



**ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ**

**(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ**

(21)(22) Заявка: 2012128311/15, 02.07.2012

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:  
02.07.2012

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 02.07.2012

(45) Опубликовано: 27.12.2013 Бюл. № 36

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: ВЛАСИК Т.Н. и др. Индукция гамма-интерферона в образцах цельной крови in vitro-тест определения туберкулезного инфицирования детей и подростков // Проблемы туберкулеза и болезней легких. - 2009, №6, стр.19-24. RU 2315315 С2, 20.01.2008. KZ 21814 А4, 15.10.2009. МОРДОВСКАЯ Л.И. и др. Современный подход к иммунологической диагностике (см. прод.)

Адрес для переписки:

197101, Санкт-Петербург, ул. Мира, 14,  
ФБУН НИИ эпидемиологии и  
микробиологии имени Пастера, ОНМИ, Г.Л.  
Никифоровой

(72) Автор(ы):

Васильева Елена Викторовна (RU),  
Вербов Вячеслав Николаевич (RU),  
Тотолян Арег Артемович (RU),  
Лядова Ирина Владимировна (RU),  
Никитина Ирина Юрьевна (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Федеральное бюджетное учреждение науки  
"Санкт-Петербургский научно-  
исследовательский институт эпидемиологии  
и микробиологии им. Пастера" (ФБУН НИИ  
эпидемиологии и микробиологии имени  
Пастера) (RU)

**(54) СПОСОБ ДИАГНОСТИКИ ТУБЕРКУЛЕЗА ЛЕГКИХ**

(57) Реферат:

Изобретение относится к медицине, а именно к фтизиатрии и иммунологии, и может быть использовано для определения активности туберкулезного процесса. Для этого проводят инкубацию цельной крови пациента крови с микобактериальными антигенами, представляющими собой смесь белков ESAT-6, CFP-10, ТВ 7.7, центрифугирование пробы с отделением плазмы и определение в супернатантах содержания антигениндуцированного гамма-интерферона (IFN $\gamma$ ), антигениндуцированного

интерлейкина - 6 (IL-6) и спонтанной продукции трансформирующего ростового фактора- $\alpha$  (TGF $\alpha$ ). При уровне IFN $\gamma$   $\geq$  6,4 МЕ/мл, или IL-6  $\geq$  2039 пг/мл, или TGF $\alpha$   $\geq$  17,0 пг/мл констатируют активную туберкулезную инфекцию. При значениях ниже пороговых по всем трем показателям - латентную инфекцию. Использование данного способа позволяет проводить дифференциальную диагностику между лицами с активным туберкулезом и латентной туберкулезной инфекцией. 6 пр., 1 ил., 1 табл.

(56) (продолжение):

туберкулезной инфекции у детей и подростков // Дальневосточный медицинский журнал. - 2009, №4, стр.37-39. KELLAR K.L. et al. Multiple cytokines are released when blood from patients with tuberculosis is

stimulated with Mycobacterium tuberculosis antigens // PLoS One., 2011, 6 (11):e26545; doi: 10.1371/journal.pone.0026545; [он-лайн], [найдено 06.05.2013], найдено из Интернета: <URL:http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3221668/.

R U 2 5 0 3 0 0 5 C 1

R U 2 5 0 3 0 0 5 C 1



FEDERAL SERVICE  
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

**(12) ABSTRACT OF INVENTION**(21)(22) Application: **2012128311/15, 02.07.2012**(24) Effective date for property rights:  
**02.07.2012**

Priority:

(22) Date of filing: **02.07.2012**(45) Date of publication: **27.12.2013 Bull. 36**

Mail address:

**197101, Sankt-Peterburg, ul. Mira, 14, FBUN NII  
ehpidemiologii i mikrobiologii imeni Pastera,  
ONMI, G.L. Nikiforovoj**

(72) Inventor(s):

**Vasil'eva Elena Viktorovna (RU),  
Verbov Vjacheslav Nikolaevich (RU),  
Totoljan Areg Artemovich (RU),  
Ljadova Irina Vladimirovna (RU),  
Nikitina Irina Jur'evna (RU)**

(73) Proprietor(s):

**Federal'noe bjudzhetnoe uchrezhdenie nauki  
"Sankt-Peterburgskij nauchno-issledovatel'skij  
institut ehpidemiologii i mikrobiologii im.  
Pastera" (FBUN NII ehpidemiologii i  
mikrobiologii imeni Pastera) (RU)**

**(54) DIAGNOSTIC TECHNIQUE FOR PULMONARY TUBERCULOSIS**

(57) Abstract:

FIELD: medicine.

SUBSTANCE: patient's whole blood is incubated with mycobacterial antigens representing a mixture of the proteins ESAT-6, CFP-10, TB 7.7, centrifuged to separate plasma; the supernatant is examined for the content of antigen-induced gamma-interferon (IFN $\gamma$ ), antigen-induced interleukin-6 (IL-6) and spontaneous production of transforming growth

factor- $\alpha$  (TGF $\alpha$ ). If observing IFN $\gamma$   $\geq$ 6.4 IU/ml, or IL-6  $\geq$ 2039 pg/ml, or TGF $\alpha$   $\geq$ 17.0 pg/ml, the active tuberculosis infection is stated. All three values being below the threshold show the latent infection.

EFFECT: using the given technique enables the differential diagnostic between the individuals suffering active tuberculosis and latent tuberculosis infection.

6 ex, 1 dwg, 1 tbl

Изобретение относится к клинической медицине, точнее к фтизиатрии и иммунологии, а именно к способам оценки состояния больных туберкулезом легких (ТБ).

5 В последние годы во многих странах, независимо от уровня их экономического развития, отмечается увеличение заболеваемости и распространения туберкулеза, который все чаще упоминается среди так называемых "возрождающихся" инфекций. Для предотвращения распространения туберкулеза актуальное значение приобретает возможность диагностики этого заболевания, в частности выявления контингента, 10 больного туберкулезом в активной форме, и представляющего опасность для окружающих. Это особенно актуально в условиях широкого распространения латентной формы туберкулеза, не представляющей серьезной опасности для окружающих, и ограниченных возможностях лечебных учреждений.

15 В настоящее время наиболее широко распространена диагностика заболеваний с использованием пробы Манту и, при наличии положительной реакции, бактериологических методов анализа. Однако результат постановки внутрикожной аллергической пробы Манту учитывают через 72 часа, причем в связи с высоким процентом инфицированности населения ТБ частота подтверждения диагноза 20 заболевания в разных возрастных группах составляет от 25 до 50% (Бородулина Е.А., Бородулин Б.Е. Дифференциальная диагностика поствакцинальной и инфекционной туберкулиновой аллергии у детей с atopическими заболеваниями. // Проблемы туберкулеза и болезней легких. - №1, 2006, - с.9-12). На результаты пробы Манту оказывает влияние предыдущая вакцинация, неконтролируемый прием антибиотиков 25 широкого спектра действия и наличие сопутствующей патологии, в том числе аллергопатологии (Аксенова В.А., Овсянкина Е.С., Александрова Т.М. Методы контроля качества работы при массовой туберкулинодиагностике. // Проблемы туберкулеза. - 2002, №2. - С.3-5). Недостатками бактериологических методов являются 30 низкая частота выявления *Mycobacterium tuberculosis* (МБТ) и длительный рост МБТ на питательных средах (до 30 дней). Все перечисленное определяет сложность клинико-лабораторной диагностики туберкулеза и обуславливает необходимость разработки более быстрых и надежных способов лабораторной диагностики туберкулезной инфекции.

35 Известен ускоренный способ бактериологической диагностики туберкулеза по методу Прайса, позволяющий выделить и идентифицировать МБТ через 7-14 дней (Медицинская микробиология, вирусология и иммунология. / Под ред. А.А. Воробьева. М.: Медицинское информационное агенство, 2004. - 671 с.), однако и эти 40 сроки также достаточно велики, а надежность метода достаточно низка.

Широко используется для диагностики туберкулеза метод иммуноферментного анализа (ИФА), позволяющий определять наличие туберкулезной инфекции по концентрации (титру) специфических иммуноглобулинов классов А, М, G, Е (Авдеенко 45 В.Г. с соавт. Повышение эффективности иммунодиагностики туберкулеза путем применения моноклональных антител против иммуноглобулина G человека. / Клиническая лабораторная диагностика. - 1999, №6. - С.22-35; Авдеенко В.Г. с соавт. Противотуберкулезные IgE-антитела. Иммунодоминантные антигены. // Проблемы туберкулеза. - 2002, ч.1, №2. - С.30-33). Недостатком данного способа является 50 необходимость повторного исследования сывороток крови через 10-14 дней для выявления нарастания титра антител к МБТ, свидетельствующее об активном инфекционном процессе в организме.

Общим недостатком вышеперечисленных методов является длительность анализа,

их недостаточная селективность, невозможность подразделить контингент больных на пациентов с латентной и активной формами туберкулеза, что не позволяет своевременно проводить активные мероприятия с больными второй из вышеперечисленных групп.

5 Одним из наиболее перспективных направлений диагностики туберкулеза (ТБ) является проведение анализа *in vitro* с использованием антигенов, специфических для *Mycobacterium tuberculosis*. Как показывают обобщенные аналитические данные, клеточные тесты *in vitro* обладают высокой специфичностью: у 99% вакцинированных  
10 лиц наблюдаются отрицательные реакции, а у 78% больных туберкулезом - положительные реакции (Menzies T. Meta-analysis: New tests for the diagnosis of latent tuberculosis infection: areas of uncertainty and recommendations for research march / T. Menzies, M. Pai, G. Comstock // *Annals. Intern. Med.* - 2007. - Vol.146 - P.340-354; Pai M. T-cell based assays for the diagnosis of latent tuberculosis infection: an update / M. Pain, A. Zwerling, D. Menzies // *Ann. Intern. Med.* - 2008. - Vol.149(3). - P.177-184).

В настоящее время прошел сертификацию тест Т-SPOT, являющийся экспресс-аналогом стандартной диагностики туберкулеза на основе кожных реакций замедленного типа (Кожная проба с препаратом "ДИАСКИНТЕСТ" - новые  
20 возможности идентификации туберкулезной инфекции. Под ред. Академика РАН и РАМН М.А. Пальцева. Второе издание, переработанное и дополненное. - М.: Издательство "Шико", 2011. 256 с). Способ иммунологической диагностики и мониторинга туберкулезной инфекции Т-SPOT (Oxford Immunotec, USPTO Application №20070196878) основан на определении количества клеток, продуцирующих  
25 интерферон-гамма (IFN $\gamma$ ) в присутствии таких специфических индукторов, как белки ESAT-6 (ранний секретируемый антиген) и CFP-10 (белок культурального фильтрата), которые отсутствуют у микобактерий вакцинного штамма *M. bovis* (BCG) и большинства нетуберкулезных микобактерий окружающей среды, за  
30 исключением *Mycobacterium marinum* и *Mycobacterium kansasii*. При этом предварительная БЦЖ-вакцинация не оказывает значительного влияния на результаты индукции IFN $\gamma$  *in vitro*, а повышение его количества свидетельствует о наличии туберкулезной инфекции (Мордовская Л.И. Индукция IFN $\gamma$  в образцах  
35 цельной венозной крови *in vitro* - тест для определения туберкулезного инфицирования детей и подростков. / Л.И. Мордовская, М.А. Владимирский, В.А. Аксенова, Е.Е. Ефремов, Г.И. Игнашенкова, Т.Н. Власик // *Проблемы туберкулеза и болезней легких*. -2009. -№6. - С.19-24).

Основными недостатками этого теста является его сложность и трудоемкость,  
40 необходимость культивирования клеток в стерильных условиях, а также невозможность на его основе диагностировать носит ли заболевание латентный или активный характер.

Наиболее близким по своей сущности к методу, предлагаемому в данном изобретении, является способ с использованием тест-системы "QuantiFERON-TB Gold In-  
45 Tube" ("Cellestis", Австралия), основанный на измерении уровня продукции IFN $\gamma$  клетками периферической крови при стимуляции образцов крови антигенами микобактерий. В качестве антигенов используют белки ESAT-6, CFP-10 и TB 7.7 (p4) (Мордовская Л.И. Индукция IFN $\gamma$  в образцах цельной венозной крови *in vitro* - тест  
50 для определения туберкулезного инфицирования детей и подростков. / Л.И. Мордовская, М.А. Владимирский, В.А. Аксенова, Е.Е. Ефремов, Г.И. Игнашенкова, Т.Н. Власик // *Проблемы туберкулеза и болезней легких*. - 2009. - №6. - С.19-24). Способ диагностики включает в себя взятие крови у пациента, последующее

культивирование каждого образца цельной крови, стабилизированной гепарином, при 37°C в течение 18-24 часов в трех пробирках: первая (антигениндуцированная продукция) - в присутствии антигенов микобактерий, вторая (спонтанная продукция) - без антигенов, третья (митогениндуцированная продукция) - в присутствии митогена (последняя проба используется в качестве положительного контроля). После окончания культивирования пробирки центрифугируют, отбирают плазму и определяют в них содержание IFN $\gamma$  методом иммуноферментного анализа (ИФА). Результаты оцениваются с помощью программного обеспечения QFT 2.62, предоставляемого производителем. Результаты теста считаются положительными, если разность между антигениндуцированной и спонтанной продукцией IFN $\gamma$  более 0,35 МЕ/мл и разница между митогениндуцированной и спонтанной продукцией IFN $\gamma$  более 0,5 МЕ/мл.

Основным недостатком этого метода является то, что он не позволяет проводить дифференциальную диагностику активного ТБ и латентной туберкулезной инфекции (ЛТБИ), что представляется актуальным в условиях широкого (по разным оценкам до 80%) распространения туберкулезного инфицирования.

Задачей, решаемой авторами, являлась разработка достаточно быстрого и надежного способа диагностики туберкулеза, позволяющего проводить дифференциальную диагностику активного туберкулеза и латентной туберкулезной инфекции. Указанная задача решалась путем установления круга белков, продуцируемых клетками крови у инфицированных туберкулезом больных в присутствии антигенов *Mycobacterium tuberculosis*, отбора специфичных цитокинов и определения пороговых значений, позволяющих диагностировать наличие у больного активной формы туберкулеза и латентную туберкулезную инфекцию.

Технический результат достигался культивированием крови больных с подозрением на туберкулез в присутствии коммерчески выпускаемой смеси белков ESAT-6, CFP-10, TB 7.7 (из набора "QuantiFERON-TB Gold In-Tube") в качестве антигенов, последующим определением в плазме крови интерферона-гамма (IFN $\gamma$ ), интерлейкина-6 (IL-6) и трансформирующего ростового фактора-альфа (TGF $\alpha$ ), и диагностирования активной формы туберкулеза при достижении хотя бы одним из цитокинов порогового значения, которое составляет для: IFN $\gamma_{AG}$  - 6,4 МЕ/мл, для TGF $\alpha_{NIL}$  - 17,0 пг/мл и для IL-6 $_{AG}$  - 2039 пг/мл, а при значениях ниже пороговых по всем трем показателям - латентную туберкулезную инфекцию.

Предложенные критерии подобраны на основании клинических исследований 53 пациентов, у которых установлено наличие заражения МБТ. В состав группы входили 27 больных с впервые выявленным, преимущественно инфильтративным туберкулезом легких, подтвержденным культуральным методом до начала специфической противотуберкулезной терапии (13 женщин и 14 мужчин в возрасте от 18 до 64 лет, средний возраст - 36 лет), и 26 лиц с латентной инфекцией (ЛТБИ), которые являлись сотрудниками стационаров противотуберкулезных учреждений (n=26).

Изучалась спонтанная (NIL) и антигениндуцированная (AG) продукция различных цитокинов, в частности эпидермального ростового фактора (EGF), макрофагального воспалительного протеина - 1 $\beta$  (MIP- $\beta$ ), эндотелиального фактора роста (VEGF), интерлейкина-2 (IL-2), интерлейкина-4 (IL-4), интерлейкина-6 (IL-6), интерлейкина-1альфа (IL-1 $\alpha$ ), интерферона-альфа2 (IFN- $\alpha$ 2), трансформирующего ростового фактора-альфа (TGF $\alpha$ ), фактора некроза опухоли-альфа (TNF $\alpha$ ), а также растворимого рецептора интерлейкина-2-альфа (sIL-2R $\alpha$ ) и растворимой формы

лиганда CD40 (sCD40L). Исследования проводились с использованием магнитных частиц "Milliplex Mag" и анализатора "MagPix" ("Millipore", США) по технологии xMap.

Для статистических расчетов использовали значения спонтанной (NIL) продукции исследуемых биомаркеров, антигениндуцированной (AG) продукции и разности между ними (AG-NIL). Статистическую обработку проводили с помощью программы SPSS (версия 15.0). Для сравнения групп использовали критерий Манна-Уитни.

В таблице 1 приведены показатели, характеризующие различия в концентрациях цитокинов для сравниваемых групп.

Таблица 1

Сравнительная характеристика показателей спонтанной и стимулированной секреции цитокинов у больных с активной и латентной формами ТБ

Показатель	Больные с активной формой ТБ (n=27), Ме (min, max)	Лица с латентной формой ТБ (n=26), Ме (min, max)	p*	Пороговое значение	Чувствительность, %	Специфичность, %	AUC**
IFN $\gamma$ <sub>AG</sub> , МЕ/мл	6.4 (1.6-10.2)	1.7 (1.0-3.6)	0.008	4.3	56	81	0.71
IFN $\gamma$ <sub>AG-NIL</sub> , МЕ/мл	5.3 (1.2-10.0)	1.6 (0.7-3.5)	0.014	3.9	56	81	0.70
TGF $\alpha$ <sub>NIL</sub> , пг/мл	12.7 (10.0-18.4)	9.6 (5.6-11.7)	0.002	12.2	60	81	0.75
TGF $\alpha$ <sub>AG</sub> , пг/мл	17.3 (15.1-20.5)	12.5 (8.0-15.1)	0.000	15.6	67	81	0.80
IFN $\alpha$ <sub>2AG</sub> , пг/мл	7.4 (3.0-11.5)	3.0 (3.0-3.0)	0.041	6.0	56	81	0.66
TNF $\alpha$ <sub>AG</sub> , пг/мл	141.7 (86.0-360.2)	94.9 (39.7-195.8)	0.039	223.2	37	81	0.67
sIL2-R $\alpha$ <sub>NIL</sub> , пг/мл	18.6 (3.0-46.9)	3.0 (3.0-11.0)	0.006	13.7	63	81	0.72
sIL2-R $\alpha$ <sub>AG</sub> , пг/мл	30.0 (5.9-76.7)	3.0 (3.0-13.2)	0.005	26.3	56	81	0.73
sIL2-R $\alpha$ <sub>AG-NIL</sub> , пг/мл	6.7 (0.0-13.0)	0.0 (0.0-13.1)	0.041	4.2	52	81	0.66
IL <sub>NIL</sub> , пг/мл	627.7 (214.8-1640.8)	212.9 (125.3-827.2)	0.037	887.2	45	81	0.67
IL <sub>AG</sub> , пг/мл	1463.0 (650.7-2973.6)	604.7 (306.3-1023.4)	0.018	257.0	56	81	0.69

Примечание: \*p - достоверность различия между группой больных и контактных лиц, рассчитанная с использованием критерия Манна-Уитни.  
\*\*AUC - площадь под характеристической ROC-кривой.

Для оценки диагностической ценности анализируемых цитокинов с помощью программы SPSS 15.0 был проведен анализ характеристической кривой (receiver-operating-characteristic curve-ROC) при фиксированном значении специфичности (81%). Были рассмотрены графические изображения характеристических кривых и значения площади под кривой - AUC (Area Under Curve). Данные анализа показали, что самостоятельно ни один из выделенных показателей не обладает высокой чувствительностью, что исключает возможность их изолированного использования с диагностической целью. В результате был применен метод построения деревьев решений в программе JMP 9.0, на основе полученных результатов которого было установлено, что совместное определение трех маркеров: IFN $\gamma$ <sub>AG</sub>, TGF $\alpha$ <sub>NIL</sub> и IL-6<sub>AG</sub> при пороговых значениях соответственно 6,4 МЕ/мл; 17,0 пг/мл и 2039 пг/мл является достаточным для отбора лиц в группу больных с активным ТБ и латентной

туберкулезной инфекцией (ЛТБИ). Использование данной комбинации биомаркеров позволяет достигнуть 96,3% (26 из 27) селективности выявления случаев активного туберкулеза (Значение площади под ROC кривой в данном случае достигает 0,9.).

На фиг.1 приведена кривая операционной характеристики при использовании комбинации трех биомаркеров ( $IFN\gamma_{AG}$ ,  $TGF\alpha_{NIL}$  и  $IL-6_{AG}$ ) для разделения лиц, инфицированных МБТ с активной и с латентной туберкулезной инфекцией.

Предлагаемый способ осуществляют следующим образом. Образцы цельной крови лиц (1000 мкл), инфицированных МБТ, стабилизированной гепарином (50 ед/мл), культивируют при 37°C в течение 18-24 часов в присутствии смеси антигенов микобактерий - белков ESAT-6, CFP-10, TB 7.7 и в нулевой контрольной пробирке (без антигенов). После окончания культивирования пробы центрифугируют, отделяют супернатант и определяют в нем количество  $IFN\gamma_{AG}$ ,  $TGF\alpha_{NIL}$  и  $IL-6_{AG}$  с помощью мультиплексного или иммуноферментного анализа по стандартным методикам. Затем сравнивают полученные значения содержаний цитокинов с пороговыми: 6,4 МЕ/мл для  $IFN\gamma_{AG-NIL}$ , 17,0 пг/мл для  $TGF\alpha_{NIL}$  и 2039 пг/мл для  $IL-6_{AG}$ . При достижении пороговых значений хотя бы одним из показателей делают вывод о наличии активной формы ТБ, при значениях ниже пороговых по трем показателям одновременно - констатируют латентную туберкулезную инфекцию.

Сущность и преимущества способа иллюстрируются следующими примерами.

Пример 1. Больная Ф. Диагноз: инфильтративный туберкулез легких в фазе распада. Результат посева мокроты положительный. Результат теста на инфицирование *M. tuberculosis* (QuantiFERON-TB Gold in-tube): положительный.

В ходе проведения исследований были получены следующие концентрации биомаркеров:

$IFN\gamma_{AG}$  - 24 МЕ/мл,  $TGF\alpha_{NIL}$  - 14 пг/мл и  $IL-6_{AG}$  - 598 пг/мл.

Отмечено превышение уровня концентрации  $IFN\gamma$  по сравнению с пороговым значением (6,4 МЕ/мл).

Заключение: активный туберкулезный процесс, что подтверждает клинический диагноз.

Пример 2. Больная Т. Диагноз: инфильтративный туберкулез верхней доли левого легкого в фазе распада. Результат посева мокроты положительный. Результат теста на инфицирование *M. tuberculosis* (QuantiFERON-TB Gold in-tube): положительный.

В ходе проведения исследований были получены следующие концентрации биомаркеров:

$IFN\gamma_{AG}$  - 22,6 МЕ/мл,  $TGF\alpha_{NIL}$  - 9,75 пг/мл и  $IL-6_{AG}$  - 10000 пг/мл.

Сравниваем полученные значения с пороговыми:.

По двум показателям ( $IFN\gamma_{AG}$ ,  $IL-6_{AG}$ ) наблюдаем превышение пороговых значений ( $IFN\gamma$  - 6,4 МЕ/мл, 2039 пг/мл для  $IL-6$ ).

Заключение: активный туберкулезный процесс.

Пример 3. Больная С. Диагноз: инфильтративный туберкулез легких в фазе распада и обсеменения. Результат посева мокроты положительный. Результат теста на инфицирование *M. tuberculosis* (QuantiFERON-TB Gold in-tube): положительный.

В ходе проведения исследований были получены следующие концентрации биомаркеров:

$IFN\gamma_{AG}$  - 6,89 МЕ/мл,  $TGF\alpha_{NIL}$  - 22,2 пг/мл и  $IL-6_{AG}$  - 755 пг/мл

По двум показателям ( $IFN\gamma_{AG}$ ,  $TGF\alpha_{NIL}$ ) наблюдаем превышение пороговых значений ( $IFN\gamma$  - 6,4 МЕ/мл, 17,0 пг/мл для  $TGF\alpha$ ).

Заключение: активный туберкулезный процесс.



Пример 4. Сотрудник противотуберкулезного диспансера Т. Результат теста на инфицирование *M. tuberculosis* (QuantiFERON-TB Gold in-tube): положительный.

Результаты рентгенологического обследования: изменений в легочной ткани не выявлено. Жалоб нет. Клинические признаки туберкулеза отсутствуют. В ходе проведения исследований были получены следующие концентрации биомаркеров:

$IFN\gamma_{AG}$  - 4,9 МЕ/мл,  $TGF\alpha_{NIL}$  - 11,6 пг/мл и  $IL-6_{AG}$  - 220 пг/мл.

Сравниваем полученные значения с пороговыми:  $IFN\gamma$  - 6,4 МЕ/мл, 17,0 пг/мл для  $TGF\alpha$  и 2039 пг/мл для  $IL-6$ .

Заключение: латентная инфекция *M. tuberculosis* без признаков заболевания.

Пример 5. Сотрудник противотуберкулезного диспансера М. Результат теста на инфицирование *M. tuberculosis* (QuantiFERON-TB Gold in-tube): положительный. Результаты рентгенологического обследования: изменений в легочной ткани не выявлено. Жалоб нет. Клинические признаки туберкулеза отсутствуют.

В ходе проведения исследований были получены следующие концентрации биомаркеров:

$IFN\gamma_{AG}$  - 3,1 МЕ/мл,  $TGF\alpha_{NIL}$  - 0,1 пг/мл и  $IL-6_{AG}$  - 162 пг/мл.

Полученные значения ниже пороговых по всем трем показателям.

Заключение: латентная инфекция *M. tuberculosis* без признаков заболевания.

Пример 6. Больная Т. Диагноз: инфильтративный туберкулез верхней доли правого легкого. Результат посева мокроты положительный. Результат теста на инфицирование *M. tuberculosis* (QuantiFERON-TB Gold in-tube): положительный.

В ходе проведения исследований были получены следующие концентрации биомаркеров:

$IFN\gamma_{AG}$  - 2,22 МЕ/мл,  $TGF\alpha_{NIL}$  - 25,28 пг/мл и  $IL-6_{AG}$  - 3998 пг/мл.

По двум показателям ( $TGF\alpha_{NIL}$ ,  $IL-6_{AG}$ ) наблюдали превышение пороговых значений ( $TGF\alpha_{NIL}$  - 17 пг/мл, 2039 пг/мл для  $IL-6$ ).

Заключение: активный туберкулезный процесс.

Преимуществами предлагаемого способа по сравнению с традиционными методами является то, что при анализе небольшого количества периферической крови достигается высокая диагностическая значимость в дифференциации между лицами с активным туберкулезом и лицами с латентной туберкулезной инфекцией. Риск для пациента от применения данного способа сведен к минимуму, так как не требует введения инородных агентов в организм пациента. Способ не влияет на здоровье пациентов и позволяет ускорить, стандартизировать и автоматизировать процесс получения окончательного результата диагностики. Несомненным преимуществом является удобство для пациента, так как для оценки результатов не требуется повторного посещения врача.

#### Формула изобретения

Способ диагностики туберкулеза легких, включающий в себя взятие периферической крови пациента, инкубацию цельной крови с микобактериальными антигенами, представляющими собой смесь белков ESAT-6, CFP-10, TB 7.7, и без них, центрифугирование пробы с отделением плазмы, определение в супернатантах гамма-интерферона, отличающийся тем, что в супернатантах лиц, инфицированных микобактериями, кроме антигениндуцированной продукции гамма-интерферона определяют содержание антигениндуцированного интерлейкина-6 и спонтанную продукцию трансформирующего ростового фактора-альфа и при уровне гамма-интерферона  $\geq 6,4$  МЕ/мл, или интерлейкина-6  $\geq 2039$  пг/мл, или трансформирующего

ростового фактора-альфа  $\geq 17,0$  пг/мл констатируют активную туберкулезную инфекцию, а при значениях ниже пороговых по всем трем показателям - латентную инфекцию.

5

10

15

20

25

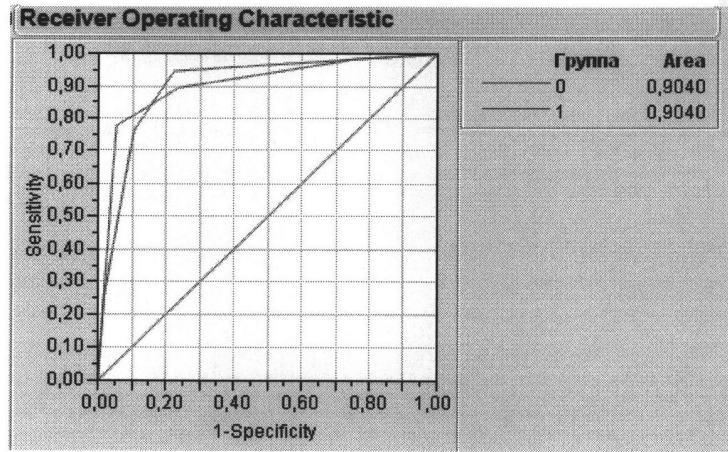
30

35

40

45

50



Фиг.1