

В. И. Литвинов¹, Л. В. Слогодская¹, П. П. Сельцовский¹, А. М. Шустер², В. А. Мартыанов², А. В. Демин²,
А. В. Филиппов¹, В. Ю. Смирнов¹, Л. Б. Стахеева¹

НОВЫЙ КОЖНЫЙ ТЕСТ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ТУБЕРКУЛЕЗНОЙ ИНФЕКЦИИ

¹Московский городской научно-практический центр борьбы с туберкулезом Департамента здравоохранения Москвы; ²ЗАО "Мастерклон", Москва

◆ Была оценена безопасность, чувствительность и специфичность нового кожного туберкулезного теста Диаскинтеста® (DST), содержащего антигены ESAT-6 и CFP-10, у 122 человек: здоровых, больных туберкулезом, инфицированных *Mycobacterium tuberculosis* (взрослых, подростков, детей). Установлено, что DST обладает высокой чувствительностью — практически у всех больных туберкулезом отмечена положительная реакция; у больных туберкулезом и инфицированных детей ответ на DST более выражен, чем у взрослых; при стабилизации и обратном развитии процесса реакция на DST значительно менее выраженная при манифестных формах и первичном инфицировании; DST обладает высокой специфичностью — здоровые лица имели отрицательную реакцию на DST; у больных туберкулезом с выраженными иммунопатологическими нарушениями, обусловленными тяжелым течением туберкулезного процесса и сопутствующими заболеваниями (СПИД), кожная чувствительность к препарату DST, как и к туберкулину, может отсутствовать (отрицательная проба); в процессе исследования не выявлено проявлений неспецифической аллергии на препарат DST.

◆ The safety, sensitivity, and specificity of the new cutaneous tuberculosis test Diaskintest® (DST) containing the ESAT-6 and CFP-10 antigens in 122 subjects: healthy individuals, patients with tuberculosis infected with *Mycobacterium tuberculosis* (adults, adolescents, and children). DST was ascertained to have a high sensitivity — virtually all patients with tuberculosis showed a positive reaction; in children, tuberculosis and infected patients, the response to DST was more pronounced than in adults; with stabilization and regression of the process, the response to DST was much less pronounced in clinical forms and primary infection; DST has a high specificity - the healthy individuals had a negative response to DST; tuberculosis patients with significant immunopathological disorders caused by the severe course of a tuberculous process and concomitant diseases (such as AIDS) may lack a skin sensitivity to the agent DST as to tuberculin (a negative test); the study revealed no manifestations of nonspecific allergy to DST.

В России, как и в большинстве стран, где уровень заболеваемости и смертности от туберкулеза достаточно велик, с целью специфической профилактики туберкулеза используются прививки туберкулезной вакцины BCG новорожденным, а в 7 и 14 лет повторные вакцинации в случае, если кожный туберкулиновый тест Манту с 2 ТЕ PPD-L будет отрицательным.

Ежегодно, начиная с 1 года и до 18 лет, каждому ребенку должен быть проведен внутрикожный туберкулиновый тест (Манту) с 2 ТЕ PPD-L для выявления инфицированности микобактериями туберкулеза, а в 7 и 14 лет — кроме того, для отбора детей с отрицательным тестом на повторную вакцинацию.

Из-за перекрестной сенсибилизации организма вакцинным штаммом BCG (*Mycobacterium bovis* BCG) в случае прививки и *Mycobacterium tuberculosis* при инфицировании положительная реакция на туберкулин может иметь место в обоих случаях, что затрудняет ее интерпретацию, приводит к гипердиагностике инфицированности и как следствием к необоснованному назначению превентивной химиотерапии.

В связи с этим в последние годы был выполнен целый ряд исследований по выделению антигенов *M. tuberculosis*, которые бы отсутствовали в вакцинном субштамме *M. bovis* (BCG) [1–3]. Этими антигенами оказались ESAT-6 и CFP-10 [1, 2, 4–13].

Так, для диагностики латентной туберкулезной инфекции *in vitro* были разработаны и используются во многих странах 2 теста, основанных на определении (γ -интерферона (IFN- γ), секретируемого клетками крови (Т-лимфоцитами) инфицированного человека при контакте с антигенами микобактерий туберкулеза. В обоих тестах [QuantiFERON (QFT)-TB и Elispot] используются специфичные для *M. tuberculosis* антигены — ESAT-6 и CFP-10 [14–22].

Метаанализ 59 зарубежных публикаций о применении этих тестов [23] показал, что у больных активным туберкулезом их чувствительность недостаточна, но в то же время существенно выше кожного туберкулинового теста Манту. Их специфичность также была выше, т. е. они гораздо реже давали положительные реакции у неинфицированных и привитых BCF лиц.

Вместе с тем эти тесты (*in vitro*) имеют существенные недостатки: высокую стоимость, потребность в оснащенной лаборатории, высокие требования к обработке крови с целью поддержания жизнеспособности клеток, а также внутривенные манипуляции при заборе крови, особенно затрудненные у детей.

С учетом этих данных в России был разработан препарат Диаскинтест® (DST), который представляет собой рекомбинантный белок CFP-10—ESAT-6, продуцируемый *Escherichia coli* BL21 (DE3)/pCFP—ESAT. Препарат производится фармацевтической фирмой "ЛЕККО" (Россия), предназначен для внутрикожного применения в дозе 0,2 мкг в 0,1 мл. Эта доза вводится строго внутривенно.

Нами впервые в клинических исследованиях была изучена безопасность, специфичность, чувствительность нового кожного теста на основе препарата, содержащего рекомбинантные белки ESAT-6 и CFP-10. Проведено его сравнение с кожным туберкулиновым тестом Манту с 2 ТЕ PPD-L.

В клинических условиях обследовано 140 человек — здоровых, больных туберкулезом, инфицированных *M. tuberculosis* (взрослых 18–50 лет, детей и подростков 6–17 лет). Им параллельно поставлены тесты с новым препаратом DST и тест Манту с 2 ТЕ PPD-L.

Исследование проводилось в 2 терапевтических и детском реабилитационном отделениях Московского городского научно-практического центра борьбы с туберкулезом. Срок проведения исследования: ноябрь 2006 г. — март 2008 г.

Статистический анализ проводился с помощью программы Excel.

Для того, чтобы внутрикожный тест с туберкулезным аллергеном для выявления гиперчувствительности замедленного типа мог считаться эталонным (референтным) методом, необходимо выполнение следующих условий:

- максимально высокая чувствительность — частота положительного результата у лиц, впервые инфицированных *M. tuberculosis*, и у больных туберкулезом с активным процессом;

- максимально высокая специфичность — частота отрицательного результата у лиц, не инфицированных *M. tuberculosis*, излеченных от туберкулеза и туберкулезной инфекции;

- отсутствие положительной реакции у лиц, вакцинированных BCG;

- минимальная частота проявлений неспецифической аллергии;

- минимальная частота избыточно сильных реакций.

Доклиническое исследование безопасности применения DST — концентрата (субстанции) для изготовления стандартных разведений проведено на 315 лабораторных животных (мыши, морские свинки). Установлено, что препарат нетоксичен, не обладает сенсибилизирующими свойствами, безопасен, специфичен — не вызывает положительных реакций у животных, вакцинированных BCG, и у здоровых морских свинок. Его специфическая активность сопоставима с таковой национального очищенного туберкулеза PPD-L-2. С нарастанием туберкулезных поражений у морских свинок увеличиваются ответные реакции на DST, а у вакцинированных животных реакций на DST отсутствуют.

На животных была установлена доза DST — 0,2 мкг, реакция на которую соответствовала реакциям на 2 ТЕ PPD-L.

Размер инфильтрата регистрируется в миллиметрах (по отношению к оси предплечья) через 72 ч аналогично пробе Манту.

Клинические исследования проведены в соответствии с Национальным стандартом РФ "Надлежащая клиническая практика" (ГОСТ р52 379—2005), Санитарными правилами СП 3.3.2.561—96 "Государственные испытания и регистрация новых медицинских иммунобиологических препаратов" (утверждены постановлением Госкомсанэпиднадзора РФ № 33 от 31 октября 1996 г.).

Исследования начинали в 4 последовательных группах здоровых добровольцев (по 5 человек), первоначально с половинной дозы (0,1 мкг), затем — полной (0,2 мкг). После этого клинические исследования были проведены у больных туберкулезом органов дыхания: 1-я группа — с выраженной положительной рентгенологической динамикой процесса и прекращением бактериовыделения; 2-я — с манифестными формами туберкулеза органов дыхания. Дети и подростки обследованы последними — после получения результатов об отсутствии нежелательных побочных реакций. Все испытуемые подписали информированное согласие на участие в исследовании, за детей — их родители.

На первом этапе исследования нашими задачами были:

1. Изучить безопасность, реактогенность DST на ограниченном контингенте взрослых здоровых добровольцев.

2. Изучить реактогенность, специфичность DST на ограниченном контингенте взрослых больных туберку-

лезом легких — добровольцах в двойном тесте в сравнении с туберкулином (2 ТЕ PPD-L).

На первом этапе исследования численность контингента составила 40 человек (4 последовательные группы испытуемых):

- 1-я — 10 взрослых здоровых добровольцев, которым была поставлена проба с DST (доза 0,1 мкг в 0,1 мл).

- 2-я — 10 взрослых здоровых добровольцев, которым была поставлена проба с DST (доза 0,2 мкг в 0,1 мл).

- 3-я — 10 взрослых больных туберкулезом легких (двойной тест — одновременно на обеих руках проба Манту с 2 ТЕ PPD-L и проба с DST с 0,1 мкг в 0,1 мл).

- 4-я — 10 взрослых больных туберкулезом легких (двойной тест — одновременно на обеих руках проба Манту с 2 ТЕ PPD-L и проба с DST с 0,2 мкг в 0,1 мл).

Исследование проводилось в стационарных условиях. Наблюдение за общей и местной реакциями осуществлялось после введения препарата в течение 72 ч. Местная реакция после постановки пробы регистрировалась через 20 мин и затем ежедневно в течение 3 ч, в последующем — через 12, 24, 36, 48, 72 ч после введения DST. Лабораторное и инструментальное обследование включало: общий анализ крови, общий анализ мочи (за 1 день до и через 48 ч после постановки проб), термометрию (до проведения проб, через 30 мин, 12, 24, 48, 72 ч), измерение артериального давления (до проведения проб, через 30 мин, 12, 24, 48, 72 ч), рентгенологическое исследование органов грудной клетки (за 1—7 дней до постановки проб).

Среди практически здоровых добровольцев было 12 женщин и 8 мужчин, средний возраст составил 32 года. В связи с тем что критерием включения была реакция Манту с 2 ТЕ PPD-L не более 10 мм, за 1 мес до исследования испытуемым проведен тест Манту. Из 20 здоровых добровольцев отрицательная реакция отмечена у 8, сомнительная (папула 2—4 мм) — у 1, положительная (папула 5—9 мм) — у 11 здоровых добровольцев.

Оценка безопасности и реактогенности DST проводилась на основании учета у здоровых добровольцев нежелательных побочных явлений (местных и общих реакций), отклонений лабораторных показателей. При постановке пробы с DST в дозе 0,1 и 0,2 мкг в 0,1 в процессе наблюдения никаких общих реакций не отмечено. Повторное исследование крови, мочи (через 48 ч после постановки пробы) отклонений от нормы также не выявило. Не было и местных реакций на введение препарата в дозе 0,1 мкг. В дозе 0,2 мкг у 2 исследуемых отмечалась выраженная положительная реакция. Оба этих пациента имели постоянный профессиональный контакт с источниками туберкулезной инфекции. Размер папулы (инфильтрата) через 72 ч составил:

- у лаборанта вивария, проводящего эксперименты с зараженными туберкулезом животными, — 17 мм (реакция на пробу Манту за 1 мес до исследования была слабopоложительной — 9 мм);

- у процедурной медицинской сестры туберкулезного стационара — 13 мм (реакция на пробу Манту за 1 мес до исследования была слабopоложительной — 9 мм).

Таким образом, несмотря на то, что до исследования большинство испытуемых имели положительные результаты теста Манту, ни у кого из них, за исключением 2 человек, положительной реакции на DST не выявлено. У 2 человек, имеющих профессиональный контакт с туберкулезом, положительная реакция позволила предположить латентную туберкулезную инфекцию, поскольку тщательное исследование не выявило никаких локальных проявлений туберкулеза.

Нами прослежено в течение 1,5 года состояние здоровья 15 здоровых добровольцев, включая 2 испытуемых, у которых отмечена положительная реакция на DST. Проведенные рентгенологическое и лабораторные исследования свидетельствуют о том, что у них не развился органический туберкулез (остальные 5 человек недоступны для контакта).

Поскольку новый кожный тест был создан для того, чтобы получить более совершенный инструмент диагностики туберкулезной инфекции по сравнению с существующими, мы посчитали, что о его эффективности можно будет судить по соответствию его результатов клиническим данным о наличии заболевания туберкулезом. Характер заболевания тщательно изучен в условиях специализированного стационара с применением клинко-рентгенологических и микробиологических методов исследования (включая параллельные посевы на твердых средах и жидких — в автоматизированных системах), которые проводились всем больным в стационаре ежемесячно.

На первом этапе исследования (проводилось у больных туберкулезом) были выбраны пациенты, у которых после интенсивного курса терапии противотуберкулезными препаратами отмечалась положительная динамика (прекращение бактериовыделения, положительная рентгенологическая динамика). Это определялось необходимостью убедиться в отсутствии выраженных общих и местных реакций на DST с тем, чтобы перейти в дальнейшем к исследованию у лиц с начальными манифестными формами туберкулеза, в том числе и у детей.

Из 20 пациентов инфильтративный туберкулез был у 14, очаговый — у 4, диссеминированный — у 2 больных. Больные получили полноценное лечение в течение 3—8 мес. Среди них было 15 мужчин и 5 женщин. Средний возраст составил 35 лет.

При постановке проб Манту и DST (в половинной дозе — 0,1 мкг в 0,1 мл) у 10 больных туберкулезом легких установлено:

- Отрицательный результат пробы с DST наблюдался у 7 пациентов, у которых в основном отмечены остаточные изменения туберкулезного процесса на фоне проводимой терапии противотуберкулезными препаратами. Результаты пробы Манту с 2 ТЕ PPD-L были положительными — размер папул в среднем составил 11,7 мм.

- Положительный результат пробы с DST отмечен у 3 пациентов, у которых данные клинко-рентгенологического исследования свидетельствовали о начале положительной динамики туберкулезного процесса — средний размер папул составил 17,7 мм. Средний размер папул на пробу Манту с 2ТЕ-PPD-L составил 18,3 мм.

Поскольку ни общих, ни необычных местных реакций на DST отмечено не было, а характер реакций на пробу Манту был более выраженным, дозу DST повысили с половинной до полной — 0,2 мкг в 0,1 мл.

При постановке проб Манту и DST в дозе 0,2 мкг в 0,1 мл у 10 больных туберкулезом легких установлено:

- Отрицательный результат пробы с DST отмечен у 6 пациентов с остаточными изменениями туберкулезного процесса. Результаты пробы Манту у этих больных оказались следующими: отрицательная реакция — у 2, положительная — у 3 (средний размер папул составил 10,2 мм).

- Положительный результат пробы с DST наблюдался у 4 больных. Клинко-рентгенологические данные у этих пациентов свидетельствовали о сохраняющейся активности туберкулезного процесса. Средний размер па-

пулы составил 13,5 мм. Результаты пробы Манту у этих больных были также положительными (средний размер папул составил 14 мм).

Таким образом, изучение безопасности и реактогенности DST на 40 добровольцах (20 здоровых и 20 больных туберкулезом легких) показало отсутствие гиперергических, необычных, а также побочных системных и местных реакций на препарат как в дозе 0,1 мкг, так и в дозе 0,2 мкг в 0,1 мл. Препарат не вызывал положительных реакций у здоровых. Положительная реакция на DST отмечена у больных с "незавершенным" туберкулезным процессом, а также у лиц, практически здоровых, но очевидно имеющих латентную туберкулезную инфекцию.

Результаты испытаний явились основанием для проведения более детального исследования чувствительности и специфичности DST у взрослых, подростков, детей, больных туберкулезом легких, лиц, инфицированных микобактериями туберкулеза, и здоровых.

На следующем этапе мы поставили перед собой следующие задачи:

1. Изучить чувствительность DST у больных (взрослые, подростки, дети) с активным туберкулезом органов дыхания и у лиц, впервые инфицированных микобактериями туберкулеза. Уточнить частоту избыточно сильных реакций на DST.

2. Установить специфичность DST у здоровых, а также у лиц, перенесших туберкулез легких и в настоящее время не имеющих признаков активности процесса.

Постановка пробы с DST у этих контингентов так же, как и на предыдущих этапах исследования, проводилась в условиях стационара, где больные и здоровые были обследованы аналогично предыдущему этапу.

Впервые инфицированными считались лица, имевшие контакт с больными туберкулезом и не получившие превентивной химиотерапии, с положительными тестами Манту и/или DST после комплексного обследования (включая компьютерную томографию), позволившего исключить у них локальный туберкулез.

Здоровыми считались лица, никогда не болевшие туберкулезом, а также дети, излечившиеся от туберкулезной инфекции, в том числе локальных форм, и длительно (в течение нескольких лет) наблюдавшиеся в группах риска — либо после излечения у них туберкулеза, либо после полноценной превентивной терапии после инфицирования.

Отдельную группу составили взрослые больные с тяжелыми формами туберкулеза на фоне выраженных иммунных нарушений, вызванных СПИДом, поскольку у этих лиц кожные тесты Манту зачастую отрицательны, так же, как и тесты по исследованию IFN- γ в крови пациентов *in vitro* в ответ на специфичные для *M. tuberculosis* белки ESAT-6 и CFP-10.

Чувствительность внутрикожной пробы с препаратом DST

Чувствительность — это доля лиц с положительным результатом теста среди лиц, имеющих данное заболевание. Чувствительность DST изучена у 73 пациентов:

- 1-я группа — взрослые больные туберкулезом легких — манифестные формы (27 человек в возрасте 18—50 лет);

- 2-я группа — взрослые больные туберкулезом легких с положительной динамикой процесса (15 человек 19—50 лет);

- 3-я группа — подростки и дети, больные туберкулезом органов дыхания (13 человек 7—13 лет);

Таблица 1
Результаты тестов с DST и Манту в разных группах больных (M ± m)

Группа больных	Число больных	Результаты с DST, мм	Результаты теста Манту, мм
1-я	27	13,93 ± 1,05	14,41 ± 0,78
2-я	15	9,13 ± 1,65	11,27 ± 1,34
3-я	13	17,54 ± 1,94	14,62 ± 0,96
4-я	12	19,1 ± 0,89	13,7 ± 1,05
5-я	6	5,2 ± 3,27	6,3 ± 2,86

Таблица 2
Результаты тестов с DST и Манту в разных группах здоровых (M ± m)

Группа пациентов	Число больных	Результаты теста с DST, мм	Результаты теста Манту, мм
1-я	38	0	7,68 ± 0,9
2-я	17	0	8,59 ± 1,29

4-я группа — лица, инфицированные *M. tuberculosis* (12 детей 7—13 лет).

5-я группа — локальные с тяжелыми формами туберкулеза на фоне выраженных иммунных нарушений, вызванных СПИДом (6 человек 26—40 лет);

В 5-й группе реакция на пробу с DST оказалась отрицательной у 4 из 6 больных с наиболее выраженными иммунопатологическими нарушениями. Реакция на пробу Манту также у 4 больных была отрицательной.

У всех остальных пациентов реакция на DST была положительной (табл. 1).

При данном разведении препарата установлена высокая частота избыточно сильных реакций (везикулонекротические, лимфангит, лимфаденит). Такие реакции были отмечены у 3 детей, больных туберкулезом внутригрудных лимфатических узлов, и у 1 впервые инфицированного.

Специфичность внутрикожной пробы с препаратом DST

Специфичность — это доля лиц с отрицательным результатом теста в популяции без изучаемой болезни. Изучена у 55 человек:

1-я группа — здоровые лица (38 человек — 12 взрослых 19—49 лет, 26 детей 7—17 лет);

2-я группа — пациенты без признаков активности туберкулезного процесса в период завершения инволюции туберкулезных изменений (17 человек 18—50 лет).

Реакция на пробу с DST оказалась отрицательной у всех 55 пациентов (табл. 2). Таким образом, проведенное исследование показало следующее:

1. DST обладает высокой чувствительностью — практически у всех больных туберкулезом с признаками активности процесса отмечена положительная реакция.

2. У больных туберкулезом и инфицированных детей ответ на DST более выражен, чем у взрослых. У детей также отмечены лимфангит и везикулонекротические реакции.

3. При стабилизации и обратном развитии процесса реакция на DST значительно менее выраженная при манифестных формах и первичном инфицировании.

4. DST обладает высокой специфичностью — здоровые лица имели отрицательную реакцию на DST при том, что реакция на пробу Манту у них была положительной.

5. У больных туберкулезом с выраженными иммунопатологическими нарушениями, обусловленными тяжелым течением туберкулезного процесса и сопутствующими заболеваниями (СПИД), кожная чувствительность к препарату DST, как и к туберкулину, может отсутствовать (отрицательная реакция).

6. В процессе исследования не обнаружено проявлений неспецифической аллергии на препарат DST.

Полученные результаты обосновывают применение препарата DST для:

- выявления лиц, впервые инфицированных *M. tuberculosis*;

- оценки активности процесса у больных туберкулезом и наблюдения за эффективностью лечения больных туберкулезом и лиц, инфицированных *M. tuberculosis*, в комплексе с другими методами.

Результаты дальнейших исследований у лиц, вакцинированных BCG, а также имеющих поствакцинальные осложнения, вероятно, могут помочь в решении следующих задач:

- дифференциальной диагностики туберкулеза и других заболеваний, в том числе осложнений, связанных с вакцинацией BCG;

- уточнения эпидемиологических показателей по туберкулезу (инфицированность населения *M. tuberculosis*, ежегодный риск инфицирования).

ЛИТЕРАТУРА

1. Sorensen A., Nagai S., Houen G. et al. // Infect. And Immun. — 1995. — Vol. 63. — P. 1710—1717.
2. Harboe M., Oettinger H., Wiker I. et al. // Infect. And Immun. — 1996. — Vol. 64. — P. 16—22.
3. Brosch R., Gordon S., Billault T. et al. // Infect. Immun. — 1998. — Vol. 66. — P. 222—229.
4. Andersen P. // Immunobiology. — 1994. — Vol. 191. — P. 537—547.
5. Wood P., Corner L., Plackett P. // Res. Vet. Sci. — 1990. — Vol. 49. — P. 46—49.
6. Pollock J., Andersen P. // Infect. and Immun. — 1997. — Vol. 65. — P. 2587—2592.
7. Pathan A., Brookes H., Pritchard R. et al. // Immunology. — 1998. — Vol. 95. — P. 90.
8. Ulrichs T., Munk M., Mollenkopf H. et al. // Eur. J. Immunol. — 1998. — Vol. 28. — P. 3949—3958.
9. Buddie B., Parlane N., Keen F. et al. // Clin. Diagn. Lab. Immunol. — 1999. — Vol. 6. — P. 1—5.
10. Lein A., von-Reyn P., Ravn C. et al. // Clin. Diagn. Lab. Immunol. — 1999. — Vol. 6. — P. 606—609.
11. Ravn P., Demissie A., Eguale T. et al. // J. Infect. Dis. — 1999. — Vol. 179. — P. 637—645.
12. Skjot R., Oettinger T., Rosenkrands I. // Infect. and Immun. — 2000. — Vol. 68. — P. 214—222.
13. Elhay M., Oettinger T., Andersen P. // Infect. and Immun. — 1998. — Vol. 66. — P. 3454—3456.
14. Lee J., Choi H., Perk I. et al. // Eur. Respir. J. — 2006. — Vol. 28. — P. 24—30.
15. Ravn P., Munk M., Andersen A. et al. // Scand. J. Infect. Dis. — 2004. — Vol. 36. — P. 499—501.
16. Mori T., Sakatani M., Yamagishi F. et al. // Am. J. Respir. Crit. Care Med. — 2004. — Vol. 170. — P. 59—64.
17. Kang Y., Lee H., Yoon H. et al. // J. A. M. A. — 2005. — Vol. 293. — P. 2756—2761.
18. Chapman A., Munkanta M., Wilkinson K. et al. // AIDS. — 2002. — Vol. 16. — P. 2285—2293.
19. Meier T., Eulenbruch H., Wrighton-Smith P. et al. // Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. — 2005. — Vol. 24. — P. 529—536.
20. Aiken A., Hill P., Fox A. et al. // BMC Infect. Dis. — 2006. — Vol. 6. — P. 66.
21. Ferrara G., Losi A., D'Amico R. et al. // Lancet. — 2006. — Vol. 367. — P. 1329—1334.
22. Goletti D., Carrara S., Vincenti D. et al. // Clin. Microbiol. Infect. — 2006. — Vol. 12. — P. 544—550.
23. Menzies D., Pai M., Comstock G. // Ann. Intern. Med. — 2007. — Vol. 145. — P. 340—354.

Поступила 18.06.08