

Вакцинопрофилактика и аллергодиагностика туберкулеза

Д.Т. Леви¹ (levidt@mail.ru), Ю.И. Обухов¹, М.В. Альварес Фигероа²

¹ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Минздрава России, Москва

²ФБУН «ЦНИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора, Москва

Резюме

В статье представлена обширная характеристика единственной в мире вакцины против туберкулеза – история ее создания и практика применения. Подробно рассмотрены сильные и слабые стороны вакцины, способы ее усовершенствования. Показаны трудности и перспективы создания новых вакцин против туберкулеза. Большое место в статье отведено препаратам, используемым для диагностики туберкулеза.

Ключевые слова: туберкулез, вакцинация, БЦЖ, поствакцинальные реакции, туберкулинодиагностика, туберкулин, Диаскинтест®

Tuberculosis – Vaccinal Prevantion and Allergodiagnosics

D.T. Levi¹ (levidt@mail.ru), Yu.I. Obukhov¹, M.V. Alvares Figeroa²

¹Federal State Budgetary Institution «Scientific Center for Expertise of Medical Products» of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation

²Central Research Institute of Epidemiology of Federal Service on Customers' Rights Protection and Human Well-Being Surveillance, Moscow

Abstract

The article details the history and practice single in the world vaccine used against tuberculosis. Showed strengths and weaknesses of the vaccine, methods of its improvement. Lighted the challenges and opportunities for development of new vaccines against tuberculosis. Much attention in the article devote to drugs used for the diagnosis of tuberculosis

Key words: tuberculosis, vaccinal prevantion, BCG, postvaccinal reaction, tuberculindiagnostic, tuberculin, Diaskintest®

Бациллы Кальмета–Герена (БЦЖ – бациллы Кальмета–Герена, *Bacillus Calmette–Guerin*, BCG) были предложены французскими учеными, чьими именами эти микобактерии названы, в качестве живой аттенуированной вакцины против туберкулеза (ТБ). Штамм БЦЖ был получен путем многочисленных пассажей вирулентного штамма *Mycobacterium bovis* с целью снижения его вирулентности, что подтвердили затем на многих моделях животных. Исследования проходили в течение 13 лет, и первое применение вакцины в июле 1921 года показало ее безопасность и эффективность [1]. В 1924 году А. Кальмет (A. Calmette) предложил культуру БЦЖ для широкого изучения. Штамм БЦЖ был привезен в Москву известным русским ученым Л.А. Тарасевичем, который получил от А. Кальмета необходимую информацию о культивировании и способах приготовления вакцины. В 1925 году штамм был зарегистрирован в Государственном контрольном институте сывороток и вакцин как субштамм БЦЖ-1.

В 1926 году в России специальной комиссией было принято решение о возможности начать вакцинацию новорожденных, имеющих контакт с больными туберкулезом. В 1942 году в СССР был издан

закон об обязательной вакцинации новорожденных в городских родильных домах (Приказ НКЗ от 31 августа 1942 г. № 448), а к 1953 году – новорожденных сельской местности и не инфицированных туберкулезом детей дошкольного возраста и учащихся (Постановление Совета Министров СССР от 25 октября 1948 г. № 3989 и приказы МЗ СССР от 12 ноября 1948 г. № 676 и от 3 июля 1952 г. № 584) [2].

Вакцина БЦЖ – старейшая постоянно используемая в мире вакцина. С 1960-х годов XX века этой вакциной в мире привито более 4 млн человек, и ее продолжают использовать для рутинной иммунизации. Несмотря на такое широкое применение вакцины БЦЖ, туберкулез продолжает оставаться главной причиной смерти от излечимых инфекционных заболеваний. ВОЗ установила, что около трети населения мира инфицировано *Mycobacterium tuberculosis*. Ежегодно этот микроорганизм вызывает более 8 млн новых случаев заболевания и более 2 млн смертей. Многие авторы считают, что нет более противоречивого профилактического препарата, чем вакцина БЦЖ. При отсутствии надежного лабораторного и серологического маркера иммунитета к *M. tuberculosis* затруднительно

определить, как действует БЦЖ и какой уровень защиты она обеспечивает. В этом заключается причина расхождений в оценке эффективности туберкулезной вакцины при ее изучении на модели животных и в полевых испытаниях на людях. Одни исследователи определяют эффективность вакцины на уровне 80%, другие считают ее бесполезной. Нет сомнений, что эти данные зависят от используемого препарата, уровня заболеваемости и инфицирования туберкулезом контингента, на котором проводится оценка, от массивности заражения и ряда других причин. Существенную роль играет возраст прививаемых. Считается, что вакцина БЦЖ не защищает взрослых от легочного туберкулеза, не предотвращает инфицирования микобактериями туберкулеза, но предупреждает развитие наиболее опасных клинических форм инфекции (милиарный туберкулез, туберкулезный менингит), связанных с гематогенным распространением бактерий [3 – 5]. Подавление гематогенного распространения возбудителей туберкулеза снижает риск развития заболевания или реактивации процесса. Именно потому, что снижается риск заболевания, а не предупреждение самой инфекции, существуют различия в протективном эффекте БЦЖ, зависящие от типа туберкулезной инфекции. При обследовании новорожденных (Muint et al., 1987), привитых БЦЖ, было показано, что эффективность вакцинации (т.е. меры защиты от развития туберкулеза) может изменяться в широком диапазоне в зависимости от формы туберкулеза [6, 7]. По данным ВОЗ, защитная эффективность БЦЖ против возникновения первичного туберкулезного комплекса и лимфаденита составляет 32%, туберкулеза костей – 39%, туберкулезного менингита – 50%, диссеминированного туберкулеза – до 80%. Отечественные исследователи указывают, что защитный эффект вакцинации БЦЖ от туберкулезного менингита значительно выше. Так, в начале XXI века в России регистрировали около 200 случаев туберкулезного менингита ежегодно, в 2012 году – 20 случаев, в 2013 – только 10.

Следует учитывать значительную роль дозы заражения. Организм вакцинированного может не справиться с большой дозой инфицирования микобактериями туберкулеза. К такому же результату приводит снижение естественной резистентности организма или специфического иммунитета под воздействием ряда причин [8]. Но если вакцинированный БЦЖ ребенок заболел, его лечение проходит успешнее, чем невакцинированного, а остаточные явления либо отсутствуют, либо менее значительны [3].

Заболеваемость туберкулезом к последним десятилетиям XX века значительно снизилась (во многом благодаря вакцинации БЦЖ), и многие индустриально развитые страны ограничили применение вакцинации из-за ее нерентабельности на фоне низкой заболеваемости. Однако в

1980 – 1990 годах интерес к БЦЖ-вакцинации возобновился в связи с изменившейся ситуацией. Первый подъем заболеваемости туберкулезом на мировом уровне был связан с присоединением туберкулеза к ВИЧ-инфекции. Подсчитано, что от общего числа инфицированных микобактериями туберкулеза иммунокомпетентных взрослых только 5 – 10% в течение жизни подвергаются риску заболеть туберкулезом [9]. У зараженных *M. tuberculosis* ВИЧ-инфицированных лиц, не получающих специфического противовирусного лечения, риск развития туберкулеза достигает 5 – 10% всего лишь в течение года. В конце 1980-х – начале 1990-х годов именно туберкулез в сочетании с ВИЧ-инфекцией и иммигранты из стран с достаточно высоким уровнем распространенности ТБ обусловили подъем заболеваемости в США.

Подъем заболеваемости туберкулезом был также вызван появлением резистентных к большинству препаратов 1-го ряда штаммов, которые выявлены во всех регионах мира [10]. В связи с этим некоторые страны поставили вопрос о возвращении ранее отмененной вакцинации БЦЖ.

В наши дни в России, как и во многих других странах, фиксируются случаи выделения от больных мультирезистентных штаммов и даже штаммов с широкой лекарственной устойчивостью к препаратам против туберкулеза. Число таких случаев увеличивается с каждым годом. Многие считают туберкулез, вызванный мультирезистентными штаммами, неизлечимым. По-новому звучит вопрос: может ли вакцина БЦЖ защитить от развития туберкулеза, если речь идет о заражении такими штаммами? При этом в настоящее время мировое медицинское сообщество в качестве главных задач программы борьбы с туберкулезом выделяет две – выявление больных и иммунизацию.

Оптимальным способом иммунизации до настоящего времени считают внутрикожную инъекцию БЦЖ, которая требует высокой техники введения и соблюдения дозы, чтобы получить адекватный уровень ответа клеточного звена иммунитета при минимальном числе поствакцинальных реакций [11, 12]. Особенно опасен туберкулез для детей раннего возраста. Поэтому ВОЗ рекомендует вакцинировать ребенка в период новорожденности или как можно раньше, если по каким-то причинам в регламентированный срок вакцинация не была проведена. О пристальном внимании ВОЗ к этому вопросу свидетельствуют принятие в 2011 году новых требований к вакцине БЦЖ. и утверждение новых стандартов для субштаммов БЦЖ, из которых в основном готовится вакцина (Японский, Датский, Российский) [13].

Вакцина БЦЖ – живая вакцина, ее защитный эффект определяется остаточной вирулентностью клеток БЦЖ, то есть их способностью к внутриклеточному размножению в организме. Это свойство вакцинного штамма обуславливает его

способность приживаться и достаточно длительное время размножаться в привитом организме, вызывая иммунологическую перестройку без клинического проявления специфического инфекционного заболевания. Это же свойство вакцины приводит к неизбежности поствакцинальных реакций и осложнений, которые известны давно и сопутствуют ей с начала массового применения препарата [14, 15].

Ранее было показано, что возникновение поствакцинальных нежелательных явлений на первичную вакцинацию против туберкулеза в равной степени может быть обусловлено нарушением инструкции по применению препарата и техники его введения, а также состоянием здоровья матери во время беременности и новорожденного от вакцинации до формирования иммунного ответа [16]. Ретроспективные исследования показали, что около 10% БЦЖ-остеитов являются следствием нарушения инструкции по применению вакцины БЦЖ, запрещающей парентеральные вмешательства в день вакцинации против туберкулеза. Известно также, что более глубокое, чем в поверхностный слой кожи, введение вакцины может быть причиной холодных абсцессов, спровоцировать лимфаденит и другие нежелательные поствакцинальные явления. Надо иметь в виду, что келоидный рубец развивается не только при неадекватном ответе организма, но и при не правильно выбранном месте введения препарата [17]. Ряд инфекционных заболеваний женщины во время беременности, так же как и заболевания ребенка в период формирования иммунитета, могут привести к нарушению иммунного статуса ребенка, что, в свою очередь, приводит к развитию поствакцинальных реакций на живую вакцину против туберкулеза. Несомненно, бывает сложно доказать действительную причину осложненного течения поствакцинального периода после иммунизации против туберкулеза, особенно в сравнении с другими прививками, так как нежелательные реакции после БЦЖ возникают спустя достаточно длительное время. Как правило, сначала на них обращает внимание мать ребенка или педиатр во время осмотра ребенка. Примерно 65 – 70% поствакцинальных реакций выявляют в течение первых 6 месяцев после вакцинации, 11 – 25% – через 7 – 12 месяцев и 10 – 19% – через год и более.

Как отмечено выше, причиной поствакцинальных нежелательных явлений может быть вакцина БЦЖ. Во многих странах с целью снижения частоты поствакцинальных реакций новорожденные и дети младшего возраста прививаются так называемой педиатрической вакциной БЦЖ, которая представляет собой половину или четверть обычной дозы вакцины БЦЖ. В нашей стране в 80-х годах XX века была создана и внедрена в практику вакцина для щадящей иммунизации – БЦЖ-М, в прививочной дозе которой содержится

в два раза меньше клеток БЦЖ (0,025 мг), чем в обычной (0,05 мг). Число жизнеспособных клеток в прививочных дозах этих вакцин (500 тыс. – 750 тыс. и 500 тыс. – 1,5 млн соответственно) по нижнему лимиту практически одинаково. Известно, что в формировании противотуберкулезного иммунитета играют роль как инактивированные клетки БЦЖ, так и живые [17]. Поэтому показатель жизнеспособности клеток серий вакцин БЦЖ и БЦЖ-М, при введении которых возникли нежелательные поствакцинальные явления, стал предметом специального исследования. Анализ и статистическую обработку данных проводили с учетом года выпуска серии вакцины, вызвавшей поствакцинальные реакции и/или осложнения, поскольку извещения о них поступают значительно позже. Все серии вакцин (кроме двух серий, на которые были получены рекламации по растворимости) соответствовали требованиям по всем показателям, включая показатель жизнеспособности. Однако исследование показало, что с увеличением числа жизнеспособных клеток в препарате (а значит, и в прививочной дозе) регистрируется пропорционально больше нежелательных поствакцинальных явлений после вакцинации как БЦЖ, так и БЦЖ-М. После прививки вакцинами, содержание жизнеспособных клеток в которых находилось в пределах от среднего до нижнего допустимого лимита, было зарегистрировано в 2 – 4 раза меньше нежелательных явлений по сравнению с теми, в которых показатель жизнеспособности клеток был выше среднего лимита или на уровне верхней допустимой границы. Аналогичные данные получены по отдельным видам поствакцинальных реакций и осложнений. При использовании серий вакцин с более высоким содержанием живых клеток БЦЖ в прививочной дозе отмечается пропорционально больше случаев лимфаденитов и оститов. Эти данные со всей очевидностью свидетельствуют, что усилия должны быть направлены не на отмену прививок против ТБ из-за их побочного действия, а на выявление причин поствакцинальных осложнений и разработку мер по их устранению.

Полученные результаты послужили основанием для снижения (с 01.01.2012 г.) верхнего лимита живых клеток БЦЖ в прививочной дозе. В 2013 году отмечено сокращение числа регистрируемых лимфаденитов. О снижении числа серьезных осложнений, которые могут быть выявлены значительно позже, можно будет судить только через 2 – 3 года.

Все вышеизложенное, несомненно, не позволяет считать вакцину БЦЖ идеальным препаратом для профилактики туберкулеза. В конце XX века подъем заболеваемости туберкулезом вместо ожидаемой ее ликвидации в развитых странах заставил по-новому посмотреть на проблему специфической профилактики этой инфекции. Многие исследователи приступили к разра-

ботке новых вакцин [18 – 20]. К этому времени был расшифрован геном *M. tuberculosis*, показаны делеция ряда геномных участков в субштаммах БЦЖ относительно других представителей комплекса микобактерий туберкулеза и различия между самими субштаммами [21, 22]. Итогом была новая концепция противотуберкулезной вакцины. Так, Рабочая группа по новым ТБ-вакцинам Stop TB Partnership определила требования к новым ТБ-вакцинам, основные из которых заключаются в предотвращении: инфицирования (БЦЖ не обладает этим свойством), первичного заболевания, латентной инфекции, реактивации латентной инфекции.

Современный подход к разработке вакцин против ТБ должен быть основан на новом понимании механизма патогенетических и иммунологических процессов в организме хозяина, развивающихся в ответ на *M. tuberculosis*. К началу XXI века появилось около 200 кандидатов новой туберкулезной вакцины, большинство из которых завершили свое существование на уровне доклинических испытаний.

В настоящее время разрабатываются вакцины для первичной вакцинации, буст-вакцины, постинфекционные и лечебные вакцины, комбинированные препараты. По способу получения вакцины принято делить на:

- субъединичные (антигены плюс адъюванты);
- живые рекомбинантные из БЦЖ (в ДНК которых введены антигены *M. tuberculosis* или *L. monocytogenes*);
- живые рекомбинантные из *M. tuberculosis* (из ДНК убраны антигены вирулентности) или из нетуберкулезных микобактерий;
- живые ауксотрофные (ограничение способности деления клетки микобактерии, до 1 – 3 месяцев, т.е. способности размножиться в организме привитого);
- на вирусном носителе (векторные);
- дезинтегрированные *M. tuberculosis* с адъювантом [23 – 25] и др.

После того как вакцина разработана и доклинические испытания успешно завершены, проводятся клинические испытания безопасности, иммуногенности и эффективности препарата. Результаты продвижения вакцин по фазам испытания постоянно публикуются. Лишь единицы из числа ТБ-вакцин дошли до конца второй фазы клинических испытаний и получили разрешение на третью фазу. Самая продвинутая из всех – векторная вакцина Анкара (Ag85 на вирусном носителе, 2002 г.), на которую возлагались большие надежды, – в 2013 году, проходя третью фазу клинических испытаний, потерпела неудачу в качестве бустерного препарата [24, 26].

Как правило, для оценки эффективности туберкулезных вакцин необходимо около 10 лет. Это означает, что в ближайшие годы мы не можем рассчитывать на препарат, который мог бы заменить вакцину

БЦЖ, даже если он будет разработан. Поэтому усилия ряда исследователей направлены на усовершенствование вакцины БЦЖ с целью повышения ее защитного эффекта и снижения реактогенности.

Как при вакцинации БЦЖ, так и при инфицировании микобактериями организм человека отвечает определенной иммунологической реакцией и становится чувствительным (т.е. сенсибилизированным) к последующему введению антигенов из микобактерий. Эта чувствительность, имеющая диагностическое значение, носит замедленный характер (специфическая реакция проявляется спустя 24 – 72 часа). Она получила название «гиперчувствительность замедленного типа» (ГЗТ).

Препаратом для выявления ГЗТ к микобактериям является туберкулин. Впервые он был получен в 1890 году Р. Кохом, который установил важнейший факт – реакция на туберкулин наблюдается у больных туберкулезом или у лиц, контактировавших с такими больными. Ученый предполагал использовать туберкулин в терапевтических целях. Первый туберкулин получил название АТК (альтутуберкулин Коха). Однако наличие в конечном продукте белков мясного глицеринового бульона, на котором выращивают микобактерии при производстве АТК, приводило к неспецифической сенсибилизации организма и становилось причиной неспецифических реакций на туберкулин, а его подкожное введение в лечебных целях часто вызывало сильную негативную реакцию у больных туберкулезом. К. Пирке ввел в медицинскую практику понятие «аллергия и скарификационная кожная проба». В 1908 году Ч. Манту и Ф. Мендель одновременно предложили внутрикожное введение туберкулина, что позволило, измеряя образующуюся папулу, улучшить оценку результатов реакции. Тест получил название «проба Манту» [27].

В мире в основном используют очищенный туберкулин ППД (PPD – purified protein derivate) – очищенный дериват туберкулина, впервые разработанный F. Seibert в 1934 году из осажденных сульфатом аммония фильтратов культур *M. tuberculosis*, инактивированных нагреванием [28]. Термин «туберкулин» используется во всем мире для обозначения препаратов из видов микобактерий, входящих в *M. tuberculosis complex*. Другие виды микобактерий также способны сенсибилизировать организм человека. Среди этих микобактерий с разной степенью патогенности для человека, которые принято называть атипичными или нетуберкулезными, есть виды, имеющие как целый ряд общих с микобактериями туберкулеза антигенов, так и менее значительное их количество (это более характерно для сапрофитных микобактерий) [29]. Наличие таких антигенов является причиной перекрестных реакций на туберкулин у лиц, сенсибилизированных нетуберкулезными микобактериями. Препараты из атипичных микобактерий M. Magnusson [30] предложил называть сенситинами. Ряд исследователей по-

лагают, что название «элизитины» более подходит для этих препаратов, так как они могут лишь реализовывать реакцию туберкулинового типа, а не сенсibilизировать организм.

Основной компонент туберкулина – туберкулопротеин – является смесью антигенов и антигенных детерминант микобактерий с молекулярной массой от нескольких единиц до 200 кДа. Содержание белка в зависимости от метода осаждения колеблется от 50% (ППД, осажденные трихлоруксусной кислотой) до 95% (ППД, осажденные сульфатом аммония). Несмотря на название «очищенный дериват протеина», туберкулин ППД также содержит полисахариды, липиды, небольшое количество примесей нуклеиновых кислот и неорганических веществ.

Отечественный туберкулин по специфичности и активности не отличается от широко используемого в мире туберкулина RT23 производства Датского института сывороток (SSI),

Туберкулинодиагностика – совокупность диагностических тестов для определения специфической сенсibilизации организма к микобактериям туберкулеза с использованием туберкулина. В современных условиях туберкулинодиагностика является основным методом раннего выявления туберкулеза у детей и подростков. Ее также широко используют для отбора контингентов для вакцинации и ревакцинации БЦЖ, оценки результативности противотуберкулезных прививок, в целях проведения эпидемиологического анализа инфицирования населения микобактериями.

Туберкулинодиагностику подразделяют на массовую и индивидуальную. Для индивидуальной туберкулинодиагностики, которую проводят только в специализированных медицинских учреждениях, используют последовательные десятикратные разведения очищенного туберкулина, лиофилизата (в ампуле 50 000 ТЕ). Применение разведений очищенного туберкулина, лиофилизата вне противотуберкулезных учреждений запрещено Приказом МЗиСР РФ от 21.03.2003 года № 109 [31].

Для массовой туберкулинодиагностики используют только пробу Манту с 2 ТЕ аллерегена туберкулезного очищенного в стандартном разведении (очищенный туберкулин в стандартном разведении). Пробу Манту с 2 ТЕ проводят всем детям и подросткам, вакцинированным БЦЖ, один раз в год. Первую пробу Манту проводят ребенку в 12-месячном возрасте. Детям, не вакцинированным БЦЖ, пробу Манту делают с 6-месячного возраста один раз в 6 месяцев до получения ребенком прививки БЦЖ, в дальнейшем – по общепринятой методике раз в год. Невакцинированным детям старше двух месяцев перед вакцинацией БЦЖ ставят пробу Манту, чтобы исключить вакцинацию инфицированного ребенка и таким образом – возможный сингенный эффект.

Изучение результатов туберкулинодиагностики у детей и подростков показало зависимость интенсивности ответных реакций на 2 ТЕ ППД-Л

от целого ряда факторов, что следует учитывать при оценке результатов. Многими авторами подтверждена прямая корреляция интенсивности реакции на пробу Манту с величиной поствакцинального знака БЦЖ. У детей, родившихся с массой тела 4 кг и больше, чувствительность к туберкулину выше; грудное вскармливание дольше 11 месяцев также влечет за собой более сильные реакции на 2 ТЕ (возможно, это связано с низким содержанием железа в молоке). Глистные инвазии, пищевая аллергия, острые заболевания органов дыхания повышают чувствительность к туберкулину. У пациента с группой крови II (A) чаще выявляют высокую чувствительность к туберкулину, что коррелирует с предрасположенностью больных туберкулезом легких с такой же группой крови к экссудативному типу морфологических реакций. В условиях экзогенной суперинфекции, при гипертиреозах, аллергии, вирусном гепатите, гриппе, ожирении, сопутствующих инфекционных заболеваниях, хронических очагах инфекции, на фоне введения некоторых белковых препаратов, приеме тиреоидина туберкулиновые реакции усиливаются. Известно, что положительный результат пробы Манту может быть обусловлен инфицированием нетуберкулезными микобактериями. На чувствительность к туберкулину оказывают влияние прививки против детских инфекций (АКДС, АДС-М, коревая, паротитная вакцины). Именно поэтому проведение туберкулиновых проб планируют до проведения профилактических прививок против детских инфекций, которые можно делать в день оценки пробы Манту, если размер реакции на туберкулин не требуют вмешательства специалистов.

Вторая половина XX века ознаменовалась интенсивным развитием генетики, геномной инженерии, иммунологии, молекулярной биологии, что, в частности, позволило исследовать механизм туберкулиновых реакций. В результате инфицирования организма микобактериями происходит накопление зрелых клеток CD4+ (TH1-сенсibilизированные лимфоциты). При повторном введении антигена (туберкулина) происходит его презентация на поверхности макрофагов. Зрелые клетки CD4+, распознав антиген, начинают продукцию набора цитокинов, в частности гамма-интерферона – небольших пептидных информационных молекул, которые являются регуляторами межклеточных и межсистемных взаимодействий, образующих очаг воспаления в зоне проникновения антигена. Эта реакция проходит по типу ГЗТ. Чем больше притянутых к антигену сенсibilизированных лимфоцитов, тем больше очаг воспаления. Происходит также повышение сосудистой проницаемости, приводящее к эритеме и отеку.

Положительная реакция на туберкулин почти всегда свидетельствует о сенсibilизации макроорганизма микобактериями (инфекция или вак-

цинация). Однако возможна пассивная передача туберкулиновой чувствительности несенсибилизированному лицу живыми лимфоидными клетками [32], или лимфокинами, – продуктами лимфоцитов, полученными от туберкулин-положительных доноров [33, 34]. Отмечено, что иногда на туберкулин или составные части растворителя – буферные соли, консервант, твин-80 – возникают реакции немедленного типа.

В любой человеческой популяции есть индивидуумы, у которых туберкулиновая гиперчувствительность не развивается даже после неоднократного введения вакцины БЦЖ [35, 36]. Причины отсутствия ответной реакции полностью не выяснены, тем более что у таких лиц обычно отмечается нормальный ответ на другие иммуногены [37, 38]. Имеются четкие эпидемиологические данные о том, что эти люди более чувствительны к последующему заражению вирулентными микобактериями туберкулеза, чем люди с нормальным иммунологическим ответом на вакцинацию. Отрицательные результаты реакции Манту могут отмечаться и в преаллергической фазе (4 – 8 недель) под влиянием многочисленных воздействий: вирусных и бактериальных инфекций, профилактических прививок. Вакцинация против кори в 75% случаев приводит к временной инверсии положительной реакции на туберкулин в отрицательную. Весной размеры реакции на туберкулин больше, чем осенью. Введение иммуноглобулина, переливание крови, гормональные, иммунодепрессивные и химиотерапевтические средства, саркоидоз, онкологические заболевания, острые формы туберкулеза ослабляют реакцию или делают ее отрицательной. Низкий уровень чувствительности к туберкулину может быть следствием неадекватной дозы антигена, плохого питания [37].

Отмечена достаточно высокая частота потенцирующего действия кожной туберкулиновой пробы на результат последующих проб при использовании низких доз препарата – так называемый бустер-эффект. Этот эффект заключается в том, что через неделю – полтора года после первого, чаще отрицательного, результата туберкулинового теста появляется положительная или увеличенная в размере реакция на повторное введение препарата. Проявляется бустер-эффект только у сенсибилизированных лиц, он описан также у детей, чья гиперчувствительность к туберкулину была ослаблена в течение многих лет. По одной из версий, бустер-эффект возникает, когда количество Т-клеток памяти недостаточно при первой инъекции, после которой их пролиферация вызывает более сильную реакцию при постановке второй пробе. Ряд авторов считают, что бустер-эффект – причина высокого уровня туберкулиновых конверсий, при этом сам по себе туберкулин, являясь гаптеном, не обладает сенсибилизирующими свойствами [39].

Известно, что реакция на туберкулиновую пробу не позволяет различить ГЗТ на туберкулезную

инфекцию и прививку БЦЖ. На размер туберкулиновой реакции влияет массивность заражения, а также способность микроба к размножению. Атенуированные штаммы быстрее выводятся из организма, поэтому при ограниченной способности БЦЖ размножаться в организме человека реакция на туберкулин у привитых через год ослабевает, а затем с годами затухает. По вопросу длительности сохранения поствакцинальной чувствительности к туберкулину и ее интенсивности единого мнения нет. При инфицировании микобактериями туберкулеза иммунизированных лиц диаметр индукции увеличивается.

Применение пробы Манту для диагностики туберкулеза у взрослых в определенной мере ограничено. В последнее десятилетие пробы с туберкулином *in vivo* интенсивно дополняются тестами *in vitro*, которые основаны на выявлении гамма-интерферона, выделяемого у инфицированных или больных туберкулезом лиц сенсибилизированными клетками CD4+ под действием специфических синтетических антигенов *M. tuberculosis* (тесты IGRA: ELISPOT, QFT и др.). Однако для выполнения этих высокоспецифичных тестов необходим забор крови, чаще из вены. Кроме того, высокая стоимость таких тест-систем ограничивает их применение и использование для массового скрининга только высокоразвитыми странами [40 – 44].

Более шести десятилетий XX века предпринимались многочисленные попытки выделить более специфичный антиген *M. tuberculosis*, способный вызывать реакции у людей при постановке кожного теста только в случае, если они инфицированы тем видом микобактерий, из которых приготовлен диагностический препарат. Однако попытки разделить видоспецифические и межвидовые антигены не имели успеха. С этой точки зрения в странах, где используется массовая вакцинация БЦЖ, продолжает оставаться актуальным вопрос дифференцирования поствакцинальной и инфекционной чувствительности к туберкулину.

Возможность получить более специфичный, чем туберкулин, туберкулезный аллерген тесно связана с расшифровкой генома *M. tuberculosis*. Первыми существование специфичных для *M. tuberculosis* участков генома продемонстрировали в 1996 году G. Mahairas с соавт. [26]. Применив вычитательную геномику для сравнения вирулентных *M. tuberculosis* и *M. bovis* с аттенуированной БЦЖ, они обнаружили в вакцинном штамме делецию трех геномных участков, обозначенных как RD1, RD2 и RD3. Впоследствии было выявлено, что у 84% клинических изолятов *M. tuberculosis* отсутствует участок RD3, а делеция участка RD2 была обнаружена не во всех субштаммах БЦЖ. В отличие от этих двух участков, геномный участок RD1, размером 9,5 кб, не был выявлен ни в одном субштамме БЦЖ, но обнаружен во всех протестированных лабораторных штаммах и клинических изолятах *M. tuberculosis*. В этой области кодируется синтез двух секреторных

белков ESAT-6 (early secreted antigenic target) и CFP-10 (culture filtrate protein). Возможность использования рекомбинантных белков ESAT-6 и CFP-10 для определения туберкулезной инфекции была детально изучена в экспериментах, проведенных в США, Германии, Дании и других странах [45 – 48]. Эти исследования показали, что с помощью вышеуказанных пептидов, используя их в различных тестах, можно установить инфицирование микобактериями туберкулеза. В дальнейшем были расшифрованы геномы других видов микобактерий, что показало высокую консервативность геномов комплекса *M. tuberculosis*, куда входят также *M. bovis*, *M. africanum*, *M. microti* и др. Тожественность их полногеномной ДНК составила 99,9% [49 – 51]. Реакции у вакцинированных БЦЖ животных при введении ESAT-6 или CFP-10 отсутствовали. В лаборатории биотехнологии НИИ молекулярной медицины ПМГМУ им И.М. Сеченова совместно с ЗАО «Мастерклон» был разработан новый рекомбинантный туберкулезный аллерген для кожного теста, получивший название Диаскинтест. Этот препарат представляет собой рекомбинантный белок. Для клонирования генов ESAT-6 и CFP-10 использован плазмидный вектор pQE30 (Qiagen), позволяющий экспрессировать белки с добавлением шести гистидиновых оснований на конце, что облегчает выделение рекомбинантного белка HIS. Амплификация генов ESAT-6 или CFP-10 из штамма *M. tuberculosis* H37Rv с последующей обработкой рестриктазами и клонированием в сайты плазмидного вектора pQE30 позволила получить плазмиду pQE30-ESAT6-CFP10, которая после трансфекции в штамм *E. coli* DLT 1279 обеспечивала синтез гибридного белка ESAT6-CFP10 [52, 53].

При проведении доклинических исследований установлено, что сенсibilизация организма животного только живыми микобактериями туберкулеза индуцирует ГЗТ к Диаскинтесту, в то время как ГЗТ к туберкулину возможно получить, сенсibilизируя морских свинок как живыми, так и инактивированными микобактериями. Это обстоятельство позволяет надеяться, что препарат Диаскинтест применим для определения активности туберкулезного процесса и оценки адекватности проводимого лечения [54]. Клинические испытания Диаскинтеста позволили подтвердить безопасность препарата и установить дозу 0,2 мкг в 0,1 мл как дозу, адекватную 2 ТЕ очищенного туберкулина в стандартном разведении, используемую для массовой туберкулинодиагностики при пробе Манту [54]. На основании всех этих данных Диаскинтест был зарегистрирован в России в 2008 году как препарат для внутрикожного теста с целью дополнительной диагностики туберкулеза. Постмаркетинговые исследования продолжаются практически до настоящего времени. Их цель – уточнить сферу применения препарата [55]. Изучалось использование препарата с целью скрининга и диагностики различных проявлений ту-

беркулезной инфекции у детей и подростков, а также диагностики туберкулеза у детей из семейного очага, у детей и подростков, состоящих в контакте с больными туберкулезом, в группах повышенного риска заболевания, для диагностики туберкулеза у больных ВИЧ-инфекцией [54]. Эти исследования показали успешное применение препарата для дифференциальной диагностики постинфекционной и поствакцинальной аллергии у детей с положительными результатами пробы Манту из групп диспансерного учета и при диагностике осложнений после вакцинации БЦЖ. Специальные исследования, проведенные с целью оценки клинико-экономических показателей препарата Диаскинтест, позволили установить, что препарат обладает высокой чувствительностью, пригоден для широкомасштабного производства и массового применения в качестве теста, подтверждающего диагноз, требует минимального лабораторного обеспечения и обучения персонала.

На сегодняшний день есть немало данных о наличии латентной (дремлющей) туберкулезной инфекции, но есть и факты, не позволяющие полностью подтвердить такое положение. Это теория, а на практике целый ряд тестов (в том числе и Диаскинтест, и гамма-интерфероновые тесты) могут свидетельствовать о персистенции микобактерий туберкулеза в организме. Эти тесты с определенной долей вероятности позволяют спрогнозировать риск манифестного туберкулеза. В таких случаях может быть рекомендовано проводить химиотерапию не только изониазидом, но и несколькими комбинациями противотуберкулезных препаратов. Иными словами, речь идет скорее о лечении не выявленного обычными методами туберкулеза [54]. В сравнительном испытании установлены высокая чувствительность и согласованность кожного диаскинтеста и квантиферонового теста *in vitro*. При этом, как считают авторы, Диаскинтест лишен ряда недостатков тестов *in vitro* (высокая стоимость, необходимость специального оборудования и квалифицированного персонала для работы на нем, забор крови) [54, 55]. Результаты постмаркетинговой оценки использования Диаскинтеста для обследования медико-биологической и социальной групп риска по туберкулезу среди взрослых свидетельствуют о том, что помимо уже отработанных показаний к применению препарат может быть использован для отбора пациентов, нуждающихся в превентивной терапии. Известно, что на туберкулин дети реагируют большими по размеру реакциями, чем взрослые, поэтому не вызывают удивления случаи отрицательных реакций на Диаскинтест у больных туберкулезом взрослых [56]. Некоторые исследователи считают, что Диаскинтест нашел свою нишу как специфический диагностический препарат при использовании у детей. Его роль в диагностике взрослых пока недостаточно изучена. Исследования продолжаются. ■

Литература

1. Блум Б.Р., Файн П.Е.М. Опыт вакцинации БЦЖ: будущее вакцины против туберкулеза. В кн.: Туберкулез: патогенез, защита, контроль. Карачунский М.А., ред. Москва: 2002: 575 – 605.
2. Аксенова В.В., Леви Д.Т. Туберкулезные вакцины. В кн.: Вакцины и вакцинация. Зверев В.В., Семенов Б.Ф., Хаитов Р.М., ред. Национальное руководство. Москва: ГЭОТАР-Медиа; 2011: 371 – 411.
3. Митинская Л.А. Туберкулез у детей. Москва: Кудесники; 2004.
4. Елуфимова В.Ф. Туберкулез мозговых оболочек и центральной нервной системы. В кн. Руководство по внутренним болезням, Т. 3. Москва: 1996: 438 – 452.
5. Аксенова В.А., Клевно Н.И., Севостьянова Т.А. Эпидемическая ситуация по туберкулезу у детей и подростков в России. Туберкулез и болезни легких. 2011; 4: 22.
6. Trunz B.V., Fine P., Dye C. Effect of BCG vaccination on childhood tuberculous meningitis and miliary tuberculosis worldwide: a meta-analysis and assessment of cost-effectiveness. *Lancet* 2006; 367 (9517): 1173 – 1180.
7. Митинская Л.А., Ефимова А.А., Лицева О.А. Эффективность вакцинации новорожденных вакциной БЦЖ и БЦЖ-М. Проблемы туберкулеза. 1990; 12: 3 – 8.
8. Поддубная Л.В., Шилова Е.П., Егошина И.Ю., Шакуро Ж.В. Диагностика активности туберкулезного процесса у детей. Туберкулез и болезни легких. 2013; 9: 16 – 19.
9. Смит П.Ж., Мосс А.Р. Эпидемиология туберкулеза. В кн.: Туберкулез, патогенез, защита, контроль. Карачунский М.А., ред. Москва: 2002: 49 – 62.
10. Черноусова Л.Н., Андреевская С.Н., Смирнова Т.Г., Земскова З.С., Ларионова Е.Е. Биологические свойства штаммов *M. tuberculosis* кластера W. Проблемы туберкулеза. 2008; 10: 45 – 50.
11. Barreto M.L., Cunha S.S., Pereira S.M., Genser B., Hijjar M.A., Ichihara M.Y. et al. Neonatal BCG protection against tuberculosis lasts for 20 years in Brazil. *Tuber. Lung Dis.* 2005; 9 (10):1171 – 1173.
12. Barreto M.L., Pereira S.M., Ferreira A.A. BCG vaccine: efficacy and indications for vaccination and revaccination. *J. Pediatr.* 2006; 82(3 Suppl):S45 – 54.
13. Ho M.M., Markey K., Rigsby P., Hockley J., Corbel M.J. Report on international collaborative study to establish the first. WHO reference reagent for three different substrains. *Vaccine.* 2011; 29: 512 – 518.
14. Vanicek H., Complications after initial BCG vaccination in a 5-year period in East Bohemia region. *Cesk. Pediatr.* 1988; 43: 23 – 26.
15. Lotte A., Wasz-Hockert O., Poisson N., Verron M., Couvet E. BCG complications. *Adv. Tuberc. Res.* 1988; 21: 107 – 193.
16. Закирова Н.Р. Осложнения после вакцинации и ревакцинации БЦЖ у детей на территории России. Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Москва. 1998.
17. Milstein J.B., Gibson J.J. Quality control of BCG vaccine by WHO. A review of factors that may affect vaccine effectiveness and safety. *Bull. World Health Org.* 1990; 88: 93 – 106.
18. Hess J., Miko D., Catic A., Lehmsiek V., Russell D.G., Kaufmann S.H.E. *Mycobacterium bovis* vacille Calmette–Guerin strains secreting listeriolysin of *Listeria monocytogenes*. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 1998; 95: 5299 – 5304.
19. Paterson R. Human trials start for new tuberculosis vaccine. *Lancet Infect. Dis.* 2001; 1: 291 – 296.
20. Bao L., Chen W., Zhang H., Wang X. Virulens, Immunogenicity and protective efficacy of two recombinant *Mycobacterium bovis* BCG strains expressing the antigen ESAT-6 from *Mycobacterium tuberculosis*. *Infect. Immun.* 2003; 71: 1656 – 1661.
21. Behr MA and Small PM A historical and molecular phylogeny of BCG strains. *Vaccine.* 1999; 17 (7 – 8): 915 – 922.
22. Seki M., Honda I., Fujita I., Yano I., Yamamoto S., Koyama A. Whole genome sequence analysis of *Mycobacterium bovis* BCG Tokio 172: A comparative study of BCG vaccine substrains. *Vaccine.* 2009; 27: 1710 – 1716.
23. Kamath A.T., Fruth U., Brennan M.J., Dobbelaer R., Hubrechts P., Ho M.M. et al. New live mycobacterial vaccines: The Geneva consensus on essential steps towards clinical development. *Vaccine.* 2005; 23: 3753 – 3761.
24. Ibang H.B., Brookes R.H., Hill P.C., Owiafe P.K., Fletcher H.A., Lienhardt C. et al. Early clinical trials with a new tuberculosis vaccine, MVA85A, in tuberculosis-endemic countries: Issues in study design. *Lancet Dis.* 2006; 6: 522 – 528.
25. Sun Ronggai, Skeiky Easir A.W., Dheenadhayalan V., Imam Z., Penn E. et al. Novel BCG expressing perfringolysin O and the over-expression of key immunodominant antigens; pre-clinical characterization, safety and protection against challenge with *Mycobacterium tuberculosis*. *Vaccine.* 2009; 27: 4412 – 4423.
26. Tameris M.D., Yatherill M., Landry B.S. et al. (the MVA85A O20 Trial study Team) Safety and efficacy of MVA85A, a new tuberculosis vaccine, in infants previously vaccinated with BCG: a randomized, placebo-controlled phase 2b trial. *The Lancet* 381; 9871: 1021 – 1028.
26. Mahairas G.G., Sabo P.J., Hickey M.J., Singh D.S. Molecular analysis of genetic differences between *Mycobacterium bovis* BCG and virulent *M. bovis*. *J. Bacteriol.* 1996; 178 (5): 1274 – 1282.
27. Лянда-Геллер Б.А. Получение высокоочищенных фракций очищенного сухого туберкулина, ее химическая и биологическая характеристика. Проблемы туберкулеза. 1963; 9: 67.
28. Seibert F.B., Du Four E. Purified protein derivative, its isolation from old tuberculin and fractionation of residue. *Amer. Rev. Tuberc.* 1940; 41: 57 – 70.
29. Литвинов В.И., Макарова М.В., Краснова М.А. Нетуберкулезные микобактерии. Москва: МНПЦБТ; 2008.
30. Magnusson M. Das tuberculin Herstellung, reinigung, standardisierung und chemischer aufbau. In: *Infektions – Krankheiten und ihre erreger.* Jena: VEB Gustav Fischer Verlag; 1967. Band. 4. Teil 11.
31. Приказ Минздрава РФ от 21.03.2003 г. № 109 «О совершенствовании противотуберкулезных мероприятий в Российской Федерации».
32. Литвинов В.И., Авербах М.М., Гергерт В.Я., Ключев В.А., Мороз А.М., Колодяжная Н.С. Повышенная чувствительность замедленного типа в противотуберкулезном иммунитете. Иммунология и иммунопатология туберкулеза. Авербах М.М., ред. Москва; 1976: 50 – 72.
33. Ключев В.А. Перенос повышенной чувствительности замедленного типа и устойчивости к туберкулезу. Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Москва. 1972.
34. Поспелов А.Л., Гергерт В.Я., Лепеха Л.Н., Егоров Е.Е., Вишнякова Х.С., Бочарова И.В. Эффективность применения сингенной и аллогенной трансплантации мезенхимальных стволовых клеток в терапии инфицированных микобактериями туберкулеза мышей. Туберкулез и болезни легких. 2013; 8: 28 – 33.
35. Van Eden W., De Vries R.R.P., Stanford J.L., Rook G.A.W. HLA–DR3 associated genetic control of response to multiple skin test with new tuberculins. *Clin. Exp. Immunol.* 1983; 52: 287 – 292.
36. Bullock W.E. Anergy and infection. *Adv. Internal. Med.* 1975; 21: 149 – 173.
37. Слогодская Л.В. Кожные иммунологические пробы при туберкулезе – история и современность. Туберкулез и болезни легких. 2013; 5: 39 – 46.
38. Nash D.R., Douglass J.E. Anergy in active pulmonary tuberculosis. *Chest.* 1980; 77: 32 – 37.
39. Menzies D. Interpretation of repeated Tuberculin test. Boosting, conversion, and reversion. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1999. 159; 1: 15 – 21.
40. Мейснер А.Ф., Стахеева Л.Б., Киселевич О.К. Вакцинация БЦЖ и плановая туберкулинодиагностика у московских детей. Российский педиатрический журнал. 2010; 3: 11 – 14.
41. Snell N.J. A comparison of Mantoux and tuberculin Tine testing in a chest Unit. *Tubercl.* 1979; 60: 99 – 104.
42. Мордовская Л.И., Владимирский М.А., Аксенова В.А., Ефремов Е.Е., Игнашенкова Г.И., Власик Т.Н. Индукция интерферона гамма в образцах цельной крови *in vitro* – тест для определения туберкулезного инфицирования детей и подростков. Проблемы туберкулеза и болезней легких. 2009; 6: 19 – 24.
43. De Kantor I.N. Diagnosis of latent tuberculosis infection in BCG – vaccinated subjects in China. *J. Tuberc. Lung Dis.* 2011; 15: 1510 – 1515.
44. Winthrop K.L., Nyendak M., Calvet H., Oh P., Lo M., Swarbrick G. et al. Interferon – release assays for diagnosing mycobacterium tuberculosis infection in renal dialysis patients. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* 2008; 3 (5): 1357 – 1363.
45. Arend S.M., Ottenhoff T.H.M., Andersen P., van Dissel J.T. Uncommon presentation of tuberculosis the potential value a novel diagnostic assay based on the *Mycobacterium tuberculosis* – specific antigens ESAT-6 and CFP-10. *J. Tub. Lung. Dis.* 2001; 5 (7): 680 – 686.
46. Doherty T.M., Demissie A., Olobo J., Wolday D., Andersen P. Immune Responses to the *Mycobacterium tuberculosis* –specific antigen ESAT-6 signal subclinical infection among Contacts of tuberculosis patients. *J. Clin. Microbiol.* 2002; 40 (2): 704 – 706.
47. Ferrara G., Losi M., D Amiro R. et al. Use in routine clinical practice of two commercial blood tests for diagnosis of infection with *Mycobacterium tuberculosis*: prospective study; *Lancet* 2006; 367 (9519): 1328 – 1334.
48. Ravn P., Munk M.E., Andersen AB. et al. Prospective evaluation of a whole – blood test using *Mycobacterium tuberculosis* –specific antigens ESAT-6 and CFP-10 for diagnosis of active tuberculosis. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 2005; 12 (4): 491 – 496.
49. Camus J.C., Pryor M.J., Mdigue C., Cole S.T. Re-annotation of the genome sequence of *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv. *Microbiology.* 2002; 148 (10): 2967 – 2973.
50. Fleischmann RD., Alland D., Eisen JA. et al. Whole-genome comparison of *Mycobacterium tuberculosis* clinical and laboratory strains. *J. Bacteriol.* 2002; 184: 5479 – 5490.
51. Fraser C.M., Eisen JA., Fleischmann RD. et al. Comparative genomics and understanding of microbial biology. *Emerg. Infect. Dis.* 2000; 6: 505 – 512.
52. Киселев В.И., Северин Е.С., Перельман М.И., Пальцев Г.А. Новые биотехнологические решения в диагностике и профилактике туберкулезной инфекции. Вестник НИИ молекулярной медицины. 2005; 5: 37 – 45.

53. Киселев В.И., Барановский П.М., Рудых И.В., Шустер А.М., Мартынов В.А., Медников Б.Л. и др. Клинические исследования нового кожного теста «ДИАСКИНТЕСТ» для диагностики туберкулеза. Проблемы туберкулеза и болезней легких. 2009; 2: 11 – 17.
54. Кожная проба с препаратом «Диаскинтест» – новые возможности идентификации туберкулезной инфекции. Пальцев М.А., ред. Москва. 2011.
55. Слогоцкая Л.В., Иванова Д.А., Кочетков Я.А., Куликовская Н.В., Ванеева Т.В., Филиппов А.В. Сравнительные результаты кожного теста с препаратом, содержащим рекомбинантный белок CFP-10-ESAT-6, и лабораторного теста QuantiFERON-GIT. Туберкулез и болезни легких. 2012; 10: 1 – 6.
56. Овсянкина Е.С., Губкина М.Ф., Ершова Н.Г., Кобулашвили М.Г. Опыт применения нового кожного теста (Диаскинтеста®) для диагностики туберкулеза органов дыхания у детей и подростков в туберкулезном отделении. Туберкулез и болезни легких; 2010; 1: 16 – 19.
57. Литвинов В.И., Шустер А.М., Слогоцкая Л.В., Сельцовский П.П., Овсянкина Е.С., Мушкин А.Ю. и др. Эффективность применения нового диагностического препарата Diaskintest® у детей для выявления и диагностики туберкулеза. Пробл. туберкулеза и болезней легких; 2009; 4: 19 – 23.

References

- Bloom B.R., Fine P.E.M. Experience of BCG vaccination: future vaccines against tuberculosis. In the book. Tuberculosis, pathogenesis, protection and control. Ed. Karachunsky M.A. Moscow; 2002: 575 – 605 (in Russian).
- Aksenov V.V., Levy D.T. TB vaccine. In: Vaccines and vaccination. Eds.: Zverev V.V., Semenov B.F., Khaïtov R.M. National leadership. Moscow: GEOTAR Media; 2011: 371 – 411 (in Russian).
- Mitinskaya L.A. Tuberculosis in children. Moscow: Kudesnik; 2004 (in Russian).
- Elufimova V.F. Tuberculosis of meninges and central nervous system. In: Manual of Internal Medicine, Vol. 3. Moscow. 1996: 438 – 452 (in Russian).
- Aksenov V.A., Klevno N.I., Sevostyanova T.A. Epidemiological situation of tuberculosis in children and adolescents in Russia; Tuberculosis and Lung Disease. 2011; 4: 22 (in Russian).
- Trunz B.B., Fine P., Dye C. Effect of BCG vaccination on childhood tuberculous meningitis and military tuberculosis worldwide: a meta-analysis and assessment of cost-effectiveness. Lancet 2006; 367 (9517): 1173 – 1180.
- Mitinskaya L.A., Efimova A.A., Liceva O.A. Effectiveness of vaccination of infants with BCG and BCG-M. Tuberculosis Problems. 1990; 12: 3 – 8 (in Russian).
- Poddubnaya L.V., Shilov E.P., Egoshina I.Y., Shakuro J.V. Diagnosis of active TB in children. Tuberculosis and Lung Disease. 2013; 9: 16 – 19 (in Russian).
- Smith P.J., Moss A.R. Epidemiology of tuberculosis. In: Tuberculosis, pathogenesis, protection and control. Ed. Karachunsky M.A. Moscow. 2002: 49 – 62 (in Russian).
- Chernousova L.N., Andrejevskaya S.N., Smirnova T.G., Zemskova Z.S., Larionov E.E. Biological properties of the *M. tuberculosis* strains cluster W. Tuberculosis Problems. 2008; 10: 45 – 50 (in Russian).
- Barreto M.L., Cunha S.S., Pereira S.M., Genser B., Hijjar M.A., Ichihara M.Y. et al. Neonatal BCG protection against tuberculosis lasts for 20 years in Brazil. J. Tuberc. Lung Dis. 2005; 9 (10): 1171 – 1173.
- Barreto M.L., Pereira S.M., Ferreira A.A. BCG vaccine: efficacy and indications for vaccination and revaccination. J. Pediatr. 2006; 82 (3 Suppl): S45 – 54.
- Ho M.M., Markey K., Rigsby P., Hockley J., Corbel M.J. Report on international collaborative study to establish the first. WHO reference reagent for three different substrains. Vaccine. 2011; 29: 512 – 518.
- Vanicek H., Complications after initial BCG vaccination in a 5-year period in East Bohemia region. Cesk. Pediatr. 1988; 43: 23 – 26.
- Lotte A., Wasz-Hockett O., Poisson N., Dumitrescu N., Verron M., Couvet E. BCG complications. Adv. Tuberc. Res. 1988; 21: 107 – 193.
- Zakirova N.R. Complications after BCG vaccination and revaccination of children in Russia. Doctorate of med. sci. diss. Moscow. 1998 (in Russian).
- Milstein J.B., Gibson J.J. Quality control of BCG vaccine by WHO. A review of factors that may affect vaccine effectiveness and safety. Bull. World Health Org. 1990; 88: 93 – 106.
- Hess J., Miko D., Catic A., Lehmsiek V., Russell D.G., Kaufmann S.H.E. *Mycobacterium bovis* Bacille Calmette–Guerin strains secreting listeriolysin of *Listeria monocytogenes*. Proc. Natl Acad. Sci. USA. 1998; 95: 5299 – 5304.
- Paterson R. Human trials start for new tuberculosis vaccine. Lancet Infect. Dis. 2001; 1: 291 – 296.
- Bao L., Chen W., Zhang H., Wang X. Virulence, Immunogenicity and protective efficacy of two recombinant *Mycobacterium bovis* BCG strains expressing the antigen ESAT-6 from *Mycobacterium tuberculosis*. Infect. Immun. 2003; 71: 1656 – 1661.
- Behr MA and Small PM A historical and molecular phylogeny of BCG strains. Vaccine. 1999; 17 (7 – 8): 915 – 922.
- Seki M., Honda I., Fujita I., Yano I., Yamamoto S., Koyama A. Whole genome sequence analysis of *Mycobacterium bovis* BCG Tokio 172: A comparative study of BCG vaccine substrains. Vaccine. 2009; 27: 1710 – 1716.
- Kamath A.T., Fruth U., Brennan M.J., Dobbelaer R., Hubrechts P., Ho M.M. et al. New live mycobacterial vaccines: The Geneva consensus on essential steps towards clinical development. Vaccine. 2005. 23: 3753 – 3761.
- Ibanga H.B., Brookes R.H., Hill P.C. Owiafe P.K., Fletcher H.A., Lienhardt C. et al. Early clinical trials with a new tuberculosis vaccine, MVA85A, in tuberculosis-endemic countries: Issues in study design. Lancet Dis. 2006; 6: 522 – 528.
- Sun Ronggai, Skeiky Easir A.W., Dheenadhayalan V., Imam Z., Penn E. et al. Novel BCG expressing perfringolysin O and the over-expression of key immunodominant antigens; pre-clinical characterization, safety and protection against challenge with *Mycobacterium tuberculosis*. Vaccine. 2009; 27: 4412 – 4423.
- Tameris M.D., Yatherill M., Landry B.S. et al (the MVA85A O20 Trial study Team) Safety and efficacy of MVA85A, a new tuberculosis vaccine, in infants previously vaccinated with BCG: a randomized, placebo-controlled phase 2b trial; The Lancet 381; 9871: 1021 – 1028.
- Mahairas G.G., Sabo P.J., Hickey M.J., Singh D.S. Molecular analysis of genetic differences between *Mycobacterium bovis* BCG and virulent *M. bovis*. J. Bacteriol. 1996; 178 (5): 1274 – 1282.
- Lyanda-Geller B.A. Preparation of highly purified fractions of dry tuberculin, its chemical and biological characteristics. Tuberculosis Problems. 1963; 9: 67.
- Seibert F.B., Du Four E. Purified protein derivative, its isolation from old tuberculin and fractionation of residue. Amer. Rev. Tuberc. 1940; 41: 57 – 70.
- Litvinov V.I., Makarova M.V., Krasnova M.A. Non-tuberculous mycobacteria. Moscow. MNPTSBT. 2008 (in Russian).
- Magnusson M. Das tuberculin Herstellung, reinigung, standardisierung und chemischer aufbau. In: Infektions – Krankheiten und ihre erreger. VEB Gustav Fischer Verlag. Jena. 1967. Band. 4. Teil 11.
- Health Ministry order № 109 of 21.03.2003 «On improvement of TB control activities in the Russian Federation» (in Russian).
- Litvinov V.I., Auerbach M.M., Gergert V.Y., Kluev V.A., Claus A.M., Kolodyazhnaya N.S. Hypersensitivity of delayed type in the TB immunity. Immunology and immunopathology of tuberculosis. Ed. Averbah M.M. Moscow; 1976: 50 – 72 (in Russian).
- Kluev V.A. Transfer of delayed-type hypersensitivity and resistance to tuberculosis. Doctorate of med. sci. diss. Moscow. 1972 (in Russian).
- Pospelov A.L., Gergert V.Y., Lepokha L.N., Egorov E.E., Vishnyakova H.S., Bocharova I.V. Efficacy of syngeneic and allogeneic transplantation of mesenchymal stem cells in the treatment of *Mycobacterium tuberculosis* -infected mice. Tuberculosis and Lung Disease. 2013; 8: 28 – 33 (in Russian).
- Van Eden W., De Vries R.R.P., Stanford J.L., Rook G.A.W. HLA–DR3 associated genetic control of response to multiple skin test with new tuberculin. Clin. Exp. Immunol. 1983; 52: 287 – 292.
- Bullock W.E. Anergy and infection. Adv. Internal. Med. 1975; 21: 149 – 173.
- Slogodskaya L.V. Cutaneous immunological tests for tuberculosis – history and modernity. Tuberculosis and Lung Disease. 2013; 5: 39 – 46 (in Russian).
- Nash D.R., Douglass J.E. Anergy in active pulmonary tuberculosis. Chest. 1980; 77: 32 – 37.
- Menzies D. Interpretation of repeated Tuberculin test. Boosting, conversion, and reversion. Am. J. Respir. Crit. Care Med. 1999. 159; 1: 15 – 21.
- Meisner A.F., Staheeva L.B., Kiselevich D.C. BCG vaccination and routine tuberculin in Moscow children. Russian Journal of Pediatrics. 2010; 3: 11 – 14.
- Snell N.J. A comparison of Mantoux and tuberculin Tine testing in a chest Unit. Tubercle. 1979; 60: 99 – 104.
- Mordovskaya L.I., Vladimirovsky M.A., Aksenova V.A., Efremov E.E., Ignashenkova G.I., Vlasic T.N. Induction interferon gamma in whole blood samples in vitro - a test to determine the tuberculosis infection in children and adolescents. Problems of Tuberculosis and Lung Disease. 2009; 6: 19 – 24 (in Russian).
- De Kantor I.N. Diagnosis of latent tuberculosis infection in BCG – vaccinated subjects in China. J. Tuberc. Lung Dis. 2011; 15: 1510 – 1515.
- Winthrop K.L., Nyendak M., Calvet H., Oh P., Lo M., Swarbrick G. et al. Interferon – release assays for diagnosing mycobacterium tuberculosis infection in renal dialysis patients. Clin. J. Am. Soc. Nephrol. 2008; 3 (5): 1357 – 1363.
- Arend S.M., Ottenhoff T.H.M., Andersen P., van Dissel J.T. Uncommon presentation of tuberculosis the potential value a novel diagnostic assay based on the *Mycobacterium tuberculosis* – specific antigens ESAT-6 and CFP-10. J. Tub. Lung. Dis. 2001; 5 (7): 680 – 686.
- Doherty T.M., Demissie A., Olobo J., Wolday D., Andersen P. Immune Responses to the *Mycobacterium tuberculosis*–specific antigen ESAT-6 signal subclinical infection among Contacts of tuberculosis patients. J. Clin. Microbiol. 2002; 40 (2): 704 – 706.
- Ferrara G., Losi M., D'Amiro R. et al. Use in routine clinical practice of two commercial blood tests for diagnosis of infection with *Mycobacterium tuberculosis*: prospective study; Lancet 2006; 367 (9519): 1328 – 1334.
- Ravn P., Munk M.E., Andersen A.B. et al. Prospective evaluation of a whole-blood test using *Mycobacterium tuberculosis*–specific antigens ESAT-6 and CFP-10 for diagnosis of active tuberculosis. Clin. Diagn. Lab. Immunol. 2005; 12 (4): 491 – 496.
- Camus J.C., Pryor M.J., Mdicue C., Cole S.T. Re-annotation of the genome sequence of *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv. Microbiology. 2002; 148 (10): 2967 – 2973.
- Fleischmann R.D., Alland D., Eisen J.A. et al. Whole-genome comparative of *Mycobacterium tuberculosis* clinical and laboratory strains. J. Bacteriol. 2002; 184: 5479 – 5490.

51. Fraser CM., Eisen JA., Fleischmann RD. et al. Comparative genomics and understanding of microbial biology. *Emerg. Infect. Dis.* 2000; 6: 505 – 512.
52. Kiselev V.I., Severin E.S., Perelman M.I., Paltsev M.A. New biotechnological decisions in diagnostics and prevention of a tubercular infection. *Messenger of scientific research institute of molecular medicine.* 2005; 5: 37 – 45 (in Russian).
53. Kiselev V.I., Baranovsky P.M., Rudykh I.V., Schuster A.M., Martyanov V.A., Mednikov B. L. et al. Clinical trials of the new skin Diaskintest test for tuberculosis diagnostics. *Problems of tuberculosis and diseases of lungs.* 2009; 2: 11 – 17 (in Russian).
54. Skin test with the preparation «Diaskintest» – new possibilities of identification of a tubercular infection. Ed. Paltsev M.A. Moscow. 2011 (in Russian).
55. Slogotskaya L.V., Ivanova D.A., Kochetkov Ya.A., Kulikovskaya N.V., Vaneeva T.V., Filippov A.V. Comparative results of skin dough with the preparation containing recombinant CFP-10-ESAT-6 protein, and the laboratory QuantiFERON test-GIT. *Tuberculosis and Lung Disease.* 2012; 10: 1 – 6 (in Russian).
56. Ovsyankina E.S., Gubkina M.F., Yershova N.G., Kobulashvili M.G. Experience of application of new skin dough (Диаскинтеста®) for diagnostics of tuberculosis of respiratory organs at children and teenagers in tubercular office. *Tuberculosis and Lung Disease.* 2010; 1: 16 – 19 (in Russian).
57. Litvinov V. I. Schuster A.M. Slogodskaya L.V. Seltsovsky R.P., Ovsyankina E.S. Mushkin A.Yu. etc. Efficiency of application of the new diagnostic preparation Diaskintest® at children for identification and tuberculosis diagnostics. *Tuberculosis and Lung Disease.* 2009. 4: 19 – 23 (in Russian).

ИНФОРМАЦИЯ ФМБА

Вторая Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием «Актуальные вопросы профилактики, диагностики и лечения туберкулеза у детей и подростков». 26 – 28 марта 2014 года, Москва

Организаторами конференции выступили Российское общество фтизиатров и Центральный НИИ туберкулеза РАМН. Основные темы конференции: современные методы выявления, диагностики и терапии различных проявлений туберкулезной инфекции у детей: проблемы, достижения и перспективы; современная стратегия профилактики туберкулеза у детей: вакцинопрофилактика, превентивная химиотерапия детей из групп риска, методы неспецифической профилактики; туберкулез и неспецифические заболевания легких у детей; междисциплинарные аспекты в оказании противотуберкулезной помощи; лучевые методы выявления и диагностики бронхолегочной патологии у детей; роль микробиологических и лабораторных методов исследования во фтизиопедиатрии; туберкулез у детей раннего и дошкольного возраста: особенности выявления и лечения; туберкулез у лиц подросткового возраста: особенности диагностики и лечения; туберкулез с лекарственной устойчивостью возбудителей у детей; очаг туберкулеза: тактика ведения пациентов и особенности работы в очагах инфекции, в том числе с МЛУ МБТ; особенности выявления и диагностики внелегочного туберкулеза; хирургическое лечение туберкулеза у детей; реабилитационные методы лечения туберкулеза у детей; туберкулез у детей, больных ВИЧ-инфекцией: особенности диагностики и лечения; эпидемиология туберкулеза и организация противотуберкулезной помощи детям в Российской Федерации; проблемы туберкулеза у детей и подростков в странах СНГ; перспективы сотрудничества.

В рамках конференции Федеральное медико-биологическое агентство провело симпозиум по актуальным вопросам диагностики туберкулеза, на котором особое внимание было уделено рассмотрению результатов использования в широкой практике диагностических туберкулез-тестов, а также вопросу отмены ревакцинации подростков в 14 лет.

С докладами выступили: д.м.н., профессор М.В. Шилова (НИИ фтизиопульмонологии ПМГМУ им И.М. Сеченова), д.м.н., профессор Н.М. Корецкая (Красноярский ГМУ), д.м.н, профессор А.М. Королюк (Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет), д.м.н.

Л.А. Зазимко (Санкт-Петербургский НИИ вакцин и сывороток и предприятие по производству бактериальных препаратов ФМБА России), д.м.н. Н.Д. Шмелева (Республиканский центр гигиены эпидемиологии и общественного здоровья, Республика Беларусь), представитель ФМБА России Е.П. Начарова (Санкт-Петербургский НИИ детских инфекций ФМБА России).

Высокий уровень подготовки докладчиков позволил выработать совместные стратегические направления дальнейшей работы и сделать выводы, что ревакцинацию в 14 лет нельзя отменять на фоне высокой заболеваемости туберкулезом взрослых. Это решение в рамках особого мнения было передано организаторам конференции.

Наибольшее снижение заболеваемости туберкулезом происходит при проведении санитарно-эпидемических мероприятий по профилактике туберкулеза и строжайшем контроле за их выполнением со стороны органов здравоохранения. Комплекс противоэпидемических и санитарных мер должен касаться всех сторон жизни больных, инфицированных и контактных лиц, а также их окружения. Эффективность подобного подхода была продемонстрирована Н.Д. Шмелевой на примере Республики Беларусь.

У нас в стране, по данным М.В. Шиловой, наблюдается, как и в Белоруси, подъем заболеваемости туберкулезом детей в возрасте 6 лет. При этом ревакцинация вакциной против туберкулеза БЦЖ проводится в 7 лет. Это может быть связано с изменением возраста, когда дети идут в школу: раньше ребенок шел в школу в возрасте 7 – 8 лет. Ревакцинация в 7 лет должна была защитить ребенка от инфицирования туберкулезом в период новых, более интенсивных контактов. Однако сейчас дети идут в школу в возрасте 6 – 7 лет, а иногда и раньше.

Выводы научного сообщества симпозиума говорят о том, что целесообразно первую ревакцинацию проводить в 6 лет.

В качестве основного теста возможно использовать препарат туберкулин, который дает наиболее информационно полные результаты.

Источник http://fmbaros.ru/press/activity/index.php?id_4=3145