

УДК 616-002.5-07:612.017

DOI: 10.34215/1609-1175-2021-2-19-24

Диагностика и контроль клеточного иммунитета пациентов с туберкулезом

И.А. Корсунский¹, Д.А. Кудлай^{2,3}¹ Детская городская клиническая больница № 9 им. Г. Н. Сперанского, Москва, Россия;² Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова, Москва, Россия;³ Государственный научный центр «Институт иммунологии» ФМБА России, Москва, Россия

Туберкулез – одно из самых смертоносных и заразных заболеваний человека. Заболеваемость туберкулезом увеличилась из-за появления штаммов, устойчивых к лекарствам, и сочетания туберкулеза и ВИЧ. Последние технологические достижения, в том числе те, которые используются для борьбы с туберкулезом, раздвинули границы нашего понимания взаимодействия организма-хозяина и патогена. Эта информация позволяет лучше понять, как работает врожденный и адаптивный иммунитет при туберкулезе. Появляется возможность разработать новые методы лабораторной диагностики и наблюдения за больными туберкулезом и больными с подозрением на туберкулез. В обзоре представлены последние данные о функционировании иммунной системы при туберкулезе и новые подходы к диагностике этого заболевания.

Ключевые слова: *Mycobacterium tuberculosis*, Т-лимфоциты, В-лимфоциты, иммунологические тесты, скрининг

Поступила в редакцию 23.01.2021. Получена после доработки 12.04.2021. Принята к печати 02.06.2021

Для цитирования: Корсунский И.А., Кудлай Д.А. Диагностика и контроль клеточного иммунитета пациентов с туберкулезом. *Тихоокеанский медицинский журнал*. 2021;2:19–24. doi: 10.34215/1609-1175-2021-2-19-24

Для корреспонденции: Корсунский Илья Анатольевич – д-р мед. наук, заведующий центром аллергологии и иммунологии ДГКБ № 9 им. Г.Н. Сперанского (123317, г. Москва, Шмитовский пр-д, 29), ORCID: 0000-0002-7822-2477; e-mail: iliakors@gmail.com

Diagnostics and control of cellular immunity of patients having tuberculosis

I.A. Korsunskiy,¹ D.A. Kudlay^{2,3}¹ Speranskiy Children Hospital, Moscow, Russia; ² Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russia;³ NRC Institute of Immunology FMBA of Russia, Moscow, Russia

Summary: Tuberculosis is one of the most deadly and contagious diseases for people. Tuberculosis disease rate has increased because of the emergence of drug-resistant strains and HIV co-infection. Last technological achievements including those used to cure tuberculosis have extended our understanding of the interaction between the host organism and pathogen. This information allows getting a better understanding of how natural and adaptive immunities work in the presence of tuberculosis. It gives an opportunity to develop new methods of laboratory diagnostics and observe tuberculosis patients and patients having suspected tuberculosis. Latest research data on immune system functioning in case of tuberculosis and new approaches to diagnosing tuberculosis are presented in the survey.

Keywords: *Mycobacterium tuberculosis*, T-lymphocytes, B-lymphocytes, immunological tests, screening

Received 23 January 2021; Revised 12 April 2021; Accepted 2 June 2021

For citation: Korsunskiy IA, Kudlay DA. Diagnostics and control of cellular immunity of patients having tuberculosis. *Pacific Medical Journal*. 2021;2:19–24. doi: 10.34215/1609-1175-2021-2-19-24

Corresponding author: Ilya A. Korsunskiy, MD, PhD, head of the Center for Allergology and Immunology, Speranskiy Children Hospital (20 Shmitovskiy Pr., Moscow, 123317, Russian Federation); ORCID: 0000-0002-7822-2477; email: iliakors@gmail.com

После СПИДа туберкулез продолжает оставаться вторым наиболее смертоносным инфекционным заболеванием человека. В последние годы его глобальная распространенность увеличилась из-за появления штаммов с множественной и широкой лекарственной устойчивостью, а также сочетания туберкулеза с ВИЧ-инфекцией.

Иммунитет к *Mycobacterium tuberculosis* – это взаимодействие между врожденным и адаптивным иммунным ответом, как на клеточном, так и на гуморальном уровнях. Это взаимодействие меняется со временем, когда человек растет, реагирует на окружающую среду, стареет. Исследования на животных позволили понять работу разных компонентов иммунного

ответа в определенные моменты течения инфекции. Это, в свою очередь, позволило идентифицировать и расшифровать ключевые иммунные механизмы реакции организма на *M. tuberculosis*.

Последние технологические достижения в области борьбы с туберкулезом раздвинули границы нашего понимания взаимодействия хозяина и патогена. Здесь можно упомянуть высокочувствительную позитронно-эмиссионную томографию и компьютерную томографию, эффективных при диагностике субклинических поражений, взрывное развитие высокопроизводительных генетических технологий для объективного транскриптомного, геномного, протеомного и метаболомного исследования крови

и тканей пациентов, а также проточную цитометрию с возможностью анализа субпопуляций специфичных для возбудителя лимфоцитов. Вместе эти достижения привели к революции в понимании различных стадий заражения *M. tuberculosis* и взаимодействия врожденного и адаптивного иммунитета человека.

Т-лимфоциты при туберкулезе

Большое внимание уделяется антигенам *M. tuberculosis*, на которые нацелен ответ Т-лимфоцитов. Прежде литература была сосредоточена на ответах Т-клеток, которые распознают относительно небольшой набор иммунодоминантных антигенов, включая раннюю секреторную антигенную мишень-6 (ESAT-6), антиген филтраты культуры 10 кДа (CFP-10), ТВ 10.4 и антигены 85А и 85В [1–5]. Это были первые антигены, включенные в субъединичные вакцины [6, 7]. Однако недавний полногеномный анализ Т-клеточного ответа CD4-положительных лимфоцитов на антигены *M. tuberculosis* у взрослых с латентной инфекцией показал, что человеческий CD4-клеточный ответ нацелен на очень широкий спектр (более 80) антигенов [8]. Эти ответы были преимущественно ограничены Т-лимфоцитами CD4⁺ и сильно обогащены субпопуляциями CXCR3⁺ и CCR6⁺, которые проявляют характеристики Т-хелперного ответа 1-го типа. Почти половина эпитопов, идентифицированных в исследовании C.S. Lindestam Arlehamn et al. [8], была получена из белков, которые ранее не рассматривались как антигены Т-лимфоцитов. Эта и последующие работы демонстрируют, что иммунный ответ человека на *M. tuberculosis* очень неоднороден и пока еще плохо изучен [8–10]. Вопрос заключается в том, связано ли распознавание Т-лимфоцитами отдельных антигенов возбудителя с риском возникновения туберкулеза?

В последнее время особое внимание уделяется функциональным и фенотипическим характеристикам Т-клеточных ответов, специфичных для *M. tuberculosis*, описаны их интересные связи с проявлениями вызываемой этой микобактерией инфекции. В то время как в ответе Т-лимфоцитов, специфичных для *M. tuberculosis*, у здоровых людей преобладают Т-клетки CD4⁺ [8], у пациентов с туберкулезом в ряде исследований выявлен повышенный вклад Т-лимфоцитов CD8⁺ [11–13]. Механизм подобного ответа в настоящее время неясен, но эта закономерность оказалась устойчивой, и потому было предложено использовать ее в качестве диагностического теста на туберкулез [13].

Важной темой оказалась модель ко-экспрессии цитокинов Т-хелперами 1-го типа, которая связана со степенью дифференцировки Т-клеток при вирусных инфекциях [14]. Сравнительные исследования показали повышенное содержание специфичных для *M. tuberculosis* Т-лимфоцитов CD4⁺, экспрессирующих только фактор некроза опухоли- α или фактор некроза опухоли- α и γ -интерферон у больных туберкулезом, тогда как у пациентов с латентной инфекцией была

выше частота полифункциональных ответов: фактор некроза опухоли- α , γ -интерферон и интерлейкин-2 [11, 15, 16]. Более того, успешное лечение туберкулеза, по-видимому, полностью изменяет эту функциональную картину, поскольку Т-лимфоциты CD4⁺ после ликвидации инфекции в большей степени экспрессируют фактор некроза опухоли- α , γ -интерферон и интерлейкин-2 [11, 16]. Однако в ряде исследований была продемонстрирована обратная картина: активный туберкулез характеризовался большей частотой регистрации полифункциональных Т-клеток CD4⁺, экспрессирующих фактор некроза опухоли- α , γ -интерферон и интерлейкин-2, чем латентная инфекция [17–19]. Исследование иммунных коррелятов у 10-недельных младенцев, вакцинированных бациллой Кальметта–Герена, не продемонстрировало ассоциации между частотами или паттернами экспрессии цитокинов бациллоспецифичными Т-клетками CD4⁺ и CD8⁺ [20]. Однако недавно с помощью иммуноферментного точечного анализа было обнаружено, что уровень бациллоспецифичных γ -интерферон-секретирующих Т-лимфоцитов обратно коррелирует с риском развития туберкулеза в южноафриканской когорте младенцев того же возраста [21]. Такие функциональные различия в экспрессии цитокинов могут просто отражать разные уровни воздействия Т-клеток на антигены *M. tuberculosis* и указывать на бактериальную нагрузку *in vivo* [11]. Эта гипотеза подтверждается фенотипическим анализом Т-клеток, специфичных к *M. tuberculosis*, который показывает, что более высокая бактериальная нагрузка при активной болезни связана с большей активацией клеточного иммунитета.

Активация специфических Т-лимфоцитов CD4⁺, измеренная по экспрессии антигенов главного комплекса гистосовместимости, CD38 или белка Ki67, оказалась значительно выше у больных активным туберкулезом, чем у пациентов с латентной инфекцией. Данные маркеры активации Т-клеток, по-видимому, хорошо отслеживают антигенную нагрузку, поскольку их экспрессия по мере лечения заболевания постепенно снижается. Это позволяет предположить, что определение уровней перечисленных антигенов может быть полезно для оценки ответа на противотуберкулезную терапию [22].

Анализ иммунитета младенцев, которые участвовали в недавнем испытании эффективности MVA85A фазы IIb [23], позволил предположить, что повышенная активация Т-лимфоцитов CD4⁺ связана с риском развития туберкулеза. Дети, которые впоследствии заболели туберкулезом, имели значительно более высокие уровни общих Т-клеток CD4⁺, экспрессирующих антигены главного комплекса гистосовместимости [21]. Важно отметить, что эта ассоциация была воспроизведена и на независимой когорте подростков, инфицированных *M. tuberculosis*, для которых также было подтверждено, что повышенная активация этих

лимфоцитов коррелирует с риском возникновения туберкулеза [21].

Положительные иммунологические туберкулезные тесты могут спонтанно превращаться в отрицательные [24]. О подобной реверсии, возникающей с частотой от 10 до 50 %, на протяжении последнего столетия сообщалось во многих исследованиях [25]. Механизмы реверсии не изучены, и возможными ее первопричинами могут быть подавление иммунитета, выход специфичных для *M. tuberculosis* Т-лимфоцитов из периферической крови к участкам инфекции или снижение бактериальной нагрузки. Однако реверсия иммунологических тестов – туберкулиновой кожной пробы или интерферонового теста (IGRA – interferon-gamma release assay) – также может указывать и на избавление от туберкулезной инфекции. Наиболее полное исследование реверсии туберкулиновой кожной пробы было проведено в 1920-х годах у лиц, контактировавших с больными туберкулезом в домашних условиях. Среди семейных контактов 11,1 % человек изменили положительный статус на отрицательный. Эти ревертеры имели очень низкий риск активного туберкулеза в течение последующих пяти лет (0,72 %). Напротив, у 23,3 % представителей всей когорты развилось заболевание [26]. Самое крупное исследование реверсии интерферонового теста – Quantiferon Gold In-Tube (QFT) было выполнено на подростках из Южной Африки, среди которых ежегодная частота реверсии составила 5,1 % [25]. Хотя в этом исследовании количество случаев заболевания оказалось слишком низким для надежной стратификации риска туберкулеза, его частота среди ревертеров была в 8 раз выше, чем среди лиц со стабильно отрицательными результатами теста: 1,47 против 0,18 случая на 100 человеко-лет [25].

В-лимфоциты и антитела при туберкулезе

Во многих исследованиях оценивалась способность антител точно указывать на активный туберкулез и дифференцировать инфицированных *M. tuberculosis* субъектов (определяемых положительными иммунологическими тестами). По признанным оценкам, треть населения мира латентно инфицирована *M. tuberculosis*, хотя этот показатель сильно варьирует от региона к региону [27, 28]. Анализ гуморального иммунитета у пациентов с *M. tuberculosis*, примерно 90 % из которых способны сдерживать инфекцию, позволяет идентифицировать антитела, которые могут быть важны для борьбы с туберкулезом. *M. tuberculosis* индуцирует выработку специфических для микобактерий антител против широкого спектра антигенов, при этом ни один из них или группа антигенов не выступают в качестве предпочтительной мишени. Все микобактериальные антиген-специфические иммуноглобулины G, A и M были зарегистрированы при туберкулезной инфекции. С.С. Perley et al. [29] сообщали о примерно равных соотношениях иммуноглобулинов G и M на поверхности

живых и в лизате цельных клеток у инфицированных и неинфицированных *M. tuberculosis*.

Исследования, посвященные динамике уровня микобактериальных антител среди ВИЧ-инфицированных, страдающих туберкулезом, малочисленны [30], но все специалисты согласны с тем, что они сильно различаются и часто совпадают у инфицированных и неинфицированных *M. tuberculosis* лиц. Наибольшее различие здесь отмечено R. Baumann et al. [31], которые обнаружили его между инфицированными и неинфицированными более чем с 80 % чувствительностью и 93 % специфичностью при использовании иммуноглобулина А, специфичного для L-аланиндегидрогеназы и белка NarL микобактерии. В отдельной работе эти авторы сообщили о 74 % чувствительности и 83 % специфичности комбинации иммуноглобулинов А и G, специфичных для липоарабиноманнана и белка PE35 [31]. С.С. Perley et al. [29] обнаружили лучшую дискриминацию при измерении концентрации антител, направленных против поверхности живых клеток микобактерий, по сравнению с клеточной стенкой, липоарабиноманнаном или секретируемыми белками [29].

Ответы Т-лимфоцитов на специфические антигены *M. tuberculosis*, включая ESAT-6 и CFP-10, используются в качестве основы для IGRA с целью различия инфицированных и неинфицированных лиц [32]. Однако реакции антител на специфические антигены микобактерии обычно не позволяют выявить это различие, хотя некоторые авторы и обнаружили лучшие результаты в условиях низкой микробной нагрузки [33]. Важно отметить потенциальную систематическую ошибку, поскольку характер туберкулезной инфекции определяется клеточным иммунным ответом на специфический для *M. tuberculosis* антиген, измеряемым либо туберкулиновым кожным тестом, либо IGRA. В настоящее время не существует метода выявления туберкулезной инфекции, который бы не зависел от клеточно-опосредованного иммунного ответа. В то время как уровень антител в сыворотке крови выше у пациентов с положительным туберкулиновым кожным тестом или IGRA, в нескольких исследованиях описано и высокое содержание антител у лиц с анергией к туберкулину. Это позволяет предположить, что уровень антител может повышаться и после воздействия самой *M. tuberculosis* в отсутствие клеточно-опосредованной иммунной реакции [34].

Хотя антитела при активном туберкулезе вырабатываются против широкого спектра белковых и небелковых антигенов, они не подходят для диагностики из-за недостаточной чувствительности и специфичности. Имеются данные о снижении avidности антител при активной форме туберкулеза и о нарушении экспрессии Fc-рецептора, а это скорее всего означает, что фагоцитоз и клеточная цитотоксичность, опосредованная антителами, могут быть нарушены. Транскриптомные сигнатуры В-клеток при туберкулезе также подавляются, что свидетельствует об уменьшении выраженности

или истощении гуморальной иммунной реакции. В-клетки и антитела участвуют в иммунном ответе на туберкулез, и взаимодействие антител с фагоцитами через Fc-рецептор становится ключевой областью исследований.

Скрининг

Методы лабораторной диагностики, применяемые для контроля состояния иммунной системы у пациентов с туберкулезом, требуют свежих образцов периферической крови, которые быстро портятся и не могут быть сохранены и использованы повторно. Кроме того, для проточной цитометрии необходимы специальное дорогостоящее оборудование и реактивы, а также подготовленные специалисты клинической и лабораторной диагностики. Система здравоохранения не может использовать такие методики рутинно и для каждого случая. Поэтому необходим скрининговый анализ, который позволит отобрать пациентов для углубленного обследования. Важными параметрами для оценки иммунитета считаются концентрации наивных Т- и В-лимфоцитов, которые могут быть измерены с помощью маркеров TREC (T-cell receptor exclusion circle) и KREC (kappa-deleting recombination excision circle) в сухом пятне крови или в цельной крови методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени.

Созревание функциональных Т- и В-клеток человека сопровождается рекомбинацией и перестройками в генах, кодирующих Т- и В-клеточные рецепторы [35]. Так, для сборки полноценного Т-клеточного рецептора должна произойти перестройка его локуса В, в ходе которой соединяются D, J и V сегменты, а также сливаются сегменты V и J локуса А. При этом образуется третий гипервариабельный домен (CDR3) бета- и альфа-цепи, соответственно. Во время каждого из этих процессов вырезаемые участки образуют кольца ДНК, получившие название TREC. В соответствии с числом сегментов Va, Ja, Vb, Db и Jb могут образовываться разные типы колец: несколько сотен при Va-Ja рекомбинации, десятки при рекомбинации Vb-Db и по крайней мере тринадцать – при Db-Jb. Во время перестройки локуса А рецептора в большинстве незрелых Т-лимфоцитов происходит делеция его локуса D, находящегося внутри и фланкированного V и J сегментами. Этот процесс относится к специфичным и проходит при участии делеционных последовательностей δ Rec и Ψ J. Генерируемая при этом кольцевая молекула была названа sjTREC (signal joint T-cell receptor rearrangement excision circle). Она присутствует практически у всех $\alpha\beta^+$ Т-лимфоцитов, выходящих из тимуса, и таким образом, может служить суррогатным маркером их количества [36].

Процесс формирования функционального рецептора в В-клетках начинается с рекомбинационных событий в локусе, несущем набор различных Vh-, D- и Jh-сегментов, в котором также генерируется большое количество эксцизионных колец ДНК [37]. Если

перестройка прошла правильно, начинается рекомбинация в локусе, кодирующем последовательности легкой каппа-цепи иммуноглобулинов. Она начинается со слияния сегментов Vk и Jk и в дальнейшем может сопровождаться рекомбинацией с участием интронной рекомбинационной последовательности и каппа-делеционным элементом, что делает каппа-локус нефункциональным, ввиду делеции энхансера и константного района. Данная перестройка ведет к образованию рекомбинационного кольца каппа-делеционного элемента, или KREC, которое присутствует в 30 % иммуноглобулинов легких цепей-каппа и почти во всех иммуноглобулинах легких цепей-лямбда зрелых наивных В-лимфоцитов. ДНК KREC также может быть суррогатным маркером для этих лимфоцитов и использоваться для оценки их пролиферативной истории [38].

В Российской Федерации разработаны тесты для количественного определения молекул ДНК TREC и KREC в цельной крови и сухих пятнах крови методом мультиплексной полимеразной цепной реакции в режиме реального времени, зарегистрирован патент на тест с приоритетом от 06.08.2015 и получено удостоверение Росздравнадзора на использование теста в клинической практике.

Заключение

Современная медицина нацелена на предупреждение, а если это невозможно, то на максимально раннее выявление заболеваний, их контроль, недопущение осложнений. Отличным способом для оценки клеточного иммунитета считается исследование субпуляционного состава периферической крови методом проточной цитофлуометрии. Этот анализ служит основным инструментом в работе аллерголога-иммунолога. Однако из-за высокой стоимости он непригоден для скрининга. Также надо отметить, что, по мнению некоторых экспертов, количества проточных цитометров и обученного персонала на нем в России недостаточно. Отклонения в клеточном иммунитете также эффективно обнаруживаются с помощью измерения концентрации TREC и KREC в сухом пятне крови или в цельной крови методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени. TREC являются побочным продуктом рекомбинации гена Т-клеточного, а KREC – В-клеточного рецептора. Следовательно, низкие уровни несущих эти молекулы лимфоцитов в периферической крови указывают на Т- и/или В-клеточную лимфопению [39].

Ранее были доказаны значимые корреляции между TREC и Т-клетками $CD3^+$ и $CD4^+$, а также между KREC и В-лимфоцитами $CD19^+$. Комбинация TREC и KREC может быть использована для предсказания результатов проточной цитометрии Т- и В-лимфоцитов. Исследования в этом направлении свидетельствуют о принципиально новых, крайне перспективных подходах к диагностике состояния клеточного иммунитета. Информативность количественного анализа

TREC и KREC в периферической крови, а также в сухих пятнах крови на картах неонатального скрининга, не вызывает сомнений и может считаться удобным, эффективным и несложным способом контроля клеточного иммунитета. Также стоит отметить, что стоимость оборудования лаборатории для проведения полимеразной цепной реакции значительно ниже таковой для проточной цитометрии. Полимеразная цепная реакция относится к повсеместно распространенным методикам, так что никакого дополнительного обучения персонала лабораторий здесь не требуется. Интерпретация результатов анализа уровней TREC и KREC также не представляет сложности [40].

Таким образом, анализ концентрации TREC и KREC у пациентов, инфицированных *M. tuberculosis*, – обоснованный и перспективный метод контроля их клеточного иммунитета, который позволит лучше контролировать болезнь и предупреждать возможные осложнения.

Конфликт интересов: авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источник финансирования: авторы заявляют о финансировании проведенного исследования из собственных средств.

Литература / References

- Covert BA, Spencer JS, Orme IM, Belisle JT. The application of proteomics in defining the T cell antigens of *Mycobacterium tuberculosis*. *Proteomics*. 2001;1(4):574–86.
- Boesen H, Jensen BN, Wilcke T, Andersen P. Human T-cell responses to secreted antigen fractions of *Mycobacterium tuberculosis*. *Infect Immun*. 1995;63(4):1491–7.
- Samarghitean C, Vihinen M. Bioinformatics services related to diagnosis of primary immunodeficiencies. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2009;9(6):531–6.
- Lalvani A, Nagvenkar P, Udawadia Z, Pathan AA, Wilkinson KA, Shastri JS, et al. Enumeration of T cells specific for RD1-encoded antigens suggests a high prevalence of latent *Mycobacterium tuberculosis* infection in healthy urban Indians. *J Infect Dis*. 2001;183(3):469–77.
- Pathan AA, Wilkinson KA, Klenerman P, McShane H, Davidson RN, Pasvol G, et al. Direct ex vivo analysis of antigen-specific IFN- γ -secreting CD4 T cells in *Mycobacterium tuberculosis*-infected individuals: Associations with clinical disease state and effect of treatment. *J Immunol*. 2001;167(9):5217–25.
- McShane H, Pathan AA, Sander CR, Keating SM, Gilbert SC, Huygen K, et al. Recombinant modified vaccinia virus Ankara expressing antigen 85A boosts BCG-primed and naturally acquired antimycobacterial immunity in humans. *Nat Med*. 2004;10(11):1240–4.
- Abel B, Tameris M, Mansoor N, Gelderbloem S, Hughes J, Abrahams D, et al. The novel tuberculosis vaccine, AERAS-402, induces robust and polyfunctional CD4⁺ and CD8⁺ T cells in adults. *Am J Respir Crit Care Med*. 2010;181(12):1407–17.
- Lindestam Arlehamn CS, Gerasimova A, Mele F, Henderson R, Swann J, Greenbaum JA, et al. Memory T cells in latent *Mycobacterium tuberculosis* infection are directed against three antigenic islands and largely contained in a CXCR3⁺CCR6⁺ Th1 subset. *PLoS Pathog*. 2013;9(1):e1003130. doi: 10.1371/journal.ppat.1003130
- Carpenter C, Sidney J, Kolla R, Nayak K, Tomiyama H, Tomiyama C, et al. A side-by-side comparison of T cell reactivity to fifty-nine *Mycobacterium tuberculosis* antigens in diverse populations from five continents. *Tuberculosis*. 2015;95(6):713–21.
- Lindestam Arlehamn CS, Paul S, Mele F, Huang C, Greenbaum JA, Vita R, et al. Immunological consequences of intragenus conservation of *Mycobacterium tuberculosis* T-cell epitopes. *Proc Natl Acad Sci*. 2015;112(2):E147–55.
- Day CL, Abrahams DA, Lerumo L, Janse van Rensburg E, Stone L, O'rie T, et al. Functional capacity of *Mycobacterium tuberculosis*-specific T cell responses in humans is associated with *Mycobacterium tuberculosis* load. *J Immunol*. 2011;187(5):2222–32.
- Rozot V, Vigano S, Mazza-Stalder J, Idrizi E, Day CL, Perreau M, et al. *Mycobacterium tuberculosis*-specific CD8⁺ T cells are functionally and phenotypically different between latent infection and active disease. *Eur J Immunol*. 2013;43(6):1568–77.
- Rozot V, Patrizia A, Vigano S, Mazza-Stalder J, Idrizi E, Day CL, et al. Combined use of *Mycobacterium tuberculosis*-specific CD4 and CD8 T-cell responses is a powerful diagnostic tool of active tuberculosis. *Clin Infect Dis*. 2015;60(3):432–7.
- Seder RA, Darrah PA, Roederer M. T-cell quality in memory and protection: implications for vaccine design. *Nat Rev Immunol*. 2008;8(4):247–58.
- Harari A, Rozot V, Enders FB, Perreau M, Stalder JM, Nicod LP, et al. Dominant TNF- α *Mycobacterium tuberculosis*-specific CD4⁺ T cell responses discriminate between latent infection and active disease. *Nat Med*. 2011;17(3):372–6.
- Riou C, Gray CM, Lugongolo M, Gwala T, Kiravu A, Deniso P, et al. A subset of circulating blood mycobacteria-specific CD4 T cells can predict the time to *Mycobacterium tuberculosis* sputum culture conversion. *PLoS ONE*. 2014;9(7):e102178. doi: 10.1371/journal.pone.0102178
- Sutherland JS, Adetifa IM, Hill PC, Adegbola RA, Ota MOC. Pattern and diversity of cytokine production differentiates between *Mycobacterium tuberculosis* infection and disease. *Eur J Immunol*. 2009;39(3):723–9.
- Caccamo N, Guggino G, Joosten SA, Gelsomino G, Di Carlo P, Titone L, et al. Multifunctional CD4⁺ T cells correlate with active *Mycobacterium tuberculosis* infection. *Eur J Immunol*. 2010;40(8):2211–20.
- Mueller H, Detjen AK, Schuck SD, Gutschmidt A, Wahn U, Magdorf K, et al. *Mycobacterium tuberculosis*-specific CD4⁺, IFN γ ⁺, and TNF α ⁺ multifunctional memory T cells coexpress GM-CSF. *Cytokine*. 2008;43(2):143–8.
- Kagina BMN, Abel B, Scriba TJ, Hughes EJ, Keyser A, Soares A, et al. Specific T cell frequency and cytokine expression profile do not correlate with protection against tuberculosis after Bacillus Calmette-Guérin vaccination of newborns. *Am J Respir Crit Care Med*. 2010;182(8):1073–9.
- Fletcher HA, Snowden MA, Landry B, Rida W, Satti I, Harris SA, et al. T-cell activation is an immune correlate of risk in BCG vaccinated infants. *Nat Commun*. 2016;7(1):11290.
- Adekambi T, Ibegbu CC, Cagle S, Kalokhe AS, Wang YF, Hu Y, et al. Biomarkers on patient T cells diagnose active tuberculosis and monitor treatment response. *J Clin Invest*. 2015;125(5):1827–38.
- Tameris MD, Hatherill M, Landry BS, Scriba TJ, Snowden MA, Lockhart S, et al. Safety and efficacy of MVA85A, a new tuberculosis vaccine, in infants previously vaccinated with BCG: A randomised, placebo-controlled phase 2b trial. *Lancet*. 2013;381(9871):1021–8.
- Hawn TR, Day TA, Scriba TJ, Hatherill M, Hanekom WA, Evans TG, et al. Tuberculosis vaccines and prevention of infection. *Microbiol Mol Biol Rev*. 2014;78(4):650–71.
- Andrews JR, Hatherill M, Mahomed H, Hanekom WA, Campo , Hawn TR, Wood R, Scriba TJ. The dynamics of QuantiFERON-TB Gold In-Tube conversion and reversion in a cohort of South African adolescents. *Am J Respir Crit Care Med*. 2015;191(5):584–91.
- Nemes E, Geldenhuys H, Rozot V, Rutkowski KT, Ratanjee F, Bilek N, et al. Prevention of *M. tuberculosis* infection with H4:IC31 vaccine or BCG revaccination. *N Engl J Med*. 2018;379(2):138–49.

27. Dye C, Scheele S, Dolin P, Pathania V, Raviglione MC. Consensus statement. Global burden of tuberculosis: estimated incidence, prevalence, and mortality by country. WHO Global Surveillance and Monitoring Project. *JAMA*. 1999;282(7):677–86.
28. Esmail H, Barry 3rd CE, Young DB, Wilkinson RJ. The ongoing challenge of latent tuberculosis. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 2014;369(1645):20130437. doi: 10.1098/rstb.2013.0437
29. Perley CC, Frahm M, Click EM, Dobos KM, Ferrari G, Stout JE, Frothingham R. The human antibody response to the surface of *Mycobacterium tuberculosis*. *PLoS ONE*. 2014;9(6):e98938. doi: 10.1371/journal.pone.0098938
30. Yu X, Prados-Rosales R, Jenny-Avital ER, Sosa K, Casadevall A, Achkar JM. Comparative evaluation of profiles of antibodies to *Mycobacterial* capsular polysaccharides in tuberculosis patients and controls stratified by HIV status. *Clin Vaccine Immunol*. 2012;19(2):198–208.
31. Baumann R, Kaempfer S, Chegou NN, Oehlmann W, Spallek R, Loxton AG, et al. A subgroup of latently *Mycobacterium tuberculosis* infected individuals is characterized by consistently elevated IgA responses to several mycobacterial antigens. *Mediat Inflamm*. 2015. doi: 10.1155/2015/364768
32. Pai M, Denkinger CM, Kik SV, Rangaka MX, Zwerling A, Oxlade O, et al. Gamma interferon release assays for detection of *Mycobacterium tuberculosis* infection. *Clin Microbiol Rev*. 2014;27(1):3–20.
33. Hur Y-G, Kim A, Kang YA, Kim AS, Kim DY, Kim Y, et al. Evaluation of antigen-specific immunoglobulin G responses in pulmonary tuberculosis patients and contacts. *J Clin Microbiol*. 2015;53(3):904–9.
34. Bothamley GH, Beck JS, Potts RC, Grange JM, Kardjito T, Ivanyi J. Specificity of antibodies and tuberculin response after occupational exposure to tuberculosis. *J Infect Dis*. 1992; 166(1):182–6.
35. Blackwell TK, Alt FW. Mechanism and developmental program of immunoglobulin gene rearrangement in mammals. *Annu Rev Genet*. 1989;23(1):605–36.
36. Douek DC, McFarland RD, Keiser PH, Gage EA, Massey JM, Haynes BF, et al. Changes in thymic function with age and during the treatment of HIV infection. *Nature*. 1998;396(6712):690–5.
37. Tonegawa S. Somatic generation of antibody diversity. *Nature*. 1983;302(5909):575–81.
38. van Zelm MC, Szczepański T, van der Burg M, van Dongen JJM. Replication history of B lymphocytes reveals homeostatic proliferation and extensive antigen-induced B cell expansion. *J Exp Med*. 2007;204(3):645–55.
39. Корсунский И.А., Гордукова М.А., Мунблит Д.Б., Козлов И.Г., Продеус А.П., Корсунский А.А. Клинические и эпидемиологические аспекты первичных иммунодефицитных состояний и их раннего обнаружения. *Медицинская иммунология*. 2017;19(5):505–12. [Korsunskiy IA, Gordukova MA, Kozlov IG, Prodeus AP, Korsunskiy AA. Clinical and epidemiological aspects of primary immunodeficiency diseases (PID) and early diagnosis options. *Medical Immunology*. 2017;19(5):505–12 (In Russ).]
40. Korsunskiy I, Blyuss O, Gordukova M, Davydova N, Gordleeva S, Molchanov R, et al. TREC and KREC levels as a predictors of lymphocyte subpopulations measured by flow cytometry. *Front Physiol*. 2019. doi: 10.3389/fphys.2018.01877