

**АНТИГЕНЫ ESAT6 И CFP10 КАК СУБСТРАТ
БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОЙ МОЛЕКУЛЫ. ВОЗМОЖНОСТИ
ПРИМЕНЕНИЯ В МЕДИЦИНЕ**

Кудлай Д.А.^{1,2}

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение «Государственный научный центр «Институт иммунологии» Федерального медико-биологического агентства 115522, г. Москва, Российская Федерация

²Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), 119991, г. Москва, Российская Федерация

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

Kudlai D. A.^{a, b}

^aNational Research Center – Institute of Immunology Federal Medical-Biological Agency of Russia, Moscow, Russia

^bThe First Moscow State Medical University named after I. M. Sechenov, Moscow, Russia

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 самого первого внутрикожной туберкулиновой пробы (ВТП). В статье описан принцип действия и опыт применения диагностических инструментов на основе ESAT6 и CFP10, 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 и тем самым повысить эффективность диагностики туберкулеза. В исследованиях доказана высокая чувствительность и специфичность тестов на основе ESAT-6 и CFP-10, благодаря чему на результаты тестирования перестало влиять наличие вакцинации BCG в прошлом, снизилась частота ложноположительных результатов из-за реакции на нетуберкулезные микобактерии. Результаты крупного мета-анализа 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 (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 мета-

анализа 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: ESAT6, CFP10, *Mycobacterium tuberculosis*, биотехнологическая платформа, interferon-gamma release assays, IGRA-тесты, T-SPOT.TB, аллерген туберкулезный рекомбинантный, С-Тб, рекомбинантный белок ESAT6-CFP10

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 thereby increasing efficacy in tuberculosis diagnostics. 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 CFP10:ESAT6

1 **Введение**

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

13 Важность и необходимость рекомбинантных технологий обусловлена
14 не только огромным потенциалом создания новых белковых молекул, но и
15 рядом ограничений, связанных с источниками получения белка и
16 особенностями реакции живых организмов на чужеродные белки. В силу
17 сложности своего строения белки могут синтезироваться только живыми
18 организмами, а выделение их из живых организмов связано с рядом проблем,
19 к числу которых относятся потенциальные различия в строении одного и
20 того же белка и загрязнение целевого экстракта балластными веществами.
21 Вторая проблема – любые чужеродные белки живыми организмами
22 воспринимаются как антигены и при повторной встрече организма с
23 антигеном развивается иммунный ответ. Введение гетерогенного по
24 строению белка, смеси белков или смеси белков с другими
25 низкомолекулярными соединениями усиливает иммунную реакцию на их
26 повторное введение. При создании лекарственных средств в большинстве
27 случаев (кроме, возможно, пищеварительных ферментов) это является
28 неприемлемым – фармацевтическая субстанция должна быть
29 стандартизованной и минимально иммуногенной, а применение

30 рекомбинантных технологий позволяет в значительной мере устранить
31 перечисленные проблемы. Напротив, при создании вакцин используются
32 полноценные бактерии или вирусы, в виде ослабленных (аттенуированных)
33 штаммов или их фрагменты именно с целью формирования надежного
34 иммунитета, формируемого за счет воздействия целого комплекса антигенов.
35 Промежуточное положение между лекарственными средствами и вакцинами
36 занимают диагностические средства. В зависимости от цели применения, их
37 состав и чистота могут заметно различаться, поэтому в некоторых случаях,
38 например, при диагностике наличия аллергии, распространены экстракты из
39 источника аллергена, содержащие большие количества антигенов и
40 балластных веществ, в других случаях может требоваться более чистое и
41 однообразное по строению средство, так как это влияет на такие важные
42 параметры любого диагностического теста как чувствительность и
43 специфичность.

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

48

49 **Предпосылки разработки биотехнологической платформы на основе** 50 **белков ESAT-6 и CFP-10 для совершенствования диагностики латентной** 51 **туберкулезной инфекции**

52 ESAT-6 и CFP-10 – белки, синтезируемые рядом микобактерий из
53 группы *M. tuberculosis complex* - *M. tuberculosis*, *M. kansasii*, *M. szulgai* и *M.*
54 *marinum* [30,1]. ESAT-6 (англ. early secreted antigenic target) - ранний
55 секретлируемый антиген с массой 6 кДа обладает литической активностью и
56 способствует проникновению микобактерии в клетку, а также
57 дестабилизирует фагосомы, позволяя микобактерии покинуть фагосому и
58 переместиться в цитозоль макрофага, тем самым избежав лизиса [37,44].

59 CFP-10 (англ. culture filtrate protein, син. Rv3874) - белок клеточного
60 фильтрата с массой 10 кДа, образующий комплекс с ESAT-6 и
61 обеспечивающий его доставку к месту действия [44]. Оба белка являются
62 антигенами микобактерий и широко используются в диагностике латентной
63 туберкулезной инфекции (ЛТИ), а также являются компонентами
64 противотуберкулезных вакцин, находящихся в данный момент на этапе
65 клинических исследований [27,24].

66 Арсенал средств для диагностики активного туберкулеза достаточно
67 широк – микроскопические методы, микробиологические методы,
68 молекулярно-генетическое тестирование, изучение клинических проявлений
69 заболеваний, лучевые методы визуализации легких и лимфатических узлов и
70 т.д. При этом для диагностики ЛТИ – формы заболевания, когда возбудитель
71 туберкулеза только присутствует в организме человека, но инфекционный
72 процесс ещё не начался – упомянутые методы диагностики не применимы
73 [34]. Особое внимание к ЛТИ вызвано тем, что, согласно современной
74 парадигме, лечение туберкулеза необходимо начинать на ранних стадиях,
75 желательнее на этапе ЛТИ, не дожидаясь проявления клинических признаков
76 заболевания. Такая практика обусловлена тем, что туберкулез является
77 жизнеугрожающим заболеванием, лечение которого затрудняется по мере его
78 прогрессирования; распространены формы туберкулеза с устойчивостью к
79 отдельным противотуберкулезным препаратам, что затрудняет и удлиняет
80 лечение; а также тем, что страдающие от туберкулеза могут инфицировать
81 окружающих [4]. Самым высоким риском развития туберкулеза обладают
82 люди, страдающие ВИЧ, часто контактирующие с больными туберкулезом,
83 заключенные и страдающие силикозом легких. Меньшим, но повышенным
84 по сравнению с общей популяцией, риском развития туберкулеза обладают
85 беженцы, недавно прибывшие иммигранты, люди, нуждающиеся в диализе,
86 недавно перенесшие пересадку органов, а также получающие
87 иммуносупрессирующую терапию [22].

88 До 1996 года единственным широко применяемым и хорошо
89 изученным способом массового скрининга на туберкулез была
90 туберкулиновая проба (проба Манту, внутрикожная туберкулиновая проба
91 (ВТП)) – внутрикожное введение туберкулина (здесь и далее под
92 туберкулином имеется ввиду туберкулин PPD, от англ. purified protein
93 derivative) с последующей регистрацией ответа на введение. Возникновение
94 ответа, проявляющегося возникновением инфильтрата (папулы) в месте
95 введения, должно свидетельствовать о наличии сенсibilизации организма
96 возбудителем туберкулеза и о его присутствии в организме, что является
97 основанием для начала превентивной противотуберкулезной терапии, однако
98 в действительности причин ответа несколько больше, что затрудняет
99 интерпретацию результатов. Первое, на что следует указать, это то, что
100 туберкулин является не чистым соединением, а смесью - фильтратом убитых
101 нагреванием *M. tuberculosis* (в случае туберкулина PPDRT23 и PPD-S) или *M.*
102 *tuberculosis* и *M. bovis* (в случае туберкулина PPD-L). Следствием
103 упомянутого факта является достаточно высокая чувствительность теста, но
104 низкая специфичность. Возникновение ответа на его введение может
105 означать как сенсibilизацию, указывающую на присутствие в организме
106 микобактерий, способных вызвать туберкулез, так и присутствие в организме
107 нетуберкулезных микобактерий, которые не способны вызвать туберкулез
108 или наличие в анамнезе вакцинации БЦЖ (вакцина, содержащая
109 аттенуированный штамм *M. bovis* субштамма BCG-1, обладающий
110 ослабленной вирулентностью и практически полной неспособностью вызвать
111 туберкулез у человека). Последний фактор особенно сильно влияет на
112 интерпретацию результатов ввиду того, что вакцина БЦЖ является очень
113 распространенной в ряде стран и в том числе в РФ. Так, в РФ, БЦЖ
114 прививаются около 95% детей, что означает, что у большинства из них ВТП
115 укажет на потенциальное присутствие возбудителя туберкулеза, что на деле
116 окажется ложно-положительным результатом в большинстве случаев [19,5].

117 Подводя итоги массовой туберкулинодиагностики, проведенной в Москве с
118 2000 по 2006 г., было подсчитано, что не более 1% от положительно
119 ответивших на ВТП детей и подростков в итоге были взяты под
120 диспансерное наблюдение. Специфичность ВТП составила 41,7% у детей и
121 22,2% у подростков. Сходные результаты были получены и в других
122 субъектах [14]. Результаты другого сравнительного исследования показали,
123 что каждый второй ребенок, получающий превентивную химиотерапию на
124 основании результатов ВТП, может получать её необоснованно [2].

125 Стоит отметить и достаточно высокую частоту ложно-отрицательных
126 результатов ВТП у отдельных групп лиц: пациентов с активным
127 туберкулезом, у которых частота ложно-отрицательных результатов ВТП
128 может достигать 17% и дополнительно увеличиваться по мере возрастания
129 тяжести инфекционного процесса; пациентов с ВИЧ, у которых частота
130 ложно-отрицательных результатов может достигать 28% при уровне CD4-
131 клеток 400-500 кл/мкл и до 100% при уровне CD4-клеток менее 200 кл/мл; у
132 пожилых людей, у которых частота ложно-отрицательных результатов может
133 достигать 30%. К другим недостаткам этого теста относятся: низкая
134 чувствительность у иммуноскомпрометированных пациентов (например, у
135 пациентов с ВИЧ), необходимость повторного посещения врача для
136 интерпретации результатов [34]. Суммируя вышеперечисленные недостатки,
137 можно сказать, что основной проблемой ВТП является высокая частота
138 ложноположительных результатов, что приводит к проведению излишних
139 медицинских манипуляций с пациентами и нерациональному расходованию
140 медицинских ресурсов [5]. К положительным чертам ВТП можно отнести
141 достаточно высокую изученность теста, а также сравнительно невысокую
142 ресурсоемкость метода.

143 Недостатки ВТП и отсутствие альтернатив стимулировали проведение
144 поиска новых методов диагностики ЛТИ. В 1996 году было закончено
145 секвенирование генома разных видов микобактерий и их сравнительный

146 анализ позволил выявить наличие так называемых «регионов различий»
147 (англ. region of difference, RD-1, RD-2 и т.д.) - фрагментов генома,
148 обнаруженных лишь у части видов и отсутствующих у других [43]. На
149 данный момент обнаружено не менее 20 таких региона в геномах
150 микобактерий. В геноме *M. tuberculosis* выявлены 14 регионов различий,
151 которые также присутствуют лишь у ограниченного числа других видов
152 микобактерий [38]. В теории, гены обнаруженных регионов могли
153 кодировать белки, отсутствующие у других видов микобактерий,
154 соответственно обнаружение этих специфических белков указывало бы на
155 присутствие в организме именно тех видов микобактерий, которые способны
156 его продуцировать. Потенциально, открытие таких белков позволило бы
157 создать на их основе высокоспецифичные диагностические тесты [21].

158 Впоследствии был открыт целый ряд таких специфических белков
159 (MPT51, MPT59 MPT64 (Ag85B, Rv1886c), MTB8, MTB48, Rv0934, Rv1837c
160 и др.), однако результаты экспериментов подтвердили клиническую
161 применимость лишь небольшого их числа. Проблема заключалась в том, что
162 тесты на их основе не демонстрировали достаточного уровня
163 чувствительности, что нивелировало их специфичность. Среди самых
164 эффективных белков оказались ESAT-6 и CFP-10, гены которых находятся в
165 RD-1. Тесты, основанные на комбинации этих белков, продемонстрировали
166 более высокую чувствительность по сравнению с тестами на основе какого-
167 либо одного из них, что предопределило их дальнейшее совместное
168 использование [1,43].

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

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

179

180 **IGRA-тесты**

181 Исторически первыми появились лабораторные методы *in-vitro*. Как и
182 внутрикожные методы они основаны на механизме клеточного ответа:
183 организм, в котором присутствуют микобактерии, способные вызвать
184 туберкулез, сенсibilизирован к антигенам микобактерий и иммунные
185 клетки Т-клеточного звена «знакомые» с антигеном при встрече с ним
186 запускают процесс воспаления [34]. При постановке внутрикожных проб
187 воспаление проявляется характерным инфильтратом в месте введения. При
188 лабораторном исследовании у пациента берется образец крови с
189 циркулирующими в ней Т-лимфоцитами, затем в образец крови добавляется
190 микобактериальный антиген или их смесь, которые, при взаимодействии с
191 сенсibilизированными Т-лимфоцитами провоцируют выделение ими гамма-
192 интерферона, который подвергается количественному анализу и при
193 превышении пороговых значений указывает на наличие в организме
194 активных микобактерий [21]. Тесты на основе этого принципа получили
195 название IGRA-тесты от английского *interferon-gamma release assays*.
196 Первоначально, в качестве антигена применялся туберкулин, однако *in-vitro*
197 методы с его использованием характеризовались наличием практически тех
198 же недостатков, за исключением того, что результаты получились быстрее и
199 не требовалось повторное посещение пациентом врача [34,43]. С открытием
200 антигенов, кодируемых в регионах различий, туберкулин был заменен на
201 них. На данный момент в мире общепризнаны и широко применяются два
202 валидированных IGRA-теста: T-SPOT.TB и QuantiFERON-TB Gold (QFT).

203 Они отличаются друг от друга составом антигенов и критериями оценки
204 результатов тестирования. При проведении T-SPOT.TB используются
205 рекомбинантные антигены ESAT-6 и CFP-10. Образец крови пациента
206 инкубируется течение 16-24 ч. в присутствии антигенов, а затем при помощи
207 иммуноферментного анализа (ИФА) по методу ELISPOT проводится подсчет
208 числа Т-лимфоцитов, выделяющих гамма-интерферон [28]. В качестве
209 антигенов в тесте QFT выступают рекомбинантные ESAT-6, CFP-10 и
210 TB7.7(p4). Образец крови пациента подвергается центрифугированию с
211 последующим инкубированием с антигенами в течение 16-24 ч. Уровень
212 гамма-интерферона определяется с помощью ИФА по методу ELISA – путем
213 подсчета выделившегося гамма-интерферона [36].

214 Чувствительность IGRA-тестов при диагностике ЛТИ составляет около
215 68-90% для T-SPOT.TB и 46-80% для QFT. Оба теста обладают высокой и
216 сопоставимой специфичностью >95% [33,25]. Для сравнения,
217 чувствительность ВТП в среднем составляет около 80%, при этом если в
218 качестве критерия положительной пробы использовать размер папулы 5 мм,
219 10 мм или 15 мм, то чувствительность будет составлять около 98%, 70-90% и
220 40-60% соответственно. Специфичность ВТП при диагностике ЛТИ у лиц без
221 вакцинации БЦЖ может достигать 100%, но снижается до 60-80% при ее
222 наличии [14,33,25,32]. Важно отметить, что, говоря о чувствительности и
223 специфичности любого метода диагностики ЛТИ необходимо учитывать, что
224 все оценки являются приблизительными, так как золотого стандарта
225 диагностики ЛТИ по прежнему нет [4]. Не стоит также забывать, что высокие
226 показатели диагностической ценности, продемонстрированные в условиях
227 хорошо спланированного и проведенного эксперимента, не всегда
228 достигаются в реальных условиях. Так, по замечанию авторов,
229 проанализировавших опыт применения IGRA-тестов в РФ, результаты их
230 применения были несколько ниже, чем заявлено в международных
231 рекомендациях [41].

232 Результаты крупного мета-анализа исследований с участием пациентов
233 из групп повышенного риска показали, что риск развития туберкулеза у лиц с
234 положительным тестом превышает риск развития туберкулеза у лиц с
235 отрицательным тестом в случае IGRA-тестов в 9,35 раз (95% доверительный
236 интервал (ДИ (6,48-13,49)), в то время как в случае ВТП - в 4,24 раза (95% ДИ
237 (3,3-5,46)). Положительная диагностическая ценность (англ. positive
238 predictive value) для IGRA-тестов и ВТП составила 4,2% и 1,6%
239 соответственно, а негативная диагностическая ценность (англ. negative
240 predictive value) – 99,4% и 99,1% соответственно. Риск развития туберкулеза
241 у лиц с положительным результатом теста не получившим
242 профилактического лечения превысил риск у лиц, получивших лечение, при
243 использовании IGRA-тестов в 2,36 раза (95% ДИ (1,06-5,23)) и при
244 использовании ВТП – 1,35 раза (95% ДИ (0,59-3,12)) Таким образом, было
245 показано, что IGRA-тесты обладают большей предсказательной ценностью,
246 чем ВТП [46].

247 В качестве аналога для замены более дорогого импортного теста QFT
248 был разработан отечественный in-vitro IGRA-тест на основе ESAT-6, CFP-10
249 и туберкулина, получивший название Тубинферон. Доказательная база
250 данного теста ограничена и противоречива, что не позволяет сделать
251 определенный вывод о диагностической ценности данного метода
252 [11,9,7,8,10]. Тубинферон разрабатывался как альтернатива QFT, поэтому в
253 качестве косвенной оценки ценности нового метода можно использовать
254 данные о частоте совпадений между двумя тестами. Так, по результатам
255 параллельных исследований было установлено, что у детей результаты
256 Тубинферона и QFT совпадали в 68% [9,7] и в 74,6% случаев (в то время как
257 АТР и QFT совпадали в 90% случаев) [8]. При использовании QFT в качестве
258 эталона, чувствительность и специфичность Тубинферона в другом
259 исследовании составила 64,7% и 75,9% соответственно [10]. На момент

260 написания статьи тест не имеет действующего регистрационного
261 удостоверения в РФ [17].

262

263 **Внутрикожные пробы с ESAT-6 и CFP-10**

264 Реализация ESAT-6/CFP-10-платформы в виде внутрикожных проб
265 впервые была реализована в зарегистрированном в РФ диагностическом
266 тесте на основе аллергена туберкулезного рекомбинантного (АТР, торговое
267 наименование Диаскинтест, ЛСР-006435/08, зарегистрирован 11.08.2008). В
268 указанном тесте применяются не сами белки ESAT-6 и CFP-10, а единый
269 рекомбинантный белок, состоящий из ESAT-6 и CFP-10 и продуцируемый
270 генетически модифицированной культурой *E. coli* BL21 (DE3)/pCFP-ESAT.
271 Идея создания АТР заключалась в разработке более специфичного теста по
272 сравнению с ВТП, но пригодного для массового скрининга [1].

273 АТР имеет более чем 10-летний опыт клинического применения.
274 Суммарно, в 121 публикации по результатам использования АТР, тест
275 применен у 12 026 761 пациента из которых не менее 4 млн. – дети [41].
276 Анализ государственных закупок показал, что с 2013 года по настоящее
277 время было закуплено более 5 млн. упаковок АТР, что в пересчете на дозы
278 превышает 170 млн. доз [18].

279 По результатам крупного мета-анализа, включившего результаты 61
280 публикации по результатам применения АТР общая точность АТР составляет
281 95,1%, 95% ДИ (95,06-95,1), у ВИЧ-положительных лиц – 92,4% (91,9-92,7).
282 Чувствительность АТР у пациентов с туберкулезом составляет 86,0%, 95%
283 ДИ (80,0-92,0) и 100% у детей с туберкулезом. Сопоставление частоты
284 положительных проб у пациентов с туберкулезом показало, что при
285 применении АТР (80,5%) они наблюдались чаще чем при QFT (67,0%) и T-
286 SPOT.TB (72,2%), но реже, чем при применении ВТП (91,2%). У пациентов с
287 туберкулезом в сочетании с ВИЧ частота положительных результатов с АТР
288 (59,3%) была на уровне с QFT (61,3%) и несколько ниже, чем при

289 использовании T-SPOT.TB (67,2%), но значительно выше, чем при ВТП
290 (15,1%) [41].

291 В другом крупном объединённом анализе 33 работ, из которых были
292 извлечены данные о результатах применения АТР и ВТП у 2 126 493 детей,
293 было установлено, что диагностическая ценность АТР выше в группе
294 подростков с 15 до 18 лет, чем в группе детей от 0 до 14 лет. Расчётная
295 чувствительность и специфичность АТР у подростков составила 100% и
296 97,9% соответственно, в то время как при применении ВТП – 100% и 10,2%
297 соответственно [6].

298 В сравнительном исследовании АТР и QFT, в котором принял участие
299 181 человек, было показано, что у взрослых и детей с туберкулезом
300 результаты обоих тестов достаточно согласованы: у взрослых
301 чувствительность АТР и QFT составила 68% и 82% соответственно, а
302 специфичность – по 88% при согласованности в результатах у 84%
303 пациентов; у детей чувствительность составила 73% и 65%, а специфичность
304 – 84% и 86%, при согласованности результатов у 90% детей. Также было
305 отмечено, что в подгруппах детей с туберкулезом, вызванным *M. tuberculosis*
306 и высокоактивным туберкулезом чувствительность АТР достигла 100%, в
307 отличии от QFT, показавшего результат 67% и 79%. Таким образом было
308 показано, что у взрослых чувствительность АТР несколько уступает QFT,
309 однако, напротив, у детей АТР оказался более чувствительным, но несколько
310 менее специфичным [35].

311 Ретроспективный анализ 860 историй болезней детей и взрослых без
312 ВИЧ, по вакцинировавшимся БЦЖ, прошедших обследование в ФГБУ
313 «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт
314 фтизиопульмонологии» с использованием АТР, QFT и T-SPOT.TB показал,
315 что у детей наблюдается почти полная согласованность при использовании
316 данных тестов: 100% у АТР и T-SPOT.TB, и 97,1% у АТР и QFT. В
317 подгруппе взрослых результаты оказались менее согласованными – в 80,5%

318 случаев между АТР и Т-SPOT.TB и в 63,6% случаев между АТР и QFT.
319 Рассчитанная чувствительность у взрослых с туберкулёзом вызванным M.
320 tuberculosis составила 88,7% для АТР, 90,6% для Т-SPOT.TB и 87,0% для
321 QFT. Согласно полученным результатам АТР оказался сопоставим по своим
322 диагностическим свойствам с QFT и Т-SPOT.TB, при этом у детей
323 наблюдалось почти 100% совпадение результатов тестирования [42].

324 В литературе описаны следующие положительные изменения в
325 диагностике туберкулеза, возникшие после внедрения АТР: при диагностике
326 локальных форм туберкулеза удалось повысить выявляемость на 22,9% и
327 избежать гипердиагностики в 20,7% случаев [5]; значительно повысить
328 выявляемость активного туберкулеза у детей и подростков от 1,75 раза до 24
329 раз и 37,7 раза [16,15,40]; значительно повысить выявляемость
330 посттуберкулезных изменений туберкулеза у детей и подростков в 39,2 раза
331 [15]; снизить частоту назначения превентивной химиотерапии в 5 раз (по
332 сравнению с частотой назначения после положительного ответа на ВТП) и
333 привести в итоге к снижению заболеваемости туберкулезом [15]. Было
334 отмечено, что АТР может давать положительные результаты у детей с
335 монотонной ВТП, которые вследствие этого не подлежали диспансерному
336 наблюдению, что расширяет диагностические возможности для этой части
337 популяции [37]. С помощью АТР возможно провести дифференциальную
338 диагностику туберкулеза и поствакцинальных осложнений после вакцинации
339 БЦЖ [1]. Специфичность АТР значительно превышает специфичность ВТП в
340 случаях неактивного туберкулеза легочной и внелёгочных локализаций, а
341 также нетуберкулезных заболеваний внелёгочной локализации – частота
342 ложноположительных результатов при применении ВТП у таких пациентов
343 достигает 70%. В целом, применение АТР позволяет на 65-99% снизить
344 частоту ложноположительных результатов с ВТП [1].

345 В настоящее время в клинической разработке находятся ещё 2
346 диагностических теста на основе ESAT-6 и CFP-10: датский тест С-Тб,

347 являющийся комбинацией ESAT-6 и CFP-10 в соотношении 1:1, и китайский,
348 представляющий собой рекомбинантный белок ESAT6-CFP10.

349 По итогам исследования С-Тб частота положительных результатов
350 среди здоровых пациентов, нечасто и часто контактирующих с больными
351 туберкулезом имеет высокую согласованность с QFT – результаты совпадают
352 у 94% пациентов. В то же время у пациентов с туберкулезом частота
353 положительных реакций на С-Тб составила лишь 67%, против 81% на QFT и
354 90% на ВТП. Частота положительного ответа на С-Тб среди здоровых лиц
355 составила 3% по сравнению с 22% при использовании ВТП, у лиц с
356 нечастыми контактами – 16% по сравнению с 22% соответственно, и у лиц с
357 частыми контактами – 43% и 51% соответственно [39].

358 В клинических исследованиях китайского теста оценивались разные
359 дозировки белка ESAT6-CFP10, а также такие параметры как временной
360 промежуток оценки, критерии оценки – размер папулы или размер эритемы.
361 Полученные результаты показывают, что чувствительность нового теста
362 составляет от 72,14% до 100%, а специфичность – от 89,83% до 97,49%
363 31,45].

364

365 **Вакцины на основе ESAT-6 и CFP-10**

366 На данный момент единственной противотуберкулезной вакциной
367 является вакцина БЦЖ, тем не менее в разработке находится не менее 25
368 вакцин. Часть из них содержит в своем составе ESAT-6 и/или CFP-10.
369 Субъединичная вакцина АЕС/BC02 основана на рекомбинантном белке
370 Ag85b-ESAT6-CFP10. Другие субъединичные вакцины, содержащие в
371 составе ESAT-6: H1:IC31, H1:CAF01, H1:LTK63, H56:IC31/ AERAS-456. Не
372 содержит в своем составе, но экспрессирует ESAT-6 живая вакцина TB/FLU-
373 04L, основанная на векторе из вируса гриппа, экспрессирующего Ag85A и
374 ESAT-6 [27,24].

375 Несмотря на ожидаемую пользу от внедрения в клиническую практику
376 новых противотуберкулезных вакцин возможно проявление и некоторых
377 негативных последствий, связанных с сенсбилизацией к ESAT-6 и CFP-10.
378 По аналогии с вакцинацией БЦЖ, из-за которой ВТП может давать
379 ложноположительные результаты, применение вакцин на основе ESAT-6 и
380 CFP-10 может снизить специфичность диагностических средств на их основе
381 [29].

382

383 **Обзор клинических рекомендаций**

384 ВОЗ в своем документе 2018 г. настоятельно рекомендовала
385 рассматривать ВТП и IGRA-тесты как равнозначные варианты, обладающие
386 относительно одинаковыми преимуществами и недостатками при
387 диагностике ЛТИ. Выбор конкретного варианта следует делать исходя из
388 экономических и инфраструктурных возможностей, доступных в конкретном
389 случае [4].

390 В сводных рекомендациях Американского торакального общества
391 (англ. American Thoracic Society), Американского общества инфекционистов
392 (англ. Infectious Diseases Society of America) и Американского Центра по
393 контролю и профилактике заболеваний (англ. Centers for Disease Control and
394 Prevention) 2017 г. указано, что у детей до 5 лет предпочтительнее применять
395 ВТП вместо IGRA-тестов. У детей старше 5 лет и взрослых с подозрением на
396 ЛТИ, с низким и средним риском прогрессирования ЛТИ до активного
397 туберкулеза, прошедших вакцинацию БЦЖ и у лиц, которые могут повторно
398 не посетить врача для интерпретации результатов ВТП более
399 предпочтительным является применение IGRA-тестов. При этом уточняется,
400 что ВТП является надежной альтернативой, особенно в ситуациях, когда
401 IGRA-тесты недоступны, дороги или их применение неприемлемо по иным
402 причинам. У детей старше 5 лет и взрослых с подозрением на ЛТИ и
403 высоким риском прогрессирования ЛТИ до активного туберкулеза возможно

404 применение любого из тестов, так как данных о преимуществе одного перед
405 другим не достаточно [30,23].

406 Международное сообщество UpToDate в серии своих рекомендаций
407 также предлагает дифференцированный подход к диагностике ЛТИ. У детей
408 до двух лет рекомендуется использовать ВТП, у детей с 2 до 4 лет, особенно
409 прошедших вакцинацию БЦЖ, предпочтительнее использование IGRA-
410 тестов. У детей с 5 лет рекомендуется применение IGRA-тестов в ситуации,
411 когда большую важность имеет специфичность теста – например, у здоровых
412 детей или прошедших вакцинацию БЦЖ. В ситуациях, когда важна
413 чувствительность теста – дети с высоким риском ЛТИ или дети,
414 нуждающиеся в иммуносупрессивной терапии, могут быть использованы и
415 ВТП и IGRA-тесты [32,20].

416 В РФ предпочтительным тестом на ЛТИ у взрослых является проба с
417 АТР. IGRA-тесты рекомендуются лишь при отказе от проведения кожных
418 тестов или невозможности их проведения по медицинским показаниям [12].
419 У детей тестирование с целью формирования групп высокого риска развития
420 туберкулеза и диагностики заболевания рекомендуется использовать либо
421 пробы с АТР, либо IGRA-тесты. При отборе детей для ревакцинации БЦЖ и
422 при выявлении периода первичного инфицирования у детей до 7 лет
423 включительно рекомендуется применение ВТП, а в возрасте 8-14 лет –
424 применение пробы с АТР. У детей с подозрением на туберкулез для
425 верификации диагноза в комплексное клинико-лабораторное и
426 рентгенологическое обследование рекомендуется включение пробы с АТР
427 и/или IGRA-тестов [13].

428 Обзор клинических рекомендаций и руководств, предпринятый
429 Европейским центром профилактики и контроля болезней (англ. European
430 Centre for Disease Prevention and Control) в 2018 г. и объединивший в итоге 6
431 документов, опубликованных с 2010 по 2015 год показал, что ни один из
432 документов не предлагалось полного отказа от ВТП. В качестве

433 единственного или в качестве предпочтительного ВТП по-прежнему
434 рекомендуется у детей в возрасте до 5 лет. В общей популяции
435 рекомендуются оба теста, при этом в странах с низким и средним уровнем
436 доходов особенно не рекомендуется отказываться от ВТП. В качестве
437 предпочтительного или в дополнение к ВТП IGRA-тесты часто
438 рекомендуются в особых популяциях: у лиц с низким риском ЛТИ,
439 прошедших вакцинацию БЦЖ, бездомных или употребляющих
440 наркотические средства, иммигрантов из стран с высокой
441 распространенностью туберкулеза, лиц с ВИЧ и другими состояниями,
442 ассоциированными со снижением иммунитета [26].

443

444 **Обсуждение**

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

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

- 462 • Применение тестов на основе ESAT-6 и CFP-10 при массовых
463 скринингах в общей популяции позволяет значительно повысить
464 выявляемость ЛТИ и активного туберкулеза по сравнению с ВТП. При этом
465 заметно снижается частота ложноположительных результатов и
466 последующих необоснованных назначений противотуберкулезной терапии,
467 что также приводит и к экономии медицинских ресурсов;
- 468 • В странах с высокой частотой вакцинирования БЦЖ применение тестов
469 на основе ESAT-6 и CFP-10 позволяет в ещё большей степени снизить
470 частоту ложноположительных результатов при применении ВТП;
- 471 • Тесты с ESAT-6 и CFP-10 в отличие от ВТП позволяют
472 дифференцировать туберкулезный процесс и поствакцинальные осложнения
473 прививки БЦЖ;
- 474 • Повышается выявляемость пациентов с посттуберкулезными
475 изменениями;
- 476 • Появляется возможность отслеживать состояние пациентов с
477 монотонной реакцией на ВТП;
- 478 • Значительно повышается эффективность дифференцирования
479 активного туберкулеза от неактивного туберкулеза как легочной, так и
480 внелегочной локализации, а также нетуберкулезных заболеваний
481 внелегочных локализаций;
- 482 • In vitro тесты с ESAT-6 и CFP-10 являются надежными альтернативами
483 в ситуации, когда проведение внутрикожных тестов с туберкулином или
484 ESAT-6 и CFP-10 противопоказано или не представляется возможным по
485 другим причинам.

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

490 некоторых они рекомендуются в качестве предпочтительных средств
491 диагностики.

492 В научной литературе отсутствует консенсус относительно того
493 следует ли заменить ВТП на ESAT-6/CFP-10-тесты в тех странах, где это
494 позволяют ресурсы, или следует использовать их совместно. Тем не менее,
495 результаты клинических исследований и мнения отдельных экспертов
496 указывают, что диагностическая ценность совместного применения тестов
497 превосходит ценность их применения по отдельности.

498 Как было сказано ранее, тесты на основе ESAT-6 и CFP-10 реализованы
499 в разных форматах: тест-системы для *in vitro* диагностики и тесты для
500 внутрикожного применения. *In vitro* тесты считаются более точными по
501 сравнению с внутрикожными, при этом они дороже, требуют наличия
502 лаборатории и квалифицированного специалиста. В качестве
503 дополнительных преимуществ *in vitro* тестов часто выделяются быстрота
504 получения результата и отсутствие необходимости в повторном посещении
505 врача, однако на практике эти преимущества не всегда реализуются – при
506 массовых скринингах преимущество в скорости теряется, а для получения
507 пациентом результатов может потребоваться повторное посещение врача.
508 Внутрикожные тесты с ESAT-6 и CFP-10 не предполагают каких-либо
509 изменений в практике их применения по сравнению с ВТП, поэтому их
510 внедрение не требует дополнительных инфраструктурных или
511 организационных мероприятий, а их более высокая стоимость по сравнению
512 с ВТП компенсируется снижением расходов на диспансерное наблюдение
513 или превентивное лечение людей за счет снижения частоты
514 ложноположительных результатов. Таким образом, выбор в пользу *in vitro*
515 или внутрикожных тестов следует делать исходя из клинической
516 потребности и доступных ресурсов.

517

518 **Заключение**

МЕТАДАННЫЕ**Автор статьи, ответственный за переписку:**

Кудлай Дмитрий Анатольевич – д-р мед наук, профессор кафедры фармакологии Института Фармации ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет); ведущий научный сотрудник лаборатории персонализированной медицины и молекулярной иммунологии ФГБУ “ГНЦ Институт иммунологии” ФМБА России (Федеральное государственное бюджетное учреждение “Государственный научный центр “Институт иммунологии” Федерального медико-биологического агентства), Москва.

Dmitry A. Kudlay - Doctor of Medical Sciences, Professor of Pharmacology Department, Institute of Pharmacy, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University); Leading Researcher of Laboratory of Personalized Medicine and Molecular Immunology, NRC Institute of Immunology FMBA of Russia, Moscow.

Почтовый адрес для переписки:

123112, г. Москва, ул. Тестовская, 10, подъезд 2

10 ent 2, Testovskaya st., Moscow, 123112,

Телефон: +7 985 761 02 37

E-mail: D624254@gmail.com

Название статьи:

АНТИГЕНЫ ESAT6 И CFP10 КАК СУБСТРАТ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОЙ МОЛЕКУЛЫ. ВОЗМОЖНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ В МЕДИЦИНЕ

Количество страниц текста – 18

Количество рисунков – 0, **количество таблиц** - 0

Раздел журнала: обзор

Дата **оправления** **работы:** «2» июля 2021 года

ТИТУЛЬНЫЙ ЛИСТ

**АНТИГЕНЫ ESAT6 И CFP10 КАК СУБСТРАТ
БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОЙ МОЛЕКУЛЫ. ВОЗМОЖНОСТИ
ПРИМЕНЕНИЯ В МЕДИЦИНЕ**

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

Кудлай Д.А.^{1,2}

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение «Государственный научный центр «Институт иммунологии» Федерального медико-биологического агентства 115522, г. Москва, Российская Федерация

²Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), 119991, г. Москва, Российская Федерация

Сокращенное название статьи: **Антигены ESAT6 и CFP10 в медицине**

Ключевые слова: ESAT6, CFP10, *Mycobacterium tuberculosis*, биотехнологическая платформа, interferon-gamma release assays, IGRA, T-SPOT.TB, аллерген туберкулезный рекомбинантный, С-Тб, рекомбинантный белок ESAT6-CFP10

Адрес для переписки: E-mail: D624254@gmail.com , Тел. 8 985 761 02 37

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

№	Авторы, название публикации и источника, где она опубликована, выходные данные	ФИО, название публикации и источника на английском	Полный интернет-адрес (URL) цитируемой статьи
1	Аксенова В.А., Александров А.Н., Барановский П.М. и др. Кожная проба с препаратом "Диаскинтест" - новые возможности идентификации туберкулезной инфекции, Москва, 2011.	Aksenova V.A., Aleksandrov A.N., Baranovsky P.M. et al. Skin test with the "Diaskintest" - new opportunities for the identification of tuberculosis infection, Moscow, 2011	-
2	Аксёнова 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.	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 sovremennoi pediatrii — Current Pediatrics. 2015; 14 (3): 358–362. doi: 10.15690/vsp.v14i3.1371)	https://vsp.spr-journal.ru/jour/article/viewFile/699/508 [doi: 10.15690/vsp.v14i3.1371]

3	Аксёнова В.А., Леви Д.Т., Александрова Н.В. и др. Туберкулез у детей: современные методы профилактики и ранней диагностики // Доктор. Ру., 2017, № 15, С. 9–15.	Aksenova V. A., Levi D. T., Aleksandrova N. V., Kudlay D. A., Baryshnikova L. A., Klevno1 N. I. Pediatric TB: Modern methods for prevention and early diagnostics //Doctor. Ru. – 2017. – Т. 15. – №. 144. – С. 9-15.	https://journaldoctor.ru/upload/iblock/800/1.pdf
4	Всемирная организация здравоохранения. Обновленное сводное руководство по программному ведению случаев латентной туберкулезной инфекции. Женева: Всемирная организация здравоохранения. CC BY-NC-SA 3.0 IGO, 2018, 72 с.	Latent tuberculosis infection: updated and consolidated guidelines for programmatic management. WHO. CC BY-NC-SA 3.0 IGO, 2018, 72 p.	https://apps.who.int/iris/handle/10665/312059
5	Козлова А.В., Лазарева Л.В., Вальц И.А. Анализ эффективности Диаскинтеста как метода верификации туберкулеза у детей // Universum медицина и фармакология, 2019, № 4 (59).	Kozlova A.V., Lazareva L.V., Valts I.A. Analysis of efficiency of diaskintest as a method of verification of tuberculosis in children. Universum medicine and pharmacology, 2019, No. 4 (59).	https://moluch.ru/archive/260/59877/

6	<p>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) // <i>Pediatr. named GN Speransky</i>, 2020, Vol. 99, № 3.</p>	<p>D.A. Kudlay, A.A. Starshinova, I.F. Dovgalyuk. Recombinant tuberculosis allergen: 10 years of experience with the test in children and adolescents in the Russian Federation (meta-analysis data). <i>Pediatrica n.a. G.N. Speransky</i>. 2020; 99 (3): 121–129</p>	<p>http://www.almazovcentre.ru/wp-content/uploads/Аллерген-туберкулезный-рекомбинантный-10-летний-опыт-применения-теста-у-детей-и-подростков-в-РФ.pdf [doi: 10.24110/0031-403X-2020-99-3-121-129]</p>
7	<p>Лозовская М.Э., Белушков Б.В., Дементьева Е.А. и др. Импортозамещающая отечественная тест-система "Тубинферон" в сравнении со своим зарубежным аналогом QuantiFERON-TB Gold in Tube // IV Конгресс Национальной ассоциации фтизиатров, 2015, С. 211–212.</p>	<p>Lozovskaya M.E., Belushkov B.V., Dementyeva E.A. and others. Import-substituting domestic test system "Tubinferon" in comparison with its foreign analogue QuantiFERON-TB Gold in Tube // IV Congress of the National Association of Phthisiologists, 2015, pp. 211–212.</p>	<p>http://nasph.ru/2015/tezisy2_nojabr_2015.pdf</p>
8	<p>Лозовская М.Э., Белушков В.В., Гурина О.П. и др. Сопоставление лабораторных тестов Quantiferon, Тубинферон и</p>	<p>Losovskaya M.E., Belushkov V.V., Gurina O.P., Dementyeva E.A., Shibakova N.D., Vasilyeva E.B., Klochkova L.V.</p>	<p>https://cyberleninka.ru/article/n/sopostavlenie-laboratornyh-testov-quantiferon-tubinferon-i-diaskintesta-u-detey-s-tuberkuleznoy-infektsiey</p>

	Диаскинтеста у детей с туберкулезной инфекцией // Клиническая лабораторная диагностика, 2016, Vol. 61, № 12.	The comparison of laboratory tests Quantiferon, Tubinferon and Diaskintest in children with tuberculosis infection. Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics) 2016; 61 (12): 838-842. (in Russ.). DOI: http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2016-61-12-838-842	[doi: 10.18821/0869-2084-2016-61-12-838-842]
9	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, Vol. 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 // Pediatrician, 2014, Vol. 5, no. 3.	https://journals.eco-vector.com/pediatr/article/view/1120 [doi: https://doi.org/10.17816/PED5346-50]
10	Лозовская М.Э., Гурина О.П., Дементьева Е.А. и др. Особенности реагирования тестов in vitro и кожных	Lozovskaya M.E., Gurina O.P., Demytyeva E.A., Vasilyeva E.B., Klochkova L.V., Shibakova N.D.,	http://ojs3.gpmu.org/index.php/med-theory-and-practice/article/view/337

	проб с туберкулезными аллергенами в зависимости от варианта туберкулезной инфекции у детей // Медицина теория и практика, 2018, Vol. 3, № 3. С. 13–18.	Belushkov V.V. Features of reaction in vitro tests and skin tests with tubercular allergens depending on variants of the tuberculosis infection in children. // Medicine theory and practice, 2018, Vol. 3, No. 3. P. 13–18.	
11	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 легких, 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 // Tuberculosis and Lung Diseases, 2014, No. 8, pp. 70–71.	https://www.tibl-journal.com/jour/article/view/165/166
12	Общероссийская общественная организация «Российское общество фтизиатров». Клинические рекомендации. Туберкулез у взрослых. КР16/1, 2020, 121 с.	All-Russian public organization "Russian Society of Phthisiologists". Clinical guidelines. Tuberculosis in adults. KR16 / 1, 2020, 121 p.	https://cr.minzdrav.gov.ru/recomend/16_1

13	Российское Общество Фтизиатров. Клинические рекомендации. Туберкулез у детей. КР507/1, 2020, 59 с.	Russian Society of Phthisiatricians. Clinical guidelines. Tuberculosis in children. KR507 / 1, 2020, 59 p.	https://cr.minzdrav.gov.ru/recomend/507_1
14	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 (62).	Slogotskaya LV, Bogorodskaya EM, Levi DT, Seltsovsky PP. 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. BIOpreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment 2017; 17(2): 67–77.	https://www.biopreparations.ru/jour/article/view/84
15	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	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. Pediatric pharmacology.	https://www.pedpharma.ru/jour/article/view/477?locale=en_US [doi: https://doi.org/10.15690/pf.v12i1.1255]

	Москвы в 2013 г. // Педиатрическая фармакология, 2015, Vol. 12, № 1.	2015;12(1):99-103. (In Russ.) https://doi.org/10.15690/pf.v12i1.1255	
16	Сотнева И.Б. Опыт применения аллергена туберкулезного рекомбинантного для массового обследования на туберкулез детей и подростков в Нижегородской области // Вопросы практической педиатрии, 2017, Vol. 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 // Practical Pediatrics Issues, 2017, Vol. 12, no. 4, pp. 43–48.	https://www.elibrary.ru/item.asp?id=30579553 [doi: 10.20953/1817-7646-2017-4-43-48]
17	Федеральная служба по надзору в сфере здравоохранения (Росздравнадзор). Тубинферон. ФСР 2011/11269, 2021. [Electronic resource]. URL: https://roszdravnadzor.gov.ru/services/ .	Federal Service for Surveillance in Healthcare (Roszdravnadzor). Tubinferon. FSR 2011/11269, 2021. [Electronic resource]. URL: https://roszdravnadzor.gov.ru/services/ .	https://roszdravnadzor.gov.ru/services/
18	Федеральное казначейство. Единая информационная система в сфере закупок, 2021. [Electronic resource]. URL:	Federal Treasury. Unified information system in the field of procurement, 2021. [Electronic resource]. URL:	https://zakupki.gov.ru/epz/main/public/home.html .

	https://zakupki.gov.ru/epz/main/public/home.html .	https://zakupki.gov.ru/epz/main/public/home.html .	
19	Шаповал И.Н. Здоровоохранение в России. 2019: Стат.сб./Росстат. - М., 2019, 170 с.	Shapoval I.N. Healthcare in Russia. 2019: Statistical collection / Rosstat. - M., 2019, 170 p.	https://rosstat.gov.ru/storage/mediabank/Zdravoohran-2019.pdf
20	Adams L.V., Starke J.R. Latent tuberculosis infection in children. UpToDate, 2018, 12 p.	-	https://www.uptodate.com/contents/8020
21	Andersen P., Munk M.E., Pollock J.M., Doherty, T.M. Specific immune-based diagnosis of tuberculosis // Lancet. Elsevier, 2000, Vol. 356, № 9235, pp. 1099–1104.	-	https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0140673600027422 [doi: https://doi.org/10.1016/S0140-6736(00)02742-2]
22	Campbell J.R., Winters N., Menzies D. Absolute risk of tuberculosis among untreated populations with a positive tuberculin skin test or interferon-gamma	-	https://www.bmj.com/content/368/bmj.m549 [doi: https://doi.org/10.1136/bmj.m549]

	release assay result: systematic review and meta-analysis // British Medical Journal, 2020, Vol. 368, pp. m549.		
23	Croke L.M. Tuberculosis: Guidelines for Diagnosis from the ATS, IDSA, and CDC // Am. Fam. Physician., 2018, Vol. 97, № 1, pp. 56–58.	-	https://www.aafp.org/afp/2018/0101/p56.html
24	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.	-	https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1201971214017159 [doi: https://doi.org/10.1016/j.ijid.2014.11.026]
25	Doan T.N., Eisen D.P., Rose M.T. et al. Interferon-gamma release assay for the diagnosis of latent tuberculosis infection: a latent-class analysis // PLoS One, 2017, Vol. 12, № 11, pp. e0188631.	-	https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0188631 [doi: https://doi.org/10.1371/journal.pone.0188631]
26	European Centre for Disease Prevention	-	https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-

	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.		data/review-reviews-and-guidelines-target-groups-diagnosis-treatment-and-programmatic
27	Gong W., Liang Y., Wu X. The current status, challenges, and future developments of new tuberculosis vaccines // Hum. Vaccin. Immunother., 2018, Vol. 14, № 7, pp. 1697–1716.	-	https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/21645515.2018.1458806 [https://doi.org/10.1080/21645515.2018.1458806]
28	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, № 1, pp. 49–58.	-	https://sciendo.com/article/10.2478/10004-1254-63-2012-2134 [https://doi.org/10.2478/10004-1254-63-2012-2134]
29	Lalvani A., Whitworth H.S. Progress in	-	https://atm.amegroups.com/article/view/26457

	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]
30	Lewinsohn D.M., Leonard M.K., LoBue P.A. et al. 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, № 2. pp. e1–e33.	-	https://academic.oup.com/cid/article/64/2/111/2811357 [doi: https://doi.org/10.1093/cid/ciw778]
31	Li F., Xu M., Qin C. et al. 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, № 10, pp. 889-e9.	-	https://www.clinicalmicrobiologyandinfection.com/article/S1198-743X(16)30239-7/fulltext [doi: https://doi.org/10.1016/j.cmi.2016.07.015]

32	Menzies D. Approach to diagnosis of latent tuberculosis infection (tuberculosis screening) in adults. UpToDate, 2018, 15 p.	-	https://www.uptodate.com/contents/approach-to-diagnosis-of-latent-tuberculosis-infection-tuberculosis-screening-in-adults
33	Menzies D. Use of interferon-gamma release assays for diagnosis of latent tuberculosis infection (tuberculosis screening) in adults. UpToDate, 2018, 12 p.	-	https://www.uptodate.com/contents/use-of-interferon-gamma-release-assays-for-diagnosis-of-latent-tuberculosis-infection-tuberculosis-screening-in-adults
34	Menzies D., Schwartzman K., Pai M. Immune-based tests for tuberculosis // Tuberculosis, 2009, pp. 179–196.	-	https://www.elsevier.com/books/tuberculosis/9781416039884
35	Nikitina I.Y., Karpina N.L., Kasimceva O.V. et al. 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.	-	https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1201971219302590 [doi: https://doi.org/10.1016/j.ijid.2019.06.014]

36	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, № 3, pp. 413–422.	-	https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1586/14737159.6.3.413 [doi: https://doi.org/10.1586/14737159.6.3.413]
37	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. Frontiers, 2018. Vol. 8, pp. 327.	-	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6157333/ [doi: 10.3389/fcimb.2018.00327]
38	Ru H., Liu X., Lin C. et al. The impact of genome region of difference 4 (RD4) on mycobacterial virulence and BCG efficacy // Front. Cell. Infect. Microbiol. Frontiers, 2017, Vol. 7, pp. 239.	-	https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fcimb.2017.00239/full [doi: https://doi.org/10.3389/fcimb.2017.00239]

39	Ruhwald M., Aggerbeck H., Gallardo R.V. et al. 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, № 4, pp. 259–268.	-	https://www.thelancet.com/journals/lanres/article/PIIS2213-2600(16)30436-2/fulltext [doi: https://doi.org/10.1016/S2213-2600(16)30436-2]
40	Slogotskaya L., Bogorodskaya E., Sentshichina O. et al. Effectiveness of tuberculosis detection using a skin test with allergen recombinant (CFP-10-ESAT-6) in children // Eur. Respiratory Soc, 2015, Vol. 46, pp. PA4524.	-	https://erj.ersjournals.com/content/46/suppl_59/PA4524.abstract [doi: 10.1183/13993003.congress-2015.PA4524]
41	Starshinova A., Dovgalyk I., Malkova A. et al. Recombinant tuberculosis allergen (Diaskintest®) in tuberculosis diagnostic in Russia (meta-analysis) // Int. J.	-	https://www.ijmyco.org/article.asp?issn=2212-5531;year=2020;volume=9;issue=4;spage=335;epage=346;aualast=Starshinova

	Mycobacteriology, 2020, Vol. 9, № 4, pp. 335.		[doi: 10.4103/ijmy.ijmy_131_20]
42	Starshinova A., Zhuravlev V., Dovgaluk I. et al. A comparison of intradermal test with recombinant tuberculosis allergen (diaskintest) with other immunologic tests in the diagnosis of tuberculosis infection // Int. J. mycobacteriology, 2018, Vol. 7, № 1, pp. 32.	-	https://www.ijmyco.org/article.asp?issn=2212-5531;year=2018;volume=7;issue=1;spage=32;epage=39;aulast=Starshinova [doi: 10.4103/ijmy.ijmy_17_18]
43	Van Pinxteren L.A., Ravn, P., Agger, E.M. et al. Diagnosis of tuberculosis based on the two specific antigens ESAT-6 and CFP10 // Clin. Diagn. Lab. Immunol., 2000, Vol. 7, № 2, pp. 155–160.	-	https://journals.asm.org/doi/full/10.1128/CDLI.7.2.155-160.2000 [doi: https://doi.org/10.1128/CDLI.7.2.155-160.2000]
44	Welin A., Björnsdottir H., Winther M. et al. CFP-10 from Mycobacterium tuberculosis selectively activates human neutrophils	-	https://journals.asm.org/doi/full/10.1128/IAI.02493-14

	through a pertussis toxin-sensitive chemotactic receptor // <i>Infect. Immun. Am Soc Microbiol</i> , 2015, Vol. 83, № 1, pp. 205–213.		[doi: https://doi.org/10.1128/IAI.02493-14]
45	Zhang H., Wang L., Li F. et al. Induration or erythema diameter not less than 5 mm as results of recombinant fusion protein ESAT6-CFP10 skin test for detecting <i>M. tuberculosis</i> infection // <i>BMC Infect. Dis.</i> , 2020, Vol. 20, № 1, pp. 1–11.	-	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7501602/ [doi: 10.1186/s12879-020-05413-9]
46	Zhou G., Luo Q., Luo S. et al. Interferon- γ release assays or tuberculin skin test for detection and management of latent tuberculosis infection: a systematic review and meta-analysis // <i>Lancet Infect. Dis.</i> , 2020, Vol. 20, № 12, pp. 1457–1469.	-	https://www.thelancet.com/journals/laninf/article/PIIS1473-3099(20)30276-0/fulltext [doi: https://doi.org/10.1016/S1473-3099(20)30276-0]