



Иммунобиологические методы контроля латентной туберкулезной инфекции у детей и подростков и анализ реактивации туберкулезной инфекции

М.А. ВЛАДИМИРСКИЙ¹, М.Б. ЛАПЕНКОВА¹, А.А. ЁЛОВ¹, В.А. АКСЁНОВА¹, М.А. ПЛЕХАНОВА², С.В. СМЕРДИН³, П.Н. РУТКЕВИЧ³

¹ ФГБУ «Научный медицинский исследовательский центр фтизиопульмонологии и инфекционных заболеваний» МЗ РФ, Москва, РФ

² ГБУЗ МО «Московский областной клинический противотуберкулезный диспансер», Москва, РФ

³ ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии имени академика Е.И. Чазова» МЗ РФ, Москва, РФ

РЕЗЮМЕ

Цель исследования: разработка нового способа выявления ранних субклинических признаков перехода ЛТИ в туберкулез.

Материалы и методы. В исследование включены дети до 18 лет, 8 – с туберкулезом легких (группа ТБ) и 91 – с ЛТИ (группа ЛТИ). Выявление субклинических признаков активности туберкулезной инфекции в группе ЛТИ заключалось в определении концентрации антиген-специфической индукции ИФН-γ в концентрации более 14 пг/мл, ИЛ-6 более 8 пг/мл и положительных величин пороговых циклов (Ct) образцов мРНК по результатам ОТ-ПЦР в реальном времени генов: PDCD1, PDL2, BATF2 и GBP5.

Результаты исследования. Разработанный нами способ определения субклинических признаков активности туберкулезной инфекции у детей и подростков с ЛТИ состоит из двух компонентов (иммунологического – концентрация ИФН-γ, ИЛ-6 и молекулярно-генетического – мРНК экспрессия генов PDL2, BATF2 и GBP5). Одновременная регистрация уровня ИФН-γ, ИЛ-6 и мРНК экспрессия генов PDL2, BATF2 и GBP5 выше референсных значений указывает на высокий риск развития туберкулеза. Это было установлено у 29/91 (31,9%) пациентов с ЛТИ, у которых в течении 1 года при КТ ОГК обнаружены кальцинаты в ВГЛУ или очаги в легких.

Ключевые слова: туберкулез, латентная туберкулезная инфекция, ИФН-γ, ИЛ-6, экспрессия генов.

Для цитирования: Владимирский М.А., Лапенкова М.Б., Ёлов, А.А., Аксёнова В.А., Плеханова М.А., Смердин С.В., Руткевич П.Н. Иммунобиологические методы контроля латентной туберкулезной инфекции у детей и подростков и анализ реактивации туберкулезной инфекции // Туберкулёз и болезни лёгких. – 2024. – Т. 102, № 6. – С. 32–38. <http://doi.org/10.58838/2075-1230-2024-102-6-32-38>

Immunobiological Methods for Monitoring Latent Tuberculosis Infection in Children and Adolescents and Analysis of Tuberculosis Infection Reactivation

М.А. VLADIMIRSKIY¹, М.Б. LAPENKOVA¹, А.А. ELOV¹, В.А. AKSENOVA¹, М.А. PLEKHANOVA², С.В. SMERDIN³, P.N. RUTKEVICH³

¹ National Medical Research Center of Phthisiopulmonology and Infectious Diseases, Russian Ministry of Health, Moscow, Russia

² Moscow Regional Clinical TB Dispensary, Moscow, Russia

³ E.I. Chazov National Medical Research Center of Cardiology, Russian Ministry of Health, Moscow, Russia

ABSTRACT

The objective: to develop a new method to detect early subclinical signs of LTBI progression to the active disease.

Subjects and Methods. Children under 18 years of age were enrolled in the study, of them 8 children suffered from pulmonary tuberculosis (TB Group) and 91 had LTBI (LTBI Group). Detection of subclinical signs of tuberculosis infection activity in LTBI Group included testing the concentration of antigen-specific induction of IFN-γ at the level more than 14 pg/ml, IL-6 more than 8 pg/ml and positive values of threshold cycles (Ct) of mRNA samples based on the results of real-time PCR of genes: PDCD1, PDL2, BATF2 and GBP5.

Results. The developed method for detection of subclinical signs of tuberculosis infection activity in children and adolescents with LTBI consists of two components (immunological testing of concentration of IFN-γ and IL-6; and molecular genetic testing of mRNA expression of the PDL2, BATF2 and GBP5 genes). Simultaneous registration of IFN-γ and IL-6 levels and mRNA expression of the PDL2, BATF2 and GBP5 genes above reference values indicates a high risk of developing active tuberculosis. It was observed

in 29/91 (31.9%) patients with LTBI, in whom chest CT revealed calcifications in the upper lymph nodes or pulmonary lesions within 1 year.

Key words: tuberculosis, latent tuberculosis infection, IFN- γ , IL-6, gene expression.

For citation: Vladimirskiy M.A., Lapenkova M.B., Elov, A.A., [Aksenova V.A.,] Plekhanova M.A., Smerdin S.V., Rutkevich P.N. Immunobiological methods for monitoring latent tuberculosis infection in children and adolescents and analysis of tuberculosis infection reactivation. *Tuberculosis and Lung Diseases*, 2024, vol. 102, no. 6, pp. 32–38. (In Russ.) <http://doi.org/10.58838/2075-1230-2024-102-6-32-38>

Для корреспонденции:
Лапенкова Марина Борисовна
E-mail: manyshik@list.ru

Correspondence:
Marina B. Lapenkova
Email: manyshik@list.ru

Введение

Проблема определения признаков активности туберкулезной инфекции является чрезвычайно актуальной, поскольку в современном мире число лиц с латентной туберкулезной инфекцией составляет, по данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), не менее четверти населения Земли: 1,7 млрд человек. При этом в мире ежегодно инфицируются около 50 млн человек. Для стран со средним доходом число инфицированных составляет 100 на 100 тыс. человек населения [20]. Латентная туберкулезная инфекция характеризуется постоянной способностью к иммунному ответу на специфические рекомбинантные белки ESAT6-CFP10 с использованием известных тест-систем: QuantiFERON TB Gold, T-SPOT.TB [5], «Тубинферон» [3] при отсутствии клинических проявлений туберкулезной инфекции.

Термин латентной туберкулезной инфекции обозначает присутствие микобактерий туберкулеза (МБТ) в организме хозяина, активность которых компенсируется соответствующим уровнем иммунной защиты. Снижение уровня иммунной защиты в связи с различными физиологическими изменениями, интеркуррентными заболеваниями или приемом препаратов, которые приводят к снижению уровня иммунной защиты пациентов, может приводить к реверсии метаболизма персистирующих, т.е. неметаболизирующих МБТ с проявлением заболевания туберкулезом [8]. Реактивация латентной туберкулезной инфекции может быть обусловлена факторами риска, которые снижают уровень иммунной защиты: ВИЧ-инфекция, почечная недостаточность, требующая гемодиализ, тесный контакт с больным туберкулезом – бактериовыделителем, а также прием препаратов, ингибирующих уровень активности иммунной системы, в частности, препаратов, ингибирующих фактор некроза опухоли альфа, который является ответственным за образование и поддержание туберкулезной гранулемы, что препятствует распространению микобактерий туберкулеза, так же, как и интерлейкин 12 и интерферон гамма, который играет важную роль в устойчивости к туберкулезной инфекции [9, 11, 15, 21].

Для предупреждения реактивации латентной туберкулезной инфекции у детей и подростков, у которых в большинстве случаев при реактивации не выделяется мокрота с выделением микобактерий туберкулеза, в России, как и в большинстве стран мира, рекомендуется проводить контрольные исследования с помощью компьютерной томографии органов грудной клетки и специфическое химио-профилактическое лечение двумя противотуберкулезными препаратами, традиционно – рифампицин и изониазид (2-3 месяца), либо изониазид при более длительном применении. Разумеется, что эти мероприятия обоснованы, однако оба указанных препарата обладают гепато- и нефротоксичностью.

Для определения туберкулезной инфекции в настоящее время используются специфические иммунологические, так называемые IGRA (Interferon gamma release assay) тесты, т.е. положительные результаты исследований с использованием специфических антигенов микобактерий туберкулеза (ESAT6-CFP10). При латентной туберкулезной инфекции результаты перекрывают и положительные случаи IGRA тестов при активной туберкулезной инфекции, т.е. сами по себе эти тесты не позволяют дифференцировать активную и латентную туберкулезные инфекции [7]. Тем не менее, при микробиологически подтвержденных случаях туберкулезной инфекции чувствительность IGRA тестов составляет 86,7% [14].

Однако эти методы не могут определить присутствие размножающихся микобактерий *in vivo*. Существует предположение, что при латентной туберкулезной инфекции возможно динамическое равновесие между иммунитетом хозяина и метаболической активностью возбудителя. Возможность сдвига этого баланса в сторону возбудителя означает риск реактивации латентной инфекции [22]. К числу рентгенологических признаков активности туберкулезной инфекции относится наличие кальцинатов внутригрудных лимфоузлов или мелких внутрилегочных лимфоузлов [4], что свидетельствует о начавшемся или закончившемся туберкулезном процессе. При этом выявление мелких мягкотканых внутрилегочных лимфоузлов в качестве признака активности туберкулезной инфекции признается пока не всеми специалистами в области рентгено-

Материалы и методы

диагностики туберкулеза. Одним из возможных методов определения субклинических признаков реактивации туберкулезной инфекции при неудачном химиопрофилактическом лечении латентной туберкулезной инфекции является позитронно-эмиссионная томография (ПЭТ) [10]. При этом лимфоузлы могут быть больше 1 см и иметь признаки минерализации (кальцинация). Определение субклинической формы туберкулезной инфекции, наряду с наличием иммунного ответа к специфическим, указанным выше белкам, в том числе антител с анализом индекса специфической активности [20], может быть обеспечено путем анализа экспрессии спектра нескольких генов. Международные исследования с анализом нескольких десятков генов [10, 12, 17, 22] посвящаются поиску новых методов определения незначительно выраженных, начинающихся признаков активной туберкулезной инфекции для назначения своевременного профилактического лечения противотуберкулезными препаратами. В целом, разработка методов иммунологической диагностики и скрининга активной туберкулезной инфекции является актуальной задачей фтизиатрии.

Известен способ дифференцирования туберкулеза без рентгенологических признаков и ЛТИ на основе анализа экспрессии гена PDCD1, кодирующего рецептор Т-лимфоцитов PD1, с точностью 93,3% [2]. Однако это исследование было проведено на малой выборке лиц детско-подросткового возраста с ЛТИ.

Известно также, что с помощью определения концентрации неоптерина (на уровне 9 нМ/мл и более) существует возможность различать туберкулез от ЛТИ у детей и подростков [1]. Однако повышение неоптерина само по себе не является специфичным маркером активности туберкулезной инфекции, но является маркером активности воспаления любой этиологии. Для диагностики перехода ЛТИ в проявления туберкулеза необходимо выявлять ранние и более специфичные признаки, в том числе при неопределенных результатах компьютерной томографии органов грудной клетки. В ряде исследований анализируется экспрессия некоторых генов для оценки возможной реактивации туберкулезной инфекции [13, 16, 19]. В исследовании Tabone L. et al. [18] анализируется экспрессия 30 генов, по результатам которых рассматривается вероятность активации туберкулезной инфекции в течение 20-40 дней. Однако в этой работе отсутствуют данные об экспрессии генов, которые с высокой достоверностью свидетельствовали бы о наличии активной туберкулезной инфекции непосредственно в момент исследования.

Цель исследования

Разработка нового способа выявления ранних субклинических признаков перехода ЛТИ в туберкулез.

В исследование включены 8 детей и подростков, больных туберкулезом (группа ТБ), и 91 ребенок или подросток с ЛТИ (положительный результат кожной пробы с аллергеном туберкулезным рекомбинантным (АТР) при отсутствии клинико-рентгенологических признаков туберкулеза (группа ЛТИ). У всех пациентов имелось подписанное информированное согласие на участие в исследовании (родителями или законными представителями).

Критерии включения в группу ТБ:

- лица до исполнения 18 лет с впервые выявленным туберкулезом легких без бактериовыделения, распространенность процесса 1-2 сегмента, госпитализация в детское туберкулезное отделение ФГБУ «НМИЦ ФПИ» Минздрава РФ;

- отсутствие химиотерапии или ее продолжительность не более 1 мес.;

- отсутствие сопутствующей патологии, влияющей на иммунологические показатели

Критерии не включения:

- онкологические заболевания, прием лекарственных препаратов, в том числе генно-инженерных биологических, влияющих на иммунный статус.

Критерии включения в группу ЛТИ:

- лица до исполнения 18 лет, имеющие положительный результат кожной пробы с АТР после исключения активного туберкулеза на основании клинико-рентгенологических и микробиологических исследований. Согласно клиническим рекомендациям «Туберкулез у детей» [5] всем лицам с положительным результатом пробы с АТР проводили КТ ОГК по месту жительства.

Критерии не включения:

- прием противотуберкулезных препаратов;
- наличие онкологического заболевания или заболеваний, влияющего на иммунологические показатели (в том числе ВИЧ-инфекции), прием лекарственных препаратов, в том числе генно-инженерных биологических, влияющих на иммунный статус.

В рамках исследования у пациентов были изучены: антиген-специфическая индукция интерферона гамма (ИФН-γ), концентрация интерлейкина 6 (ИЛ-6) в сыворотке крови, уровень экспрессии мРНК четырех генов (PDCD1, PDL2, BATF2 и GBP5).

Методика определения уровня антиген-специфической индукции ИФН-γ

Использовали не менее двух пробирок по 1 мл гепаринизированной венозной крови, которые инкубировали при 37°C в течение 24 часов. Один образец крови использовали в качестве контрольного. В другой образец вносили специфический рекомбинантный белок ESAT6-CFP10 (ООО «МонА») в концентрации 1 мг/мл. Для проведения анализа

по количественному определению ИФН- γ в образцах плазмы крови использовали соответствующие наборы реагентов: «Human Interferon Gamma ELISA Kit» и набор реагентов в составе тест-системы «Тубинферон» (регр. удостоверение ФСР № 2011/1269 12/07 2011 г., ООО «МонА», Россия). Исследовали препараты рекомбинантного белка ESAT6-CFP10, который является специфическим индуктором ИФН- γ . Оценено присутствие бактериальных эндотоксинов в соответствующих препаратах рекомбинантного белка ESAT6 – CFP10 с помощью так называемого LAL-теста (основан на реакции лизата клеток крови (амебоцитов) мексехостов рода *Limulus* с эндотоксинами). Концентрация эндотоксина для антигена ESAT6-CFP10 не превышала норматива (от 6,25 ЕЭ/мг до 25 ЕЭ/мг) и составила 12,5 ЕЭ/мг, следовательно, индукция ИФН- γ была специфической.

Для проведения исследования использовали образцы плазмы крови после их инкубирования с рекомбинантным белком ESAT6-CFP10. В пробирки, содержащие по 1 мл плазмы, вносили по 20 мкл рекомбинантного белка и инкубировали при 37°C в течение 24 часов. Далее аккуратно, не встряхивая пробирки, отбирали 200-300 мкл образцов плазмы крови, которые затем использовали для анализа. Далее проводили количественное определение ИФН- γ с использованием набора реагентов «Тубинферон». Для анализа использовали калибровочный стандарт ИФН- γ , восстановленный из лиофилизированного препарата в фосфатно-солевом буферном растворе, начиная с концентрации 280 пг/мл, с последовательными разведениями 1:2 до 8,5 пг/мл, с помощью которого строили калибровочную кривую. Используя 96-луночный планшет из набора реагентов с фиксированными моноклональными антителами к ИФН- γ , вносили в лунки по 50 мкл буферного раствора из набора реагентов. Затем вносили образцы стандартов, исследуемые образцы и контрольный образец плазмы по 50 мкл в дублиях. Все образцы инкубировали 1 час при 37°C в термошейкере в режиме 360 качаний в мин. Далее лунки планшета четырехкратно отмывали с использованием моющего раствора, содержащего 0,05% твина – 20, при внесении моющего раствора по 250 мкл/лунку, с инкубацией по 1 мин. После отмывания планшет вытряхивали на фильтровальную бумагу. Далее использовали «реагент для анализа», представляющий собой антитела к ИФН- γ . Использовали разведение 1:60. Полученный раствор вносили в реакционные лунки по 100 мкл и инкубировали при 37°C 30 мин на шейкере. Затем повторяли процесс отмывки. Далее вносили «конъюгат» в разведении 1:100 в рабочем растворе с последующей инкубацией на термошейкере 30 мин и повтором этапа отмывки. Для последующей стадии использовали субстратную смесь, которая состояла из тетраметилбензидина с перекисью водорода и субстратного буферного раство-

ра в соотношении 1:7. Субстратную смесь, позволяющую определить результаты анализа, готовили непосредственно перед использованием. Планшет с образцами после внесения субстратной смеси инкубировали 20 мин при комнатной температуре, после чего реакцию останавливали добавлением 100 мкл ортофосфорной кислоты («стоп реагент») и измеряли спектрофотометрически оптическую плотность в лунках исследуемого планшета при 450 нм с использованием иммуноферментного анализатора BioRad.

Методика анализа уровня экспрессии мРНК четырех генов: *PDCD1*, *PDL2*, *BATF2* и *GBP5*

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. Супернатант после центрифугирования 400 мкл в виде бесцветной водной фазы переносили в стерильные промаркированные пробирки типа Эппендорф на 1,5 мл с 7 мкл магнитного сорбента (из набора «Амплитуб-РВ-Автомат» ООО «НПФ Синтол», сконцентрированного в 7-10 раз на магнитном штативе), перемешивали и оставляли на 15 – 20 мин для связывания РНК. Далее сорбент с РНК промывали последовательно 4М-гуанидинтиоцианатом в 50 мМ Na-ацетатном буфере pH 4,5, и 2 раза – 70% этанолом (по 400 мкл растворов), высушивали при 75°C и элюировали РНК в 100 мкл воды, обработанной DEPC (диэтилпиракарбонат) в течение 10 мин при 75°C. 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 пробирках для ПЦР готовили реакционные смеси для каждой анализируемой мРНК объемом по 20 мкл, содержащие по 10 пмоль праймеров и 5 мкл элюата РНК, отобранного на магнитном штативе. ОТ-ПЦР проводили по программе: 15 мин – при 45°C, 5 мин – при 95°C, далее – 40 циклов 20 с при 95°C и 30 с при 60°C на детектирующем термоциклере CFX-96 (Bio-Rad). Количественный уровень экспрессии изучаемых генов определяется по результатам ОТ-ПЦР в реальном времени, выражаемым в величинах пороговых циклов (*Ct*) для каждого образца мРНК, из которых затем вычитается величина *Ct* для конститутивного гена *GADPH*, в связи с чем некоторые итоговые значения *Ct* имели отрицательные значения.

Определение концентрации интерлейкина-6 в сыворотке крови

Этот цитокин участвует в каскаде иммунологических реакций по клеточному типу с активацией Th1 пути иммунного ответа. Увеличение концентрации интерлейкина-6 (ИЛ-6) свидетельствует о возможности организма ограничить специфическое (туберкулезное) воспаление и предотвратить распространение инфекции, прогрессирование заболевания. Однако этот цитокин участвует и в активации иммунной системы при любом вирусном заболевании. Для определения концентрации ИЛ-6 в сыворотке крови использовали наборы реагентов «IL-6 Human Elisa Kit, Sigma». Положительными при анализе активности воспаления принимались результаты более 8 пг/мл (по референтному значению из инструкции к применению).

Результаты исследований

В образцах крови пациентов из групп ТБ $n=8$ и ЛТИ $n=91$ исследовали уровень антиген-индуцированного ИФН- γ с использованием тест-системы «Тубинферон». Положительные результаты специфической индукции ИФН- γ (более 14 пг/мл) были отмечены в 95% случаев. Средние уровни антиген-специфической индукции ИФН- γ в группе ТБ и в группе ЛТИ не отличались, составляя $256 \pm 67,7$ пг/мл и $251 \pm 26,8$ пг/мл соответственно. Уровень антител, определяемый по коэффициенту позитивности, не дифференцировал пациентов с ТБ и ЛТИ. Для исключения воспалительных изменений у пациентов в момент исследования и определения активности специфического воспаления изучен уровень ИЛ-6. Об активности специфических воспалительных изменений свидетельствовал его показатель – более 8 пг/мл. По результатам исследований ИЛ-6 в группе ТБ положительные результаты были у 4/8 (50%) пациентов, а в группе ЛТИ – у 32/91 (35,2%).

При повторных КТ ОГК в течении 1 года у 29/32 (90,6%) пациентов группы ЛТИ были обнаружены ранее отсутствовавшие кальцинаты во внутригрудных лимфоузлах (ВГЛУ) или одиночные очаги в легочной ткани. Ситуация расценена как посттуберкулезные изменения и туберкулез легких и назначена противотуберкулезная химиотерапия. У всех пациентов группы ТБ и ЛТИ была изучена мРНК-опосредованная экспрессия 4-х генов: PDCD1, PDL2, BATF2 и GBP5 (табл. 1).

По данным, представленным в табл. 1, видно, что экспрессия генов PDL2, BATF2 и GBP5 статистически значимо отличалась между группами, что может использоваться в комплексе с другими методами при дифференцировании туберкулеза и ЛТИ. При

Таблица 1. Экспрессия генов, определяемая у пациентов изучаемых групп

Table 1. Gene expression determined in the patients of the studied groups

Ген	Группа	М*	Стандартная ошибка	p^{**}
PDCD1	ТБ	1,00	0,16	0,91
	ЛТИ	1,02	0,07	
PDL2	ТБ	1,18	0,22	0,01
	ЛТИ	0,33	0,07	
BATF2	ТБ	0,89	0,18	0,01
	ЛТИ	0,43	0,07	
GBP5	ТБ	1,33	0,14	0,005
	ЛТИ	0,82	0,12	

*М** среднее арифметическое порогового цикла (Ct). $Ct = Ct$ исследуемого гена – Ct GAPDH

*p^{**}* t-критерии Стьюдента

*М** arithmetic mean of the threshold cycle (Ct). $Ct = Ct$ of the tested gene – Ct GAPDH

*p^{**}* Student's t-test

анализе экспрессии гена PDCD1 статистически значимой разницы между группой ТБ и группой ЛТИ не установлено.

При сопоставлении результатов КТ ОГК с данными иммунологических и молекулярно-генетических параметров (одновременное увеличение ИФН- γ , ИЛ-6 и PDL2, BATF2 и GBP5) установлено появление кальцинатов и/или одиночных очагов в легких у 29/91 (31,9%) пациентов в течении года.

Следовательно, определение ИФН- γ , ИЛ-6 в сочетании с PDL2, BATF2 и GBP5 выше референсных значений среди лиц с положительным кожным тестом с АТР позволит сформировать группу наиболее высокого риска развития туберкулеза у пациентов с ЛТИ.

Закключение

Разработанный нами способ определения субклинических признаков активности туберкулезной инфекции у детей и подростков с ЛТИ состоит из двух компонентов (иммунологического – концентрация ИФН- γ , ИЛ-6 и молекулярно-генетического – мРНК экспрессия генов PDL2, BATF2 и GBP5). Одновременная регистрация уровня ИФН- γ , ИЛ-6 и мРНК экспрессия генов PDL2, BATF2 и GBP5 выше референсных значений указывает на высокий риск развития туберкулеза. Это было установлено у 29/91 (31,9%) пациентов с ЛТИ, у которых в течение 1 года при КТ ОГК обнаружены кальцинаты в ВГЛУ или очаги в легких.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии у них конфликта интересов.
Conflict of interest. The authors declare there is no conflict of interest.

ЛИТЕРАТУРА

1. Владимирский М.А. Васильева И. А., Самойлова А. Г., Рыбина О. А., Аксенова В. А. «Способ иммунологического определения активности туберкулезной инфекции у детей и подростков с латентной инфекцией». Патент РФ на изобретение № 2726789 от 15.07.2020.
2. Ёлов 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 // Туберкулез и болезни легких. – 2019. – Т.97, № 12. – С. 28-33.
3. Лозовская М.Э., Белушков В.В., Гурина О.П., Деметьева Е.А., Шibaкова Н.Д., Васильева Е.Б., Ключкова Л.В. Сопоставление лабораторных тестов QuantiFERON, Тубинферон и Диаскинтеста у детей с туберкулезной инфекцией // Клиническая лабораторная диагностика. – 2016. – Т.61, №12. – С. 838-842.
4. Мезенцева А.В., Тюлькова Т.Е., Чугаев Ю.П. и др.» Активность туберкулезного процесса при выявлении кальцинатов во внутригрудных лимфоузлах и легких // Туберкулез и болезни легких. – 2017. – Т. 95, №1. – С. 11-17).
5. Туберкулез у детей. URL.: https://cr.minzdrav.gov.ru/recommend/507_2. [Дата обращения: 01.10.2024].
6. Buonsenso Danilo M.D. Seddon James A. PhD, Esposito Susanna M.D.; Barcellini Lucia M.D. QuantiFERON-TB Gold Plus Performance in Children: A Narrative Review // The Pediatric Infectious Disease Journal. – 2023. – Vol. 42, № 5. – P. 158-165.
7. Colangeli R., Gupta A., Vinhas S.A., et al. Mycobacterium tuberculosis progresses through Two Phases of Latent Infection in Humans // Nat. Commun. – 2020. – № 11. – P. 4870.
8. de Araujo L.S., Vaas L.A.I., Ribeiro-Alves M., et al. Transcriptomic biomarkers for tuberculosis: evaluation of DOCK9, EP4A4, and NPC2 mRNA Expression in Peripheral Blood // Front. Microbiol. – 2016. – № 7. – P. 01586.
9. Drain P.K., Bajema K., Dowdy D. et al. Incipient and subclinical tuberculosis: a clinical review of early stages and progression of infection // Clin. Microbiol. – 2018. – № 31. – P. e00021-18 (2018).
10. Esmail H., Lai R.P., Lesovsky M. et al. Characterization of progressive HIV associated tuberculosis using 2-deoxy – [18F] fluoro Dglucose positron emission and computed tomography// Nat. Medicine. – 2016. – P.1090-1093.
11. Fisher R.A., Gollan B., Helaine S. et al. Persistent bacterial infections and persister cells // Nat. Rev. Microbiol. – 2017. – № 15. – P. 453-464.
12. Goletti, D., Petrone L., Ippolito G. et al. Preventive therapy for tuberculosis in rheumatological patients undergoing therapy with biological drugs // Expert. Rev. Anti. Infect. Ther. – 2018. – № 6. – P. 501- 512.
13. Kaforou M., Broderick C., Vito O., et al. Transcriptomics for child and adolescent tuberculosis // Immunol Rev. – 2022. – Vol. 309, № 1. – P. 97-122.
14. Khabibullina N.F., Kutuzova D., M., Burmistrova I.A., Lyadova I.V. The biological and clinical aspects of a latent tuberculosis infection // Trop. Med. Infect. Dis. – 2022. – № 7. – P. 48.
15. Sartori N. S., de Andrade N. P. B., da Silva Chakr R. M. Incidence of tuberculosis in patients receiving anti-TNF therapy for rheumatic diseases: a systematic review // Clin. Rheumatol. – 2020. – № 39. – P. 1439-1447.
16. Singhanian H., Verma R., Graham Ch. et al. A modular transcriptional signature identifies phenotypic heterogeneity of human tuberculosis infection // Nature communications. – 2018. № 1. – P. 1-17.
17. Soare, A., Gheorghiu A., Arama V. et al. Risk of active tuberculosis in patients with inflammatory arthritis receiving TNF inhibitors: a look beyond the baselinetuberculosis screening protocol // Clin. Rheumatol. – 2018. – № 37. – P. 2391-2397.
18. Tabone L., Verma R., Singhanian A., et al. Blood transcriptomics reveal the evolution and resolution of the immune response in tuberculosis // Journal Experimental of Medicine. – 2021. – Vol. 218, № 10. – P. 20210915.
19. Vladimirsky M.A., Lapenkova M.B., Rybina O.A., Aksanova V.A., Plehanova M.A. Immunologic analysis of active tuberculosis infection in children and adolescents. Journal of Immunology and Infectious diseases. – 2022. – Vol. 9, № 1. – P.1-8.
20. World Health Organization. Latent tuberculosis infection: updated and consolidated guidelines for programmatic management. Geneva, Switzerland 2018. PMID: 30277688 Bookshelf ID: NBK531235.
21. Xing-hao Yi, Bo Zhang, Yu-rong Fu, Zheng-jun Yi. STAT1 and its related molecules as potential biomarkers in *Mycobacterium tuberculosis* infection // J. Cell Mol. Med. – 2020. – Vol. 224. – P. 2866-2878.
22. Zhou J., Kong C., Shi Y., et al. Comparison of the Interferon-Gamma Release Assay with the traditional Methods for Detecting Mycobacterium tuberculosis Infection in children // Medicine. –2014. – Vol. 93, № 15. – P. 87.

REFERENCES

1. Vladimirskiy M.A. Vasilyeva I.A., Samoylova A.G., Rybina O.A., Aksanova V.A. *Sposob immunologicheskogo opredeleniya aktivnosti tuberkuleznoy infektsii u detey i podrostkov s latentnoy infektsiyey*. [The method for immunological assessing the activity of tuberculosis infection in children and adolescents]. RF Patent no. 2726789 as of 15.07.2020.
2. Elov A.A., Vladimirskiy 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, pp. 28-33. (In Russ.)
3. Lozovskaya M.E., Belushkov V.V., Gurina O.P., Dementyeva E.A., Shibakova N.D., Vasilyeva E.B., Klochova L.V. Comparison of laboratory tests of QuantiFERON, Tubinferon, and Diaskintest in children with tuberculosis infection. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*, 2016, vol. 61, no. 12, pp. 838-842. (In Russ.)
4. Mezentseva A.V., Tyulkova T.E., Chugaev Yu.P. et al. Activity of tuberculosis when calcification is detected in the chest lymph nodes and lungs. *Tuberculosis and Lung Diseases*, 2017, vol. 95, no. 1, pp. 11-17. (In Russ.)
5. *Tuberkulez u detey*. [Tuberculosis in children]. Available: https://cr.minzdrav.gov.ru/recommend/507_2. Accessed October 01, 2024
6. Buonsenso Danilo M.D., Seddon James A. PhD, Esposito Susanna M.D., Barcellini Lucia M.D. QuantiFERON-TB Gold Plus performance in children: a narrative review. *The Pediatric Infectious Disease Journal*, 2023, vol. 42, no. 5, pp. 158-165.
7. Colangeli R., Gupta A., Vinhas S.A. et al. Mycobacterium tuberculosis progresses through two phases of latent infection in humans. *Nat. Commun.*, 2020, no. 11, pp. 4870.
8. de Araujo L.S., Vaas L.A.I., Ribeiro-Alves M. et al. Transcriptomic biomarkers for tuberculosis: evaluation of DOCK9, EP4A4, and NPC2 mRNA expression in peripheral blood. *Front. Microbiol.*, 2016, no. 7, pp. 01586.
9. Drain P.K., Bajema K., Dowdy D. et al. Incipient and subclinical tuberculosis: a clinical review of early stages and progression of infection. *Clin. Microbiol.*, 2018, no. 31, pp. e00021-18 (2018).
10. Esmail H., Lai R.P., Lesovsky M. et al. Characterization of progressive HIV associated tuberculosis using 2-deoxy – [18F] fluoro Dglucose positron emission and computed tomography. *Nat. Medicine*, 2016, pp. 1090-1093.
11. Fisher R.A., Gollan B., Helaine S. et al. Persistent bacterial infections and persister cells. *Nat. Rev. Microbiol.*, 2017, no. 15, pp. 453-464.
12. Goletti, D., Petrone L., Ippolito G. et al. Preventive therapy for tuberculosis in rheumatological patients undergoing therapy with biological drugs. *Expert Rev. Anti. Infect. Ther.*, 2018, no. 6, pp. 501- 512.
13. Kaforou M., Broderick C., Vito O. et al. Transcriptomics for child and adolescent tuberculosis. *Immunol. Rev.*, 2022, vol. 309, no. 1, pp. 97-122.
14. Khabibullina N.F., Kutuzova D.M., Burmistrova I.A., Lyadova I.V. The biological and clinical aspects of a latent tuberculosis infection. *Trop. Med. Infect. Dis.*, 2022, no. 7, pp. 48.
15. Sartori N.S., de Andrade N.P.B., da Silva Chakr R.M. Incidence of tuberculosis in patients receiving anti-TNF therapy for rheumatic diseases: a systematic review. *Clin. Rheumatol.*, 2020, no. 39, pp. 1439-1447.
16. Singhanian H., Verma R., Graham Ch. et al. A modular transcriptional signature identifies phenotypic heterogeneity of human tuberculosis infection. *Nature Communications*, 2018, no. 1, pp. 1-17.
17. Soare, A., Gheorghiu A., Arama V. et al. Risk of active tuberculosis in patients with inflammatory arthritis receiving TNF inhibitors: a look beyond the baselinetuberculosis screening protocol. *Clin. Rheumatol.*, 2018, no. 37, pp. 2391-2397.
18. Tabone L., Verma R., Singhanian A. et al. Blood transcriptomics reveal the evolution and resolution of the immune response in tuberculosis. *Journal Experimental of Medicine*, 2021, vol. 218, no. 10, pp. 20210915.
19. Vladimirsky M.A., Lapenkova M.B., Rybina O.A., Aksanova V.A., Plehanova M.A. Immunologic analysis of active tuberculosis infection in children and adolescents. *Journal of Immunology and Infectious Diseases*, 2022, vol. 9, no. 1, pp. 1-8.
20. World Health Organization. Latent tuberculosis infection: updated and consolidated guidelines for programmatic management. Geneva, Switzerland 2018. PMID: 30277688 Bookshelf ID: NBK531235.
21. Xing-hao Yi, Bo Zhang, Yu-rong Fu, Zheng-jun Yi. STAT1 and its related molecules as potential biomarkers in *Mycobacterium tuberculosis* infection. *J. Cell Mol. Med.*, 2020, vol. 224, pp. 2866-2878.
22. Zhou J., Kong C., Shi Y. et al. Comparison of the Interferon-Gamma Release Assay with the traditional Methods for Detecting Mycobacterium tuberculosis Infection in children. *Medicine*, 2014, vol. 93, no. 15, pp. 87.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ:

ФГБУ «Научный медицинский исследовательский центр
фтизиопульмонологии и инфекционных заболеваний»
МЗ РФ
127473, Москва, ул. Достоевского, д. 4, к. 2
Тел. + 7 (495) 681-11-66

Владимирский Михаил Александрович

Д. м. н., профессор, заведующий научной лабораторией
иммунопатологии и иммунодиагностики туберкулезной
инфекции
E-mail: mvladimirskij@mail.ru

Лапенкова Марина Борисовна

К. м. н., научный сотрудник лаборатории
иммунопатологии и иммунодиагностики туберкулезной
инфекции.
E-mail: manyshik@list.ru

Ёлов Андрей Александрович

Д. б. н., ведущий научный сотрудник лаборатории
иммунопатологии и иммунодиагностики туберкулезной
инфекции.
E-mail: anyol@mail.ru

Аксёнова Валентина Александровна

Д. м. н., профессор

ГБУЗ МО «Московский областной клинический
противотуберкулезный диспансер»
127030, Москва, пл. Борьбы 11, стр. 1
Тел.: +7 (496) 588-41-29

Плекханова Мария Александровна

Д. м. н, доцент, заместитель главного врача
по научно-клинической работе
E-mail: dina-plus@mail.ru

Смердин Сергей Викторович

Д. м. н, профессор, заслуженный врач РФ, главный врач
E-mail: smerdin_030@mail.ru

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский
центр кардиологии имени академика Е.И. Чазова» МЗ РФ
121552, Москва, ул. Ак. Чазова, д. 15А

Руткевич Павел Николаевич

Научный сотрудник лаборатории НИИЭК
им. ак. В.Н. Смирнова
E-mail: routkevich@yandex.ru

INFORMATION ABOUT AUTHORS:

National Medical Research Center of Phthisiopulmonology
and Infectious Diseases, Russian Ministry of Health
Build. 2, 4 Dostoevskiy St., Moscow, 127473
Phone: + 7 (495) 681-11-66

Mikhail A. Vladimirskiy

Doctor of Medical Sciences, Professor,
Head of Research Laboratory of Immunopathology
and Immunodiagnostics
of Tuberculosis Infection
Email: mvladimirskij@mail.ru

Marina B. Lapenkova

Candidate of Medical Sciences,
Researcher of Laboratory of Immunopathology
and Immunodiagnostics of Tuberculosis Infection
Email: manyshik@list.ru

Andrey A. Elov

Doctor of Biological Sciences, Leading Researcher
of Laboratory of Immunopathology and Immunodiagnostics
of Tuberculosis Infection
Email: anyol@mail.ru

Valentina A. Aksenova

Doctor of Medical Sciences, Professor

Moscow Regional Clinical TB Dispensary
11 Bd. 1 Borby Sq., Moscow, 127030
Phone: +7 (496) 588-41-29

Maria A. Plekhanova

Doctor of Medical Sciences, Associate Professor,
Deputy Head Physician for Research and Clinical Activities
Email: dina-plus@mail.ru

Sergey V. Smerdin

Doctor of Medical Sciences, Professor, Honored Doctor
of Russia, Head Physician
Email: smerdin_030@mail.ru

E.I. Chazov National Medical Research Center of Cardiology,
Russian of Health Russia
15A Ak. Chazov St., Moscow, 121552

Pavel N. Rutkevich

Researcher of the Laboratory, V.N. Smirnov Research Institute
of Experimental Cardiology
Email: routkevich@yandex.ru

Поступила 24.01.2024

Submitted as of 24.01.2024