских ресурсов [5]. К положительным чертам ВТП можно отнести достаточно высокую изученность теста, а также сравнительно небольшую ресурсоемкость метода.

Недостатки ВТП и отсутствие альтернатив стимулировали проведение поиска новых методов диагностики ЛТИ. В 1996 г. было закончено секвенирование генома разных видов микобактерий и их сравнительный анализ позволил выявить наличие так называемых «регионов различий» (англ. region of difference, RD-1, RD-2 и т. д.) — фрагментов генома, обнаруженных лишь у части видов и отсутствующих у других [42]. На данный момент обнаружено не менее 20 таких регионов в геномах микобактерий. В геноме *M. tuberculosis* выявлены 14 «регионов

различий» (RD), которые также присутствуют лишь у ограниченного числа других видов микобактерий [37]. В теории гены обнаруженных регионов могли кодировать белки, отсутствующие у других видов микобактерий, соответственно обнаружение этих специфических белков указывало бы на присутствие в организме именно тех видов микобактерий, которые способны его продуцировать. Потенциально открытие таких белков позволило бы создать на их основе высокоспецифичные диагностические тесты [20].

Впоследствии был открыт целый ряд таких специфических белков (MPT51, MPT59 MPT64 (Ag85B, Rv1886c), MTB8, MTB48, Rv0934, Rv1837c и др.), однако результаты экспериментов подтвердили клиническую применимость лишь небольшого их числа. Проблема заключалась в том, что тесты на их основе не демонстрировали достаточного уровня чувствительности, что нивелировало их специфичность. Среди самых эффективных белков оказались ESAT-6 и CFP-10, гены которых находятся в RD-1. Тесты, основанные на комбинации этих белков, продемонстрировали более высокую чувствительность по сравнению с тестами на основе какого-либо одного из них, что предопределило их дальнейшее совместное использование [4, 42].

Тесты на основе рекомбинантных ESAT-6 и CFP-10 преодолели недостатки ВТП — благодаря возросшей специфичности на результаты тестирования перестало влиять наличие вакцинации БЦЖ в прошлом, снизилась частота ложноположительных результатов из-за реакции на нетуберкулезные микобактерии и т. д.

Диагностические тесты на основе ESAT-6 и CFP-10 имеют несколько форм реализации: тесты *in vitro*, выполняемые в лаборатории на основе биологического материала пациента (кровь), и внутрикожные пробы, аналогичные ВТП, отличающиеся применением ESAT-6 и CFP-10 вместо туберкулина.

IGRA-тесты

Исторически первыми появились лабораторные методы *in vitro*. Как и внутрикожные методы они основаны на механизме клеточного ответа: организм, в котором присутствуют микобактерии, способные вызвать туберкулез, сенсибилизирован к антигенам микобактерий, и иммунные клетки Т-клеточного звена, «знакомые» с антигеном, при встрече с ним запускают процесс воспаления [33]. При постановке внутрикожных проб воспаление проявляется характерным инфильтратом в месте введения. При лабораторном исследовании у пациента берется образец крови с циркулирующими в ней Т-лимфоцитами, затем в образец крови добавляется микобактери-

альный антиген или их смесь, которые при взаимодействии с сенсibilизированными Т-лимфоцитами провоцируют выделение ими $IFN\gamma$, который подвергается количественному анализу и при превышении пороговых значений указывает на наличие в организме активных микобактерий [20]. Тесты на основе этого принципа получили название IGRA-тесты (англ. interferon-gamma release assays). Первоначально, в качестве антигена применялся туберкулин, однако *in vitro* методы с его использованием характеризовались наличием практически тех же недостатков, за исключением того, что результаты получались быстрее, и не требовалось повторного посещения пациентом врача [33, 42]. С открытием антигенов, кодируемых в регионах различий, туберкулин был заменен на них. На данный момент в мире общепризнаны и широко применяются два валидированных IGRA-теста: T-SPOT.TB и QuantiFERON-TB Gold (QFT). Они отличаются друг от друга составом антигенов и критериями оценки результатов тестирования. При проведении T-SPOT.TB используются рекомбинантные антигены ESAT-6 и CFP-10. Образец крови пациента инкубируется течение 16–24 ч в присутствии антигенов, а затем при помощи иммуноферментного анализа (ИФА) по методу ELISPOT проводится подсчет числа Т-лимфоцитов, выделяющих $IFN\gamma$ [27]. В качестве антигенов в тесте QFT выступают рекомбинантные ESAT-6, CFP-10 и TB7.7(p4). Образец крови пациента подвергается центрифугированию с последующим инкубированием с антигенами в течение 16–24 ч. Уровень $IFN\gamma$ определяется с помощью ИФА по методу ELISA — путем подсчета выделившегося $IFN\gamma$ [35].

Чувствительность IGRA-тестов при диагностике ЛТИ составляет около 68–90% для T-SPOT.TB и 46–80% для QFT. Оба теста обладают высокой и сопоставимой специфичностью > 95% [24, 32]. Для сравнения: чувствительность ВТП в среднем составляет около 80%, при этом если в качестве критерия положительной пробы использовать размер папулы 5, 10 или 15 мм, то чувствительность будет составлять около 98, 70–90 и 40–60% соответственно. Специфичность ВТП при диагностике ЛТИ у лиц без вакцинации БЦЖ может достигать 100%, но снижается до 60–80% при ее наличии [13, 24, 31, 32]. Важно отметить, что говоря о чувствительности и специфичности любого метода диагностики ЛТИ, необходимо учитывать, что все оценки являются приблизительными, так как золотого стандарта диагностики ЛТИ по-прежнему нет [3]. Не стоит также забывать, что высокие показатели диагностической ценности, продемонстрированные в условиях хорошо спланированного и проведенного эксперимента, не всегда достигаются в реальных условиях. Так, по замечанию авторов,

проанализировавших опыт применения IGRA-тестов в РФ, результаты их применения были несколько ниже, чем заявлено в международных рекомендациях [40].

Результаты крупного метаанализа исследований с участием пациентов из групп повышенного риска показали, что риск развития туберкулеза у лиц с положительным тестом превышает риск развития туберкулеза у лиц с отрицательным тестом в случае IGRA-тестов в 9,35 раз (95% доверительный интервал (ДИ) [6,48–13,49]), в то время как в случае ВТП — в 4,24 раза (95% ДИ [3,3–5,46]). Положительная диагностическая ценность (англ. positive predictive value) для IGRA-тестов и ВТП составила 4,2 и 1,6% соответственно, а негативная диагностическая ценность (англ. negative predictive value) — 99,4 и 99,1% соответственно. Риск развития туберкулеза у лиц с положительным результатом теста, не получивших профилактического лечения, превысил риск у лиц, получивших лечение, при использовании IGRA-тестов в 2,36 раза (95% ДИ [1,06–5,23]) и при использовании ВТП — 1,35 раза (95% ДИ [0,59–3,12]) Таким образом, было показано, что IGRA-тесты обладают большей предсказательной ценностью, чем ВТП [45].

В качестве аналога для замены более дорогого импортного теста QFT был разработан отечественный *in vitro* IGRA-тест на основе ESAT-6, CFP-10 и туберкулина, получивший название Тубинферон. Доказательная база данного теста ограничена и противоречива, что не позволяет сделать определенный вывод о диагностической ценности данного метода [7, 8, 9, 10]. Тубинферон разрабатывался как альтернатива QFT, поэтому в качестве косвенной оценки ценности нового метода можно использовать данные о частоте совпадений между двумя тестами. Так, по результатам параллельных исследований было установлено, что у детей результаты Тубинферона и QFT совпадали в 68% [7] и в 74,6% случаев (в то время как АТР и QFT совпадали в 90% случаев) [8]. При использовании QFT в качестве эталона чувствительность и специфичность Тубинферона в другом исследовании составила 64,7 и 75,9% соответственно [9]. На момент написания статьи тест не имеет действующего регистрационного удостоверения в РФ [16].

Внутрикожные пробы с ESAT-6 и CFP-10

Реализация ESAT-6/CFP-10-платформы в виде внутрикожных проб впервые была осуществлена в зарегистрированном в РФ диагностическом тесте на основе аллергена туберкулезного рекомбинантного (АТР, торговое наименование «Диаскинтест», ЛСР-006435/08, зарегистрирован 11.08.2008). В указанном тесте применяются не сами белки ESAT-6 и CFP-10, а единый реком-

бинантный белок, состоящий из ESAT-6 и CFP-10 и продуцируемый генетически модифицированной культурой *E. coli* BL21 (DE3)/pCFP-ESAT. Идея создания АТР заключалась в разработке более специфичного теста по сравнению с ВТП, но пригодного для массового скрининга [4].

АТР имеет более чем 10-летний опыт клинического применения. Суммарно в 121 публикации по результатам использования АТР, тест применен у 12 026 761 пациента, из которых не менее 4 млн — дети [40]. Анализ государственных закупок показал, что с 2013 г. по настоящее время было закуплено более 5 млн упаковок АТР, что в пересчете на дозы превышает 170 млн доз [17].

По результатам крупного метаанализа, включившего результаты 61 публикации по результатам применения АТР, общая точность АТР составляет 95,1% (95% ДИ [95,06–95,1]), у ВИЧ-положительных лиц — 92,4% (91,9–92,7). Чувствительность АТР у пациентов с туберкулезом составляет 86,0% (95% ДИ [80,0–92,0]) и 100% у детей с туберкулезом. Сопоставление частоты положительных проб у пациентов с туберкулезом показало, что при применении АТР (80,5%) они наблюдались чаще, чем при QFT (67,0%) и T-SPOT.TB (72,2%), но реже, чем при применении ВТП (91,2%). У пациентов с туберкулезом в сочетании с ВИЧ частота положительных результатов с АТР (59,3%) была на уровне с QFT (61,3%) и несколько ниже, чем при использовании T-SPOT.TB (67,2%), но значительно выше, чем при ВТП (15,1%) [40].

В другом крупном объединенном анализе 33 работ, из которых были извлечены данные о результатах применения АТР и ВТП у 2 126 493 детей, было установлено, что диагностическая ценность АТР выше в группе подростков с 15 до 18 лет, чем в группе детей от 0 до 14 лет. Расчетная чувствительность и специфичность АТР у подростков составила 100 и 97,9% соответственно, в то время как при применении ВТП — 100 и 10,2% соответственно [6].

В сравнительном исследовании АТР и QFT, в котором принял участие 181 человек, было показано, что у взрослых и детей с туберкулезом результаты обоих тестов достаточно согласованы: у взрослых чувствительность АТР и QFT составила 68 и 82% соответственно, а специфичность — по 88% при согласованности в результатах у 84% пациентов; у детей чувствительность составила 73 и 65%, а специфичность — 84 и 86%, при согласованности результатов у 90% детей. Также было отмечено, что в подгруппах детей с туберкулезом, вызванным *M. tuberculosis*, и высокоактивным туберкулезом чувствительность АТР достигла 100%, в отличие от QFT, показавшего результат 67 и 79%. Таким образом было продемонстрировано, что у взрослых чувствительность АТР несколько уступает QFT, однако,

напротив, у детей АТР оказался более чувствительным, но несколько менее специфичным [34].

Ретроспективный анализ 860 историй болезней детей и взрослых без ВИЧ, вакцинированных БЦЖ, прошедших обследование в ФГБУ Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии с использованием АТР, QFT и T-SPOT.TB, показал, что у детей наблюдается почти полная согласованность при использовании данных тестов: 100% у АТР и T-SPOT.TB, и 97,1% у АТР и QFT. В подгруппе взрослых результаты оказались менее согласованными — в 80,5% случаев между АТР и T-SPOT.TB и в 63,6% случаев между АТР и QFT. Рассчитанная чувствительность у взрослых с туберкулезом, вызванным *M. tuberculosis*, составила 88,7% для АТР, 90,6% для T-SPOT.TB и 87,0% для QFT. Согласно полученным результатам, АТР оказался сопоставим по своим диагностическим свойствам с QFT и T-SPOT.TB, при этом у детей наблюдалось почти 100%-ное совпадение результатов тестирования [41].

В литературе описаны следующие положительные изменения в диагностике туберкулеза, появившиеся после внедрения АТР: при диагностике локальных форм туберкулеза удалось повысить выявляемость на 22,9% и избежать гипердиагностики в 20,7% случаев [5]; значительно повысить выявляемость активного туберкулеза у детей и подростков от 1,75 до 24 и 37,7 раза [15, 14, 39]; значительно повысить выявляемость посттуберкулезных изменений у детей и подростков в 39,2 раза [14]; снизить частоту назначения превентивной химиотерапии в 5 раз (по сравнению с частотой назначения после положительного ответа на ВТП) и привести в итоге к снижению заболеваемости туберкулезом [14]. Было отмечено, что АТР может давать положительные результаты у детей с монотонной ВТП, которые вследствие этого не подлежали диспансерному наблюдению, что расширяет диагностические возможности для этой части популяции [2]. С помощью АТР возможно провести дифференциальную диагностику туберкулеза и поствакцинальных осложнений после вакцинации БЦЖ [4]. Специфичность АТР значительно превышает специфичность ВТП в случаях неактивного туберкулеза легочной и внелегочных локализаций, а также нетуберкулезных заболеваний внелегочной локализации — частота ложноположительных результатов при применении ВТП у таких пациентов достигает 70%. В целом применение АТР позволяет на 65–99% снизить частоту ложноположительных результатов с ВТП [4].

В настоящее время в клинической разработке находятся еще 2 диагностических теста на основе ESAT-6 и CFP-10: датский тест С-Тб, являющийся комбинацией ESAT-6 и CFP-10 в со-

отношении 1:1, и китайский, представляющий собой рекомбинантный белок ESAT-6—CFP-10.

По итогам исследования С-Тб частота положительных результатов среди здоровых пациентов, нечасто и часто контактирующих с больными туберкулезом, имеет высокую согласованность с QFT — результаты совпадают у 94% пациентов. В то же время у пациентов с туберкулезом частота положительных реакций на С-Тб составила лишь 67% против 81% на QFT и 90% на ВТП. Частота положительного ответа на С-Тб среди здоровых лиц составила 3% по сравнению с 22% при использовании ВТП, у лиц с нечастыми контактами — 16% по сравнению с 22% соответственно, и у лиц с частыми контактами — 43 и 51% соответственно [38].

В клинических исследованиях китайского теста оценивались разные дозировки белка ESAT-6—CFP-10, а также такие параметры как временной промежуток оценки, критерии оценки — размер папулы или размер эритемы. Полученные результаты показывают, что чувствительность нового теста составляет от 72,14 до 100%, а специфичность — от 89,83 до 97,49% [30, 44].

Вакцины на основе ESAT-6 и CFP-10

На данный момент единственной противотуберкулезной вакциной является вакцина БЦЖ, тем не менее в разработке находится не менее 25 вакцин. Часть из них содержит в своем составе ESAT-6 и/или CFP-10. Субъединичная вакцина АЕС/BC02 основана на рекомбинантном белке Ag85b-ESAT-6—CFP-10. Другие субъединичные вакцины, содержащие в составе ESAT-6, это H1:IC31, H1:CAF01, H1:LTK63, H56:IC31/AERAS-456. Не содержит в своем составе, но экспрессирует ESAT-6 живая вакцина ТВ/FLU-04L, основанная на векторе из вируса гриппа, экспрессирующего Ag85A и ESAT-6 [23, 26].

Несмотря на ожидаемую пользу от внедрения в клиническую практику новых противотуберкулезных вакцин возможно проявление и некоторых негативных последствий, связанных с сенсibilизацией к ESAT-6 и CFP-10. По аналогии с вакцинацией БЦЖ, из-за которой ВТП может давать ложноположительные результаты, применение вакцин на основе ESAT-6 и CFP-10 может снизить специфичность диагностических средств на их основе [28].

Обзор клинических рекомендаций

ВОЗ в своем документе 2018 г. настоятельно рекомендовала рассматривать ВТП и IGRA-тесты как равнозначные варианты, обладающие относительно одинаковыми преимуществами и недостатками при диагностике ЛТИ. Выбор

конкретного варианта следует делать исходя из экономических и инфраструктурных возможностей, доступных в конкретном случае [3].

В сводных рекомендациях Американского торакального общества (англ. American Thoracic Society), Американского общества инфекционистов (англ. Infectious Diseases Society of America) и Американского Центра по контролю и профилактике заболеваний (англ. Centers for Disease Control and Prevention) 2017 г. указано, что у детей до 5 лет предпочтительнее применять ВТП вместо IGRA-тестов. У детей старше 5 лет и взрослых с подозрением на ЛТИ, с низким и средним риском прогрессирования ЛТИ до активного туберкулеза, прошедших вакцинацию БЦЖ и у лиц, которые могут повторно не посетить врача для интерпретации результатов ВТП более предпочтительным является применение IGRA-тестов. При этом уточняется, что ВТП является надежной альтернативой, особенно в ситуациях, когда IGRA-тесты недоступны, дороги или их применение неприемлемо по иным причинам. У детей старше 5 лет и взрослых с подозрением на ЛТИ и высоким риском прогрессирования ЛТИ до активного туберкулеза возможно применение любого из тестов, так как данных о преимуществе одного перед другим недостаточно [22, 29].

Международное сообщество UpToDate в серии своих рекомендаций также предлагает дифференцированный подход к диагностике ЛТИ. У детей до двух лет рекомендуется использовать ВТП, у детей с 2 до 4 лет, особенно прошедших вакцинацию БЦЖ, предпочтительнее использование IGRA-тестов. У детей с 5 лет рекомендуется применение IGRA-тестов в ситуации, когда большую важность имеет специфичность теста — например у здоровых детей или прошедших вакцинацию БЦЖ. В ситуациях, когда важна чувствительность теста — дети с высоким риском ЛТИ или дети, нуждающиеся в иммуносупрессивной терапии, могут быть использованы и ВТП и IGRA-тесты [19, 31].

В РФ предпочтительным тестом на ЛТИ у взрослых является проба с АТР. IGRA-тесты рекомендуются лишь при отказе от проведения кожных тестов или невозможности их проведения по медицинским показаниям [11]. У детей тестирование с целью формирования групп высокого риска развития туберкулеза и диагностики заболевания рекомендуется использовать либо пробы с АТР, либо IGRA-тесты. При отборе детей для ревакцинации БЦЖ и при выявлении периода первичного инфицирования у детей до 7 лет включительно рекомендуется применение ВТП, а в возрасте 8–14 лет — применение пробы с АТР. У детей с подозрением на туберкулез для верификации диагноза в комплексное клиничко-лабораторное и рентгеноло-

гическое обследование рекомендуется включение пробы с АТР и/или IGRA-тестов [12].

Обзор клинических рекомендаций и руководств, предпринятый Европейским центром профилактики и контроля болезней (англ. European Centre for Disease Prevention and Control) в 2018 г. и объединивший в итоге 6 документов, опубликованных с 2010 по 2015 г. показал, что ни в одном из документов не предлагалось полного отказа от ВТП. В качестве единственного или в качестве предпочтительного ВТП по-прежнему рекомендуется у детей в возрасте до 5 лет. В общей популяции рекомендуются оба теста, при этом в странах с низким и средним уровнем доходов особенно не рекомендуется отказываться от ВТП. В качестве предпочтительного или в дополнение к ВТП IGRA-тесты часто рекомендуются в особых популяциях: у лиц с низким риском ЛТИ, прошедших вакцинацию БЦЖ, бездомных или употребляющих наркотические средства, иммигрантов из стран с высокой распространенностью туберкулеза, лиц с ВИЧ и другими состояниями, ассоциированными со снижением иммунитета [25].

Обсуждение

Изучение генома микобактерий, последующее открытие ESAT-6 и CFP-10 и разработка тест-систем на их основе внесли значительный вклад в совершенствование диагностики туберкулеза. Специфичность и высокая диагностическая информативность применения ESAT-6 и CFP-10 сочетаются с гибкостью в их технологическом применении: на их основе созданы и демонстрируют хорошие результаты тесты *in vitro* со смесью индивидуальных рекомбинантных белков, внутрикожные тесты как со смесью индивидуальных рекомбинантных белков, так и единым рекомбинантным белком ESAT-6–CFP-10. Разные формы реализации тест-систем позволяют выполнять и точный лабораторный анализ, и эффективный массовый скрининг. Многообещающие результаты также получены при испытаниях вакцин с ESAT-6 и CFP-10, что означает наличие у них потенциального иммуногенного эффекта у человека.

Обзор литературы продемонстрировал наличие значительной доказательной базы в отношении превосходящей эффективности тестов на основе ESAT-6 и CFP-10 по сравнению с ВТП при диагностике ЛТИ и в некоторых других ситуациях:

- применение тестов на основе ESAT-6 и CFP-10 при массовых скринингах в общей популяции позволяет значительно повысить выявляемость ЛТИ и активного туберкулеза

по сравнению с ВТП. При этом заметно снижается частота ложноположительных результатов и последующих необоснованных назначений противотуберкулезной терапии, что также приводит и к экономии медицинских ресурсов;

- в странах с высокой частотой вакцинации БЦЖ применение тестов на основе ESAT-6 и CFP-10 позволяет в еще большей степени снизить частоту ложноположительных результатов при применении ВТП;

- тесты с ESAT-6 и CFP-10 в отличие от ВТП позволяют дифференцировать туберкулезный процесс и поствакцинальные осложнения прививки БЦЖ;

- повышается выявляемость пациентов с посттуберкулезными изменениями;

- появляется возможность отслеживать состояние пациентов с монотонной реакцией на ВТП;

- значительно повышается эффективность дифференцирования активного туберкулеза от неактивного туберкулеза как легочной, так и внелегочной локализации, а также нетуберкулезных заболеваний внелегочных локализаций;

- *in vitro* тесты с ESAT-6 и CFP-10 являются надежными альтернативами в ситуации, когда проведение внутрикожных тестов с туберкулином или ESAT-6 и CFP-10 противопоказано или не представляется возможным по другим причинам.

Изучение отечественных и иностранных клинических рекомендаций позволило установить, что тесты на основе ESAT-6 и CFP-10 в той или иной форме реализации присутствуют во всех рассмотренных документах. В некоторых ситуациях они рекомендуются в качестве альтернативы ВТП, а в иных — в качестве предпочтительных средств диагностики.

Как было сказано ранее, тесты на основе ESAT-6 и CFP-10 реализованы в разных форматах: тест-системы для *in vitro* диагностики и тесты для внутрикожного применения. *In vitro* тесты считаются более точными по сравнению с внутрикожными, при этом они дороже, требуют наличия лаборатории и квалифицированного специалиста. В качестве дополнительных преимуществ *in vitro* тестов часто выделяются быстрота получения результата и отсутствие необходимости в повторном посещении врача, однако на практике эти преимущества не всегда реализуются — при массовых скринингах преимущество в скорости теряется, а для получения пациентом результатов может потребоваться повторное посещение врача. Внутрикожные тесты с ESAT-6 и CFP-10 не предполагают каких-либо изменений в практике их применения по сравнению с ВТП, поэтому их внедрение

не требует дополнительных инфраструктурных или организационных мероприятий, а их более высокая стоимость по сравнению с ВТП компенсируется снижением расходов на диспансерное наблюдение или превентивное лечение людей за счет снижения частоты ложноположительных результатов. Таким образом, выбор в пользу *in vitro* или внутрикожных тестов следует делать исходя из клинической потребности и доступных ресурсов.

Заключение

Открытие антигенов ESAT-6 и CFP-10 позволило сделать первый и пока единственный прорыв в совершенствовании диагностики ЛТИ со времен внедрения самого первого теста

ВТП. Благодаря относительной нетребовательности молекул ESAT-6 и CFP-10 на их основе был разработан ряд достаточно разных по характеристикам медицинских продуктов: *in vitro* тест-системы с индивидуальными рекомбинантными белками, внутрикожные тесты с рекомбинантными индивидуальными белками и рекомбинантным комплексным белком, комплексные вакцины. В области диагностики ЛТИ совместное применение ESAT-6 и CFP-10 позволило компенсировать многие недостатки ВТП. ESAT-6 и CFP-10 являются единственными отдельными антигенами (не считая смеси антигенов в составе туберкулина), используемыми в диагностике туберкулеза и применяемыми во всем мире, что дополнительно подчеркивает важность их открытия.

Список литературы/References

1. Аксенова В.А., Барышникова Л.А. Эффективность аллергена туберкулезного рекомбинантного при раннем выявлении туберкулезной инфекции у детей и подростков в условиях общей лечебной сети // Вопросы современной педиатрии. 2015. Т. 14, № 3. С. 358–362. [Aksenova V.A., Baryshnikova L.A. Efficacy of the recombinant tuberculosis allergen for early identification of latent tuberculosis in children and adolescents in general healthcare settings. *Voprosy sovremennoy pediatrii = Current Pediatrics*, 2015, vol. 14, no. 3, pp. 358–362. (In Russ.) doi: 10.15690/vsp.v14i3.1371]
2. Аксенова В.А., Леви Д.Т., Александрова Н.В., Кудлай Д.А., Барышникова Л.А., Клевно Н.И. Туберкулез у детей: современные методы профилактики и ранней диагностики // Доктор.Ру. 2017. Т. 15, № 144. С. 9–15. [Aksenova V.A., Levi D.T., Aleksandrova N.V., Kudlay D.A., Baryshnikova L.A., Klevno N.I. Pediatric TB: modern methods for prevention and early diagnostics. *Doktor.Ru = Doctor.Ru*, 2017, vol. 15, no. 144, pp. 9–15. (In Russ.)]
3. Всемирная организация здравоохранения. Обновленное сводное руководство по программному ведению случаев латентной туберкулезной инфекции. Женева: Всемирная организация здравоохранения, 2018. 72 с. [Latent tuberculosis infection: updated and consolidated guidelines for programmatic management. *WHO*, 2018. 72 p. (In Russ.)]
4. Кожная проба с препаратом «Диаскинтест» — новые возможности идентификации туберкулезной инфекции. Под ред. М.А. Пальцева. 2-е изд., испр. и доп. М.: Шико, 2011. 256 с. [Skin test with the “Diaskintest” — new opportunities for the identification of tuberculosis infection. 2nd ed. Ed. by M.A. Pal'tsev. *Moscow: Shiko Publ.*, 2011. 256 p. (In Russ.)]
5. Козлова А.В., Лазарева Л.В., Вальц И.А. Анализ эффективности Диаскинтеста как метода верификации туберкулеза у детей // Universum медицина и фармакология. 2019. Т. 59, № 4. [Kozlova A.V., Lazareva L.V., Valts I.A. Analysis of efficiency of diaskintest as a method of verification of tuberculosis in children. *Universum medicina i farmakologiya = Universum Medicine and Pharmacology*, 2019, vol. 59, no. 4. (In Russ.)]
6. Кудлай Д.А., Старшинова А.А., Довгалюк И.Ф. Аллерген туберкулезный рекомбинантный: 10-летний опыт применения теста у детей и подростков в Российской Федерации (данные метаанализа) // Педиатрия. Журнал имени Г.Н. Сперанского. 2020. Т. 99, № 3. С. 121–129. [Kudlay D.A., Starshinova A.A., Dovgalyuk I.F. Recombinant tuberculosis allergen: 10 years of experience with the test in children and adolescents in the Russian Federation (meta-analysis data). *Pediatriya. Zhurnal imeni G.N. Speranskogo = Pediatrics. Journal named after G.N. Speransky*, 2020, vol. 99, no. 3, pp. 121–129. (In Russ.)] doi: 10.24110/0031-403X-2020-99-3-121-129
7. Лозовская М.Э., Белушков В.В., Гурина О.П., Васильева Е.Б. Сравнительная оценка инновационных тестов в диагностике латентной и активной туберкулезной инфекции у детей // Педиатр. 2014. Т. 5, № 3. [Lozovskaya M.E., Belushkov V.V., Gurina O.P., Vasilyeva E.B. Comparative evaluation of innovative diagnostic tests for latent and active TB infection in children. *Pediatr = Pediatr*, 2014, vol. 5, no. 3. (In Russ.)] doi: 10.17816/PED5346-50
8. Лозовская М.Э., Белушков В.В., Гурина О.П., Дементьева Е.А., Шибакова Н.Д., Васильева Е.Б., Клочкова Л.В. Сопоставление лабораторных тестов Quantiferon, Тубинферон и Диаскинтеста у детей с туберкулезной инфекцией // Клиническая лабораторная диагностика. 2016. Т. 61, № 12. С. 838–842. [Lozovskaya M.E., Belushkov V.V., Gurina O.P., Dementyeva E.A., Shibakova N.D., Vasilyeva E.B., Klochkova L.V. The comparison of laboratory tests Quantiferon, Tubiniferon and Diaskintest in children with tuberculosis infection. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika = Russian Clinical Laboratory Diagnostics*, 2016, vol. 61, no. 12, pp. 838–842. (In Russ.)] doi: 10.18821/0869-2084-2016-61-12-838-842
9. Лозовская М.Э., Гурина О.П., Дементьева Е.А., Васильева Е.Б., Клочкова Л.В., Шибакова Н.Д., Белушков В.В. Особенности реагирования тестов *in vitro* и кожных проб с туберкулезными аллергенами в зависимости от варианта туберкулезной инфекции у детей // Медицина теория и практика. 2018. Т. 3, № 3. С. 13–18. [Lozovskaya M.E., Gurina O.P., Dementyeva E.A., Vasilyeva E.B., Klochkova L.V., Shibakova N.D., Belushkov V.V. Features of reaction *in vitro* tests and skin tests with tubercular allergens depending on variants of the tuberculosis infection in children. *Medicina: teoriya i praktika = Medicine: Theory and Practice*, 2018, vol. 3, no. 3, pp. 13–18. (In Russ.)]
10. Мордовская Л.И., Гурьева О.И., Ильина, Е.Н., Тимофеева М.Н. Использование тест-системы «Тубинферон» и пробы с Диаскинтестом для диагностики туберкулеза органов дыхания у детей и подростков // Туберкулез и болезни лег-

- ких. 2014. № 8. С. 70–71. [Mordovskaya L.I., Gurieva O.I., Ilyina, E.N., Timofeeva M.N. Use of the «Tubinferon» test system and samples with Diaskintest for the diagnosis of respiratory tuberculosis in children and adolescents. *Tuberkulez i bolezni legkih = Tuberculosis and Lung Diseases*, 2014, no. 8, pp. 70–71. (In Russ.)]
11. Общероссийская общественная организация «Российское общество фтизиатров». Клинические рекомендации. Туберкулез у взрослых. 2020, 121 с. [All-Russian public organization “Russian Society of Phthisiologists”. Clinical guidelines. Tuberculosis in adults. 2020. 121 p. (In Russ.)]
 12. Российское Общество Фтизиатров. Клинические рекомендации. Туберкулез у детей. 2020. 59 с. [Russian Society of Phthisiatricians. Clinical guidelines. Tuberculosis in children. 2020. 59 p. (In Russ.)]
 13. Слогоцкая Л.В., Богородская Е.М., Леви Д.Т., Сельцовский П.П. 10 лет кожной пробе с аллергеном туберкулезным рекомбинантным (Диаскинтест) и 110 лет туберкулиновой пробе Манту — сравнение эффективности // Биопрепараты. Профилактика, диагностика, лечение. 2017. Т. 17, № 2. С. 67–77. [Slogotskaya L.V., Bogorodskaya E.M., Levi D.T., Seltsovsky P.P. Comparison of efficacy of Diaskintest®, a skin test with a recombinant tuberculosis allergen, used for 10 years and Mantoux tuberculin sensitivity test used for 110 years. *Biopreparaty. Profilaktika, diagnostika, lechenie = Biopreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment*, 2017, vol. 17, no. 2, pp. 67–77. (In Russ.)]
 14. Слогоцкая Л.В., Сенчихина О.Ю., Никитина, Г.В., Богородская Е.М. Эффективность кожного теста с аллергеном туберкулезным рекомбинантным при выявлении туберкулеза у детей и подростков Москвы в 2013 г. // Педиатрическая фармакология. 2015. Т. 12, № 1. С. 99–103. [Slogotskaya L.V., Senchikhina O.Yu., Nikitina G.V., Bogorodskaya E.M. Effectiveness of tuberculous recombinant allergen skin tests for detecting tuberculosis in children and adolescents of Moscow in 2013. *Pediatricheskaya farmakologiya = Pediatric Pharmacology*, 2015, vol. 12, no. 1, pp. 99–103. (In Russ.)] doi: 10.15690/pf.v12i1.1255
 15. Сотнева И.Б. Опыт применения аллергена туберкулезного рекомбинантного для массового обследования на туберкулез детей и подростков в Нижегородской области // Вопросы практической педиатрии. 2017. Т. 12, № 4. С. 43–48. [Sotneva I.B. An experience of using recombinant tuberculosis allergen for mass screening for tuberculosis among children and adolescents in the Nizhny Novgorod region. *Voprosy prakticheskoy pediatrii = Clinical Practice in Pediatrics*, 2017, vol. 12, no. 4, pp. 43–48. (In Russ.)] doi: 10.20953/1817-7646-2017-4-43-48
 16. Федеральная служба по надзору в сфере здравоохранения (Росздравнадзор). Тубинферон. ФСР 2011/11269, 2021. [Federal Service for Surveillance in Healthcare (Roszdravnadzor). Tubinferon. FSR 2011/11269, 2021. (In Russ.)] URL: <https://roszdravnadzor.gov.ru/services>
 17. Федеральное казначейство. Единая информационная система в сфере закупок, 2021. [Federal Treasury. Unified information system in the field of procurement, 2021. (In Russ.)] URL: <https://zakupki.gov.ru/epz/main/public/home.html>
 18. Шаповал И.Н. Здравоохранение в России. 2019: стат. сб. М.: Росстат, 2019. 170 с. [Shapoval I.N. Healthcare in Russia. 2019: statistical collection. *Moscow: Rosstat*, 2019. 170 p. (In Russ.)]
 19. Adams L.V., Starke J.R. Latent tuberculosis infection in children. *UpToDate*, 2018. 12 p.
 20. Andersen P., Munk M.E., Pollock J.M., Doherty T.M. Specific immune-based diagnosis of tuberculosis. *Lancet*, 2000, vol. 356, no. 9235, pp. 1099–1104. doi: 10.1016/S0140-6736(00)02742-2
 21. Campbell J.R., Winters N., Menzies D. Absolute risk of tuberculosis among untreated populations with a positive tuberculin skin test or interferon-gamma release assay result: systematic review and meta-analysis. *Br. Med. J.*, 2020, vol. 368: m549. doi: 10.1136/bmj.m549
 22. Croke L.M. Tuberculosis: guidelines for diagnosis from the ATS, IDSA, and CDC. *Am. Fam. Physician.*, 2018, vol. 97, no. 1, pp. 56–58.
 23. Da Costa C., Walker B., Bonavia A. Tuberculosis vaccines — state of the art, and novel approaches to vaccine development. *Int. J. Infect. Dis.*, 2015, vol. 32, pp. 5–12. doi: 10.1016/j.ijid.2014.11.026
 24. Doan T.N., Eisen D.P., Rose M.T., Slack A., Stearnes G. Interferon-gamma release assay for the diagnosis of latent tuberculosis infection: a latent-class analysis. *PLoS One*, 2017, vol. 12, no. 11: e0188631. doi: 10.1371/journal.pone.0188631
 25. European Centre for Disease Prevention and Control. Review of reviews and guidelines on target groups, diagnosis, treatment and programmatic issues for implementation of latent tuberculosis management. *Stockholm: ECDC*, 2018. 127 p.
 26. Gong W., Liang Y., Wu X. The current status, challenges, and future developments of new tuberculosis vaccines. *Hum. Vaccin. Immunother.*, 2018, vol. 14, no. 7, pp. 1697–1716. doi: 10.1080/21645515.2018.1458806
 27. Jurčev-Savičević A., Katalinić-Janković V., Miše K., Gudelj I. The role of interferon-gamma release assay in tuberculosis control. *Arh. Hig. Rada Toksikol.*, 2012, vol. 63, no. 1, pp. 49–58. doi: 10.2478/10004-1254-63-2012-2134
 28. Lalvani A., Whitworth H.S. Progress in interferon-gamma release assay development and applications: an unfolding story of translational research. *Ann. Transl. Med.*, 2019, vol. 7 (suppl. 3). doi: 10.21037/atm.2019.05.76
 29. Lewinsohn D.M., Leonard M.K., LoBue P.A., Cohn D.L., Daley C.L., Desmond E., Keane J., Lewinsohn D.A., Loeffler A.M., Mazurek G.H., O’Brien R.J., Pai M., Richeldi L., Salfinger M., Shinnick T.M., Sterling T.R., Warshauer D.M., Woods G.L. Official American Thoracic Society/Infectious Diseases Society of America/Centers for Disease Control and Prevention clinical practice guidelines: diagnosis of tuberculosis in adults and children. *Clin. Infect. Dis.*, 2017, vol. 64, no. 2, pp. e1–e33. doi: 10.1093/cid/ciw778
 30. Li F., Xu M., Qin C., Xia L., Xiong Y., Xi X., Fan X., Gu J., Pu J., Wu Q., Lu S., Wang G. Recombinant fusion ESAT6-CFP10 immunogen as a skin test reagent for tuberculosis diagnosis: an open-label, randomized, two-centre phase 2a clinical trial. *Clin. Microbiol.*, 2016, vol. 22, no. 10, pp. 889.e9–889.e16. doi: 10.1016/j.cmi.2016.07.015
 31. Menzies D. Approach to diagnosis of latent tuberculosis infection (tuberculosis screening) in adults. *UpToDate*, 2018. 15 p.
 32. Menzies D. Use of interferon-gamma release assays for diagnosis of latent tuberculosis infection (tuberculosis screening) in adults. *UpToDate*, 2018, 12 p.
 33. Menzies D., Schwartzman K., Pai M. Immune-based tests for tuberculosis. *Tuberculosis*, 2009, pp. 179–196.
 34. Nikitina I.Y., Karpina N.L., Kasimceva O.V., Gergert V.Y., Ergeshov A., Lyadova I.V. Comparative performance of QuantiFERON-TB Gold versus skin test with tuberculosis recombinant allergen (Diaskintest) among patients with suspected pulmonary tuberculosis in Russia. *Int. J. Infect. Dis.*, 2019, vol. 86, pp. 18–24. doi: 10.1016/j.ijid.2019.06.014

35. Pai M., Kalantri S., Dheda K. New tools and emerging technologies for the diagnosis of tuberculosis: part I. Latent tuberculosis. *Expert Rev. Mol. Diagn.*, 2006, vol. 6, no. 3, pp. 413–422. doi: 10.1586/14737159.6.3.413
36. Refai A., Gritli S., Barbouche M.R., Essafi M. Mycobacterium tuberculosis virulent factor ESAT-6 drives macrophage differentiation toward the pro-inflammatory M1 phenotype and subsequently switches it to the anti-inflammatory M2 phenotype. *Front. Cell. Infect. Microbiol.*, 2018, vol. 8: 327. doi: 10.3389/fcimb.2018.00327
37. Ru H., Liu X., Lin C., Yang J., Chen F., Sun R., Zhang L., Liu J. The impact of genome region of difference 4 (RD4) on mycobacterial virulence and BCG efficacy. *Front. Cell. Infect. Microbiol.*, 2017, vol. 7: 239. doi: 10.3389/fcimb.2017.00239
38. Ruhwald M., Aggerbeck H., Gallardo R.V., Hoff S.T., Villate J.I., Borregaard B., Martinez J.A., Kromann I., Penas A., Anibarro L.L., de Souza-Galvão M.L., Andersen P., Caylá J.A. Safety and efficacy of the C-Tb skin test to diagnose Mycobacterium tuberculosis infection, compared with an interferon γ release assay and the tuberculin skin test: a phase 3, double-blind, randomised, controlled trial. *Lancet Respir.*, 2017, vol. 5, no. 4, pp. 259–268. doi: 10.1016/S2213-2600(16)30436-2
39. Slogotskaya L., Bogorodskaya E., Sentchichina O., Ivanova D., Nikitina G., Litvinov V., Seltsovsky P., Kudlay D., Nikolenko N., Borisov S. Effectiveness of tuberculosis detection using a skin test with allergen recombinant (CFP-10-ESAT-6) in children. *Eur. Respiratory Soc.*, 2015, vol. 46: PA4524. doi: 10.1183/13993003.congress-2015.PA4524
40. Starshinova A., Dovgalyk I., Malkova A., Zinchenko Y., Pavlova M., Belyaeva E., Basantsova N., Nazarenko M., Kudlay D., Yablonskiy P. Recombinant tuberculosis allergen (Diaskintest®) in tuberculosis diagnostic in Russia (meta-analysis). *Int. J. Mycobacteriology*, 2020, vol. 9, no. 4: 335. doi: 10.4103/ijmy.ijmy_131_20
41. Starshinova A., Zhuravlev V., Dovgaluk I., Pantelev A., Manina V., Zinchenko U., Istomina E., Pavlova M., Yablonskiy P. A comparison of intradermal test with recombinant tuberculosis allergen (diaskintest) with other immunologic tests in the diagnosis of tuberculosis infection. *Int. J. Mycobacteriol.*, 2018, vol. 7, no. 1, pp. 32–39. doi: 10.4103/ijmy.ijmy_17_18
42. Van Pinxteren L.A., Ravn P., Agger E.M., Pollock J., Andersen P. Diagnosis of tuberculosis based on the two specific antigens ESAT-6 and CFP10. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.*, 2000, vol. 7, no. 2, pp. 155–160. doi: 10.1128/CDLI.7.2.155-160.2000
43. Welin A., Björnsdóttir H., Winther M., Christenson K., Oprea T., Karlsson A., Forsman H., Dahlgren C., Bylund J. CFP-10 from Mycobacterium tuberculosis selectively activates human neutrophils through a pertussis toxin-sensitive chemotactic receptor. *Infect. Immun. Am. Soc. Microbiol.*, 2015, vol. 83, no. 1, pp. 205–213. doi: 10.1128/IAI.02493-14
44. Zhang H., Wang L., Li F., Lu S., Xia J. Induration or erythema diameter not less than 5 mm as results of recombinant fusion protein ESAT6-CFP10 skin test for detecting M. tuberculosis infection. *BMC Infect. Dis.*, 2020, vol. 20: 685. doi: 10.1186/s12879-020-05413-9
45. Zhou G., Luo Q., Luo S., Teng Z., Ji Z., Yang J., Bao F. Interferon- γ release assays or tuberculin skin test for detection and management of latent tuberculosis infection: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect. Dis.*, 2020, vol. 20, no. 12, pp. 1457–1469. doi: 10.1016/S1473-3099(20)30276-0

Авторы:

Кудлай Д.А., д.м.н., профессор кафедры фармакологии Института фармации ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет), Москва, Россия; ведущий научный сотрудник лаборатории персонализированной медицины и молекулярной иммунологии ФГБУ ГНЦ Институт иммунологии ФМБА России, Москва, Россия;
Докторова Н.П., к.м.н., научный сотрудник ФГБУ Национальный медицинский исследовательский центр фтизиопульмонологии и инфекционных заболеваний Минздрава России, Москва, Россия.

Authors:

Kudlay D.A., PhD, MD (Medicine), Professor of Pharmacology Department, Institute of Pharmacy, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russian Federation; Leading Researcher, Laboratory of Personalized Medicine and Molecular Immunology, National Research Center — Institute of Immunology, Federal Medical-Biological Agency of Russia, Moscow, Russian Federation;
Doktorova N.P., PhD, MD (Medicine), Researcher, National Medical Research Center for Phthiopulmonology and Infectious Diseases, Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation.

Поступила в редакцию 02.07.2021
 Принята к печати 15.02.2022

Received 02.07.2021
 Accepted 15.02.2022