



# ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ В КЛЕТКАХ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ДЛЯ ДИФФЕРЕНЦИРОВАНИЯ АКТИВНОЙ И ЛАТЕНТНОЙ ТУБЕРКУЛЕЗНОЙ ИНФЕКЦИИ У ДЕТЕЙ И ПОДРОСТКОВ

А. А. ЕЛОВ<sup>1</sup>, М. А. ВЛАДИМИРСКИЙ<sup>1</sup>, С. В. СМЕРДИН<sup>2</sup>, Е. И. ЕЛУФИМОВА<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр фтизиопульмонологии и инфекционных заболеваний» МЗ РФ, Москва, РФ

<sup>2</sup>ГБУЗ «Московский областной противотуберкулезный диспансер» МЗ РФ, Москва, РФ

**Цель исследования:** анализ экспрессии спектра генов в клетках крови пациентов детско-подросткового возраста для дифференцирования активной и латентной фаз туберкулезной инфекции.

**Материалы и методы.** Исследовали образцы периферической крови 36 пациентов детско-подросткового возраста с латентной туберкулезной инфекцией и 24 пациентов в возрасте от 1 до 16 лет, проходивших стационарное лечение по поводу туберкулеза легких. Использовали модифицированный метод выделения информационной РНК и обратнo-транскрипционную полимеразную цепную реакцию для идентификации транскрипции избранных для анализа шести генов.

**Результаты исследования.** При сравнительном изучении величины экспрессии шести перспективных генов в клетках крови при исследовании двух групп детей и подростков с латентной и активной туберкулезной инфекцией установлено, что наиболее дифференцирующим признаком для определения активной туберкулезной инфекции является значительно более высокий уровень экспрессии гена *PDCD1*, кодирующего рецептор лимфоцитов PD1. При этом установлена чувствительность определения активной инфекции 95,8%, специфичность – 94,4%, точность положительного прогноза активной туберкулезной инфекции составляет 93,3%.

**Ключевые слова:** латентная и активная туберкулезная инфекция, экспрессия генов, информационная РНК, рецептор PD1

**Для цитирования:** Елов А. А., Владимирский М. А., Смердин С. В., Елуфимова Е. И. Экспрессия генов в клетках периферической крови для дифференцирования активной и латентной туберкулезной инфекции у детей и подростков // Туберкулёз и болезни лёгких. – 2019. – Т. 97, № 12. – С. 28-32. <http://doi.org/10.21292/2075-1230-2019-97-12-28-32>

## GENE EXPRESSION IN PERIPHERAL BLOOD CELLS FOR DIFFERENTIATION OF ACTIVE AND LATENT TUBERCULOSIS INFECTION IN CHILDREN AND ADOLESCENTS

A. A. ELOV<sup>1</sup>, M. A. VLADIMIRSKIY<sup>1</sup>, S. V. SMERDIN<sup>2</sup>, E. I. ELUFIMOVA<sup>2</sup>

<sup>1</sup>National Medical Research Center of Phthisiopulmonology and Infectious Diseases, Moscow, Russia

<sup>2</sup>Moscow Regional TB Dispensary, Moscow, Russia

**The objective:** to analyze the expression of certain genes in the blood cells of children and adolescence to differentiate the active and latent phases of tuberculosis infection.

**Subjects and methods.** Peripheral blood samples collected in 36 pediatric patients with latent tuberculosis infection and 24 patients aged 1 to 16 years undergoing in-patient treatment for pulmonary tuberculosis were tested. A modified method for isolating messenger RNA and reverse transcriptional polymerase chain reaction was used to identify the transcription of six genes selected for analysis.

**Results.** In a comparative study of the expression values of six promising genes in blood cells in the study of two groups of children and adolescents with latent and active tuberculosis infection, it was found that the most differentiating feature for determining active tuberculosis infection was a significantly higher level of expression of *PDCD1* gene encoding PD1 lymphocyte receptor. At the same time, the sensitivity to detect the active infection was found to be 95.8%, specificity – 94.4%, the accuracy of the positive prognosis of active tuberculosis infection was 93.3%.

**Keywords:** latent and active tuberculosis infection, gene expression, messenger RNA, PD1 receptor

**For citations:** Elov A.A., Vladimirovskiy M.A., Smerdin S.V., Elufimova E.I. Gene expression in peripheral blood cells for differentiation of active and latent tuberculosis infection in children and adolescents. *Tuberculosis and Lung Diseases*, 2019, Vol. 97, no. 12, P. 28-32. (In Russ.) <http://doi.org/10.21292/2075-1230-2019-97-12-28-32>

Распространенность латентной туберкулезной инфекции (ЛТИ) в мире, по данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), составляет более одной четверти населения Земли, т. е. более 1,5 млрд человек [4].

Дифференцирование активной и ЛТИ является одной из приоритетных проблем ВОЗ в целях достижения ликвидации туберкулеза как распространенного заболевания [12].

В настоящее время в международной, в том числе российской, литературе опубликовано большое число работ, посвященных исследованию различных иммунологических факторов и их комбинаций, применению новых тестов, в том числе с рекомбинантными антигенами микобактерий туберкулеза (МБТ), используемых при дифференцировании активной и ЛТИ, туберкулезных и нетуберкулезных заболеваний легких [7, 11]. Профилирование

экспрессии генов периферической крови в интересах такой диагностики является активно развиваемым направлением молекулярной биологии [13]. Методы основаны на выделении информационной РНК (мРНК) из образцов клеток цельной крови с последующим проведением обратнотранскрипционной полимеразной цепной реакции (ОТ-ПЦР) с идентификацией экспрессии конкретных генов либо на РНК-секвенировании с определением транскрипционного профиля [9].

Группа авторов провела проспективное исследование более 6 тыс. подростков в Южной Африке с определением экспрессии 16 генов клеток крови [13] для прогнозирования заболевания туберкулезом в течение последующих 2 лет, в результате были установлены 66%-ная чувствительность и 80%-ная специфичность этого метода. При этом было проведено сопоставление методов секвенирования мРНК и ОТ-ПЦР. Исследование одновременно РНК 20 генов МБТ позволило повысить эффективность дискриминации между активной и ЛТИ с получением значения до 0,92 по критерию анализа ROC (площадь под кривой) [5]. Обозначается стремление исследователей определить узкий спектр генов, изучение экспрессии которых позволит разделять стадии туберкулезной инфекции. Группа авторов из Тайваня исследовала экспрессию 4 генов [6], не связанных непосредственно с механизмами иммунной защиты при туберкулезной инфекции: ген *ASUN* – регулятор сперматогенеза; ген *NPC2* – ответственный за внутриклеточный транспорт холестерина, мутация которого связана с легочным заболеванием – альвеолярный протеиноз (болезнь Ньюмана – Пика) [8]. Исследование позволило достоверно дифференцировать пациентов с активным туберкулезом, лиц с ЛТИ и здоровых лиц. В литературе последних лет имеются исследования по изучению экспрессии гена индуцированной клеточной смерти (апоптоз) *PDCD1* (*PD1*) и его лиганда *PD-L1*, рассматриваются эти гены в качестве «контрольно-пропускного пункта», в том числе при цитотоксическом иммунном ответе к клеткам раковой опухоли. Экспрессия гена, кодирующего рецептор PD1 (CD279) Т-лимфоцитов, обеспечивает их специфическую цитотоксическую активность, тогда как лиганд PD-L1 блокирует эту активность. Установлено, что экспрессия рецептора PD1 на Т-лимфоцитах CD4 коррелирует с уровнем микробной (МБТ) нагрузки у больных туберкулезом [3]. Блокада PD1-рецепторов в результате присоединения лиганда PD-L1 предположительно ингибирует иммунный ответ при опухолевых заболеваниях [1], то есть применение моноклональных антител к рецептору Т-лимфоцитов PD1 восстанавливает иммунный ответ к клеткам злокачественных образований. Однако недавние исследования [10], проведенные на клетках плеврального экссудата при туберкулезном плеврите, показали, что PD1<sup>+</sup> CD8 цитотоксические Т-лимфоциты, так

же как и лиганд PD-L1, способствуют индукции и поляризации (активизации) М1 макрофагов, апоптозу макрофагов инфицированных МБТ, что предотвращает диссеминацию МБТ, т. е. оба фактора активизируют протективный иммунный ответ.

В последнее время перспектива применения моноклональных антител к рецептору PD1 для иммунотерапии туберкулеза путем усиления клеточного иммунного ответа была, скорее всего, опровергнута, поскольку выяснилось, что она у пациентов с меланомой приводила к активизации туберкулезной инфекции [1].

Цель исследования: оптимизация метода определения информационной РНК, выделяемой из образцов крови, для сохранения ее стабильности при проведении исследований; анализ экспрессии спектра генов в клетках крови пациентов детско-подросткового возраста для дифференцирования активной и латентной фаз туберкулезной инфекции.

## Материалы и методы

Обследовано две группы детей.

Группа ЛТИ – 39 детей от 6 до 16 лет с ЛТИ по результатам положительного кожного теста с аллергеном туберкулезным рекомбинантным (АТР) (препарат диаскинест), а также по результатам тестов *in vitro* на основании индукции интерферона-гамма в присутствии рекомбинантного гибридного белка ESAT6-CFP10 в концентрации, превышающей уровень 14 пг/мл, что соответствует уровню положительных результатов тест-системы QuantiFeronTBGold.

Группа ТБ – 24 ребенка от 1 до 16 лет, проходивших лечение в отделении детско-подросткового туберкулеза клиники НМИЦ ФПИ по поводу туберкулеза органов дыхания. У 10 был туберкулез внутригрудных лимфоузлов, у 5 – очаговый туберкулез легких, у 8 – инфильтративный туберкулез легких, в том числе у 3 – с распадом легочной ткани, у 1 ребенка – диссеминированный туберкулез легких.

### Обработка образцов крови

В пробирки объемом 1,5 мл типа Эппендорф, содержащие по 100 мкл дистиллированной воды и 600 мкл TRIZOL LS Reagent (Ambion), вносили по 100 мкл свежесобранной периферической крови и перемешивали встряхиванием до образования равномерного черного раствора. В полученную смесь добавляли 160 мкл хлороформа, перемешивали на вортексе и центрифугировали 5 мин при 13 000 об/мин.

Отделяемые после центрифугирования 400 мкл бесцветной водной фазы переносили в стерильные промаркированные пробирки типа Эппендорф на 1,5 мл с 3 мкл магнитного сорбента (из набора «Амплитуб-РВ-Автомат» НПФ «Синтол», сконцентрированного в 7-10 раз на магнитном штативе), перемешивали и оставляли на 5 мин для связывания

РНК. Далее сорбент с РНК промывали последовательно 4М-гуанидинтиоцианатом в 50 мМ Na-ацетатном буфере рН 4,5 и 2 раза 70%-ным этанолом (по 400 мкл растворов), высушивали при 75°С и элюировали РНК в 100 мкл воды, обработанной DEPC (диэтилпирокарбонат) в течение 10 мин при 75°С.

Модифицированный метод позволяет получать стабильный препарат мРНК, который может сохраняться в течение нескольких суток, обеспечивая возможность провести серию исследований образцов крови пациентов.

ОТ-ПЦР в реальном времени проводили с использованием набора Power Sybr Green RNA-to-Ct 1-Step kit (Applied Biosystems) по инструкции производителя. В 7 пробирках для ПЦР готовили реакционные смеси для каждой из 7 анализируемых мРНК объемом по 20 мкл, содержащие по 10 пмоль праймеров, указанных в таблице, и 5 мкл элюата РНК, отобранного на магнитном штативе. ОТ-ПЦР проводили по программе: 15 мин при 45°С, 5 мин при 95°С, далее 40 циклов 20 с при 95°С и 30 с при 60°С на детектирующем термоциклере CFX-96 (Bio-Rad). Нуклеотидные последовательности праймеров, используемых в ОТ-ПЦР, приведены в табл. 1.

Количественный уровень экспрессии изучаемых генов определяется по результатам ОТ-ПЦР в реальном времени, выражаемой в величинах пороговых циклов ( $C_t$ ) для каждой мРНК, из которых затем вычитается величина  $C_t$  для конститутивного гена *GADPH*), в связи с чем некоторые итоговые значения  $C_t$  могут иметь отрицательные значения.

Статистический анализ проводили с использованием программ PRISM 4, а также ROC (resiever operating characteristic) анализа, с помощью которого определялись пороговые значения для оценки активности инфекции, а также чувствительность и специфичность результатов исследований.

Результаты исследований

В результате исследований разработана методика получения стабильных препаратов мРНК, позволяющая изучать экспрессию спектра генов в клетках крови пациентов, а также проведен анализ экспрессии перспективных генов с целью разработки практически реализуемой, наряду с использованием иммунологических тестов, технологии для дифференцирования активной и латентной фаз туберкулезной инфекции.

Результаты исследований приведены в табл. 2.

Таблица 1. Нуклеотидные последовательности праймеров, используемых для анализа экспрессии генов

Table 1. The nucleotide sequences of the primers used for gene expression analysis

Ген (мРНК)	Праймеры (5'-3')
Глицеральдегидфосфат-дегидрогеназа ( <i>GAPDH</i> ) – контрольный ген	прямой: ttt tgc gtc gcc agc cga обратный: gtt aaa agc agc cct ggt gac
Asunder spermatogenesis regulator ( <i>ASUN</i> )	прямой: g aat ctt cca tgg aat att gta gaa обратный: gag gat tag gag gcc caa
Nuclear export mediator factor ( <i>NEMF</i> )	прямой: gag tgg cct aag aat atg atg cc обратный: gaa aat cta caa ttc tat cca cac caa g
Protein tyrosine phosphatase, receptor type, C ( <i>PTPRC</i> )	прямой: gca ttt ggc ttt gcc ttt ctg обратный: tca ctt gaa agt gga aca ctg g
Homo sapiens programmed cell death 1 ( <i>PDCD-1</i> )	прямой: tgc tac aac tgg gct ggc обратный: gtc acc acg agc agg gct g
Ligand L1 to Homo sapiens programmed cell death 1 ( <i>PD-L1</i> )	прямой: ggt gcc gac tac aag cga at обратный: cag ttc atg ttc aga ggt gac tgg
NPC intracellular cholesterol transporter 2 ( <i>NPC2</i> )	прямой: gtc cca gtt ccc ttt ccc at обратный: act cca cca cca gtt tta tag agg

Таблица 2. Результаты статистического анализа биомаркеров (экспрессия генов\*)

Table 2. Results of statistical analysis of biomarkers (gene expression\*)

Гены	Средний уровень экспрессии, $M_{ct} \pm m$		95%-ный доверительный интервал	$p$ (критерий Манна – Уитни)
	Группа ЛТИ	Группа ТБ		
<i>ASUN</i>	6,94 ± 0,27	5,16 ± 0,38	0,4; 2,8	< 0,01
<i>NEMF</i>	2,43 ± 0,26	0,43 ± 0,30	0,9; 2,4	< 0,001
<i>PTRC</i>	6,15 ± 0,34	6,09 ± 0,56	-1,28; 1,39	Нет различий
<i>NPC2</i>	1,92 ± 0,17	0,095 ± 0,340	1,24; 2,8	< 0,001
<i>PD1</i>	7,58 ± 0,26	5,14 ± 0,24	1,5; 2,9	< 0,0001
<i>PDL1</i>	4,57 ± 0,35	2,70 ± 0,63	0,4; 3,9	< 0,01

Примечание: \* – уровень экспрессии генов обратно пропорционален величине циклов порогового подъема флюоресценции ( $C_t$ ), обозначенных в таблице, при проведении обратнo-транскрипционной ПЦР

Статистический ROC-анализ показал, что чувствительность определения активности туберкулезной инфекции при анализе экспрессии гена *PDCD1*, кодирующего рецептор *PD1*, составила 95,8% при специфичности 94,4%; уровень точности – 93,3%. Исследование других генов, из которых относительно эффективным был анализ гена *NPC2*, выявило более низкую чувствительность.

Эти результаты показали, что определение экспрессии гена *PD1* наиболее надежным образом коррелирует с активностью туберкулезной инфекции у детей и подростков и является перспективным методом для определения предикторов активной туберкулезной инфекции среди группы пациентов с латентной инфекцией.

Однако мы полагаем, что определение экспрессии гена *PDCD1* не может быть единственным критерием активности туберкулезной инфекции, поскольку это исследование может свидетельствовать о наличии клеточного иммунного ответа вне связи со специфичностью туберкулезной инфекции.

Поэтому перспектива надежного дифференцирования активной и ЛТИ может заключаться в использовании комбинации специфических и не-

специфических реакций клеточного и гуморального иммунитета.

Результаты исследования экспрессии генов *PDCD1* и *PD-L1* имеют также особый интерес для перспективы контроля активности туберкулезной инфекции в процессе лечения туберкулеза.

## Заключение

В результате исследований разработана методика получения стабильных препаратов мРНК, позволяющая изучать экспрессию спектра генов в клетках крови пациентов, а также проведен анализ экспрессии перспективных генов для разработки практически реализуемой, наряду с использованием иммунологических тестов, технологии дифференцирования активной и латентной фаз туберкулезной инфекции.

Полученные результаты показали, что определение экспрессии гена *PD1* наиболее надежным образом коррелирует с активностью туберкулезной инфекции у детей и подростков и является перспективным методом для определения предикторов активной туберкулезной инфекции среди лиц с латентной инфекцией.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии у них конфликта интересов.

**Conflict of Interests.** The authors state that they have no conflict of interests.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Anastasopoulou A., Ziogas D.C., Samarkos M. et al. Reactivation of tuberculosis in cancer patients following administration of immune checkpoint inhibitors: current evidence and clinical practice recommendations // *J. Immunother. Cancer*. – 2019. – Vol. 7. – P. 1-13.
2. Darwin P., Toor S. M., Nair V. S., Elkord E. Immune checkpoint inhibitors: recent progress and potential biomarkers // *Experimental & Molecular Medicine*. – 2018. – Vol. 50, article 165.
3. Day C. L., Abrahams D. A., Bunju R. et al. PD-1 Expression on Mycobacterium tuberculosis-Specific CD4 T cells is associated with bacterial load in human tuberculosis // *Frontiers in Immunology*. – 2018. – Vol. 9, article 1995. – P. 1-12.
4. Global tuberculosis report WHO 2019. <https://www.who.int/tb/publications/global-report/en> 19.04.2019.
5. Kaforou M. et al. Detection of tuberculosis in HIV-infected and-uninfected African adults using whole blood RNA expression signatures: a case-control study // *PLoS Med.* – 2013. – № 10. – P. e1001538.
6. Lee S.-W., Wu L. S.-H., Huang G.-M. et al. Gene expression profiling identifies candidate biomarkers for active vs latent tuberculosis // *BMC Bioinformatics*. – 2016. – Vol. 17, suppl. 1. – P. 27-36.
7. Manna M. P., Orlando V., Donni P. I. et al. Identification of plasma biomarkers for discrimination between tuberculosis infection/disease and pulmonary non tuberculosis diseases // *PLoS One*. – 2013. – Vol. 3. – P. 1-20.
8. Sheth J., Jijo John J., Shah K. et al. Pulmonary manifestations in Niemann-Pick type C disease with mutations in NPC2 gene: case report and review of literature // *BMC Medical Genetics*. – 2017. – Vol. 18. – P. 1-5.
9. Singhania A., Verma R., Graham C. M. et al. A modular transcriptional signature identifies phenotypic heterogeneity of human tuberculosis infection // *Nature communications*. – 2018. – Vol. 9. – P. 1-17.
10. Suarez V. G., Ganzarain C. M., Vecchion M. B. et al. PD-1/PD-L1. Pathway Modulates Macrophage Susceptibility to Mycobacterium tuberculosis Specific CD8+ T cell Induced Death // *Scientific Reports*. – 2019. – Vol. 9, № 187. – P. 1-14.

## REFERENCES

1. Anastasopoulou A., Ziogas D.C., Samarkos M. et al. Reactivation of tuberculosis in cancer patients following administration of immune checkpoint inhibitors: current evidence and clinical practice recommendations. *J. Immunother. Cancer*, 2019, vol. 7, pp. 1-13.
2. Darwin P., Toor S.M., Nair V.S., Elkord E. Immune checkpoint inhibitors: recent progress and potential biomarkers. *Experimental & Molecular Medicine*, 2018, vol. 50, article 165.
3. Day C.L., Abrahams D.A., Bunju R. et al. PD-1 Expression on Mycobacterium tuberculosis-Specific CD4 T cells is associated with bacterial load in human tuberculosis. *Frontiers in Immunology*, 2018, vol. 9, article 1995, pp. 1-12.
4. Global tuberculosis report WHO 2019. <https://www.who.int/tb/publications/global-report/en> 19.04.2019.
5. Kaforou M. et al. Detection of tuberculosis in HIV-infected and-uninfected African adults using whole blood RNA expression signatures: a case-control study. *PLoS Med.*, 2013, no. 10, pp. e1001538.
6. Lee S.W., Wu L.S.H., Huang G.M. et al. Gene expression profiling identifies candidate biomarkers for active vs latent tuberculosis. *BMC Bioinformatics*, 2016, vol. 17, suppl. 1, pp. 27-36.
7. Manna M.P., Orlando V., Donni P.I. et al. Identification of plasma biomarkers for discrimination between tuberculosis infection/disease and pulmonary non tuberculosis diseases. *PLoS One*, 2013, vol. 3, pp. 1-20.
8. Sheth J., Jijo John J., Shah K. et al. Pulmonary manifestations in Niemann-Pick type C disease with mutations in NPC2 gene: case report and review of literature. *BMC Medical Genomics*, 2017, vol. 18, pp. 1-5.
9. Singhania A., Verma R., Graham C. M. et al. A modular transcriptional signature identifies phenotypic heterogeneity of human tuberculosis infection. *Nature Communications*, 2018, vol. 9, pp. 1-17.
10. Suarez V.G., Ganzarain C.M., Vecchion M.B. et al. PD-1/PD-L1. Pathway Modulates Macrophage Susceptibility to Mycobacterium tuberculosis Specific CD8+ T cell Induced Death. *Scientific Reports*, 2019, vol. 9, no. 187, pp. 1-14.

11. Qiu Xia, Tang Ying, Zou Rong et al. Diagnostic accuracy of interferon gamma-induced protein 10 for differentiating active tuberculosis from latent tuberculosis: A metaanalysis // *Scientific reports*. – 2019. – Vol. 9. – P. 1-18.
12. World Health Organization. The End TB Strategy. Global Strategy and Targets for Tuberculosis Prevention, Care and Control. November 2015. (in Russian).
13. Zak D. E., Penn-Nicholson A., Scriba T. J. et al. A blood RNA signature for tuberculosis disease risk: a prospective cohort study // *Lancet*. – 2016. – Vol. 387(10035). – P. 2312-2322.
11. Qiu Xia, Tang Ying, Zou Rong et al. Diagnostic accuracy of interferon gamma-induced protein 10 for differentiating active tuberculosis from latent tuberculosis: A metaanalysis. *Scientific Reports*, 2019, vol. 9, pp. 1-18.
12. World Health Organization. The End TB Strategy. Global Strategy and Targets for Tuberculosis Prevention, Care and Control. November 2015. (in Russian).
13. Zak D.E., Penn-Nicholson A., Scriba T.J. et al. A blood RNA signature for tuberculosis disease risk: a prospective cohort study. *Lancet*, 2016, vol. 387(10035), pp. 2312-2322.

## ДЛЯ КОРРЕСПОНДЕНЦИИ:

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр фтизиопульмонологии и инфекционных заболеваний» МЗ РФ,  
127473, Москва, ул. Достоевского, д. 4.

**Елов Андрей Александрович**

доктор биологических наук,  
ведущий научный сотрудник отдела инфекционной  
иммунологии, патологии и биотехнологии.  
E-mail: anyol@mail.ru

**Владимирский Михаил Александрович**

доктор медицинских наук, профессор, заведующий отделом  
инфекционной иммунологии, патологии и биотехнологии.  
E-mail: mvladimirskij@mail.ru

ГБУЗ «Московский областной противотуберкулезный  
диспансер» МЗ РФ,  
141100, Московская область, г. Щелково,  
ул. Краснознаменская, д. 8.

**Смердин Сергей Викторович**

главный врач Московского областного  
противотуберкулезного диспансера.  
E-mail: smerdin\_030@rambler.ru

**Елуфимова Ольга Ивановна**

врач-педиатр Московского областного  
противотуберкулезного диспансера.  
E-mail: smirnova.stepan27@yandex.ru

## FOR CORRESPONDENCE:

National Medical Research Center of Phthisiopulmonology  
and Infectious Diseases,  
4, Dostoevsky St.,  
Moscow, 127473

**Andrey A. Elov**

Doctor of Biological Sciences,  
Leading Researcher of Department for Infectious Immunology,  
Pathology and Biotechnology.  
Email: anyol@mail.ru

**Mikhail A. Vladimirskiy**

Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of Department  
for Infectious Immunology, Pathology and Biotechnology.  
Email: mvladimirskij@mail.ru

Moscow Regional TB Dispensary,  
8, Krasnoznamenskaya St.,  
Schelkovo,  
Moscow Region, 141100

**Sergey V. Smerdin**

Head Physician of Moscow  
Regional TB Dispensary  
Email: smerdin\_030@rambler.ru

**Olga I. Elufimova**

Pediatrician of Moscow Regional  
TB Dispensary.  
Email: smirnova.stepan27@yandex.ru

Поступила 29.03.2019

Submitted as of 29.03.2019