

УДК 579.873.21: 615.371(045)

СУЧАСНІ ПІДХОДИ ДО РОЗРОБКИ ВАКЦИНИ ПРОТИ ТУБЕРКУЛЬОЗУ

Слисесєва І.В., Бабич Є.М., Ждамарова Л.А.,
Колпак С.А., Бобирєва І.В.

ДУ «ІМІ мікробіології та імунології ім.
І.І.Мечникова АМН України»

Туберкульоз (ТВ) є глобальною проблемою: щорічно реєструється 9 млн. нових захворювань, а також – 2-3 мільйони смертей від цієї небезпечної інфекції. Інтерференція епідемії туберкульозу та ВІЛ-інфекції і швидке виникнення полірезистентних штамів ТВ є палицею для розвитку епідемії ТВ в останні роки. ТВ стає лідером серед факторів смерті у хворих на СНІД. Існуюча вакцина (M. bovis БЦЖ) лише частково ефективна в запобіганні легеневого ТВ, недостатньо ефективна для перешкодження дисемінованим формам захворювання, особливо в осіб з ознаками імунологічної недостатності. Використання слова «частковим» щодо ефекту БЦЖ засноване на його дуже мінливій ефективності в різних випробуваннях [1, 2]. В розвинутих країнах взагалі БЦЖ показала дуже високу і постійну ефективність, і на неї часто покладаються, щоб допомогти покінчити з епідеміями туберкульозу в Європі і Японії [3]. Навпаки, її ефект в країнах, що розвиваються, набагато менш постійний (в декотрих дослідженнях, вакцина не має вимірного ефекту на захворюваність туберкульозом взагалі). Причини цього можуть бути пов'язані насамперед з організацією випробування вакцини і з локальним оточуючим середовищем, ніж з вакциною як такою [2, 4].

Хоча БЦЖ дає значний захист, проте тільки на обмежений проміжок часу, і, до того ж, вона не є ефективною в населення, вже сенситизованого до мікобактеріальних антигенів (або попередньою БЦЖ вакцинацією, або латентною туберкульозною інфекцією) [5, 6]. Не виключено також, що контакт імунізованих БЦЖ вакциною осіб з циркулюючими в оточуючому середовищі штамми M.tuberculosis може підсилувати або якісно змінювати імунітет, створений за допомогою традиційної вакцини БЦЖ із штаму M.bovis. Нещодавні доклінічні і епідеміологічні дослідження показали, що певні генотипи Mucobacterium tuberculosis (в особливості штам лінії Beijing) можуть бути стійкими до індукованого вакциною Mucobacterium bovis БЦЖ протитуберкульозного протективного імунітету, однак зазначається, що все ж таки БЦЖ вакцинація захищає проти ТВ інфекції (як показано на моделі легеневого ТВ на мишах) різних штамів M. Tuberculosis, і штам-специфічна резистентність до БЦЖ-індукованого захисного імунітету не є загальним явищем [7].

Таким чином, якщо вакцина БЦЖ і ефективна для зменшення рівня дитячого туберкульозу, то при умові введення дітям, які не мають попереднього імунітету, що взаємодіє з вакцинацією. Післявак-

цинальний імунітет триває у кращому випадку від 10 до 20 років [8, 9, 10].

Отже неонатальна вакцинація має незначний вплив на рівень захворюваності на туберкульоз у дорослих [5, 11, 12], і для стримування глобальної епідемії ТВ невідкладно необхідні нові безпечні ефективні вакцини.

ВООЗ здійснює велику роботу з координації розробок по створенню нових протитуберкульозних вакцин. На рівні лабораторних випробувань знаходяться понад 200 варіантів вакцин, серед яких – цільно-клітинні (атенуйовані, векторні), субодиночні, ДНК-вакцини, тощо. Клінічні випробування в останні роки проходять шість вакцин [13]. Передбачається, що повсюдне використання нових вакцин буде здійснено не раніш 2015 року.

Сучасною парадигмою в методології конструювання ТВ вакцин є або заміна БЦЖ вакциною, яка дає довшу тривалість захисту (якщо БЦЖ вакцинація при народженні може дати лише короткостроковий імунітет), або створення вакцини, яка може бути введена у пізніший час для підсилення існуючого імунітету і забезпечення захисту в дорослих. Обидва підходи мають свої переваги і недоліки, і вакцини, котрі тепер проходять клінічні випробування, включають прихильників обох підходів.

Проте, одне важливе попередження призначення вакцини у пізні строки (відносно післяекспозиційної ТВ вакцинації – пізньої бустер стратегії) полягає в тому, що в регіонах високо ендемічних по туберкульозу така вакцинація в багатьох випадках буде проводитись вже латентно інфікованим Mucobacterium tuberculosis особам.

Вважається, що для таких осіб після імунізації високий ризик потенційної індукції небезпечних реакцій, подібних до реакції Коха, тому прогрес щодо оцінки ефективності після-експозиційної вакцинації обмежений [14]. Експерименти з імунізації дванадцятьма антигенними препаратами M. tuberculosis і вакцинами, проведені на мишах, інфікованих різними дозами ТВ, показали, що ризик виникнення подібних ускладнень невеликий, проте автори застерігають про необхідність крайньої обережності при переході від доклінічних випробувань до початкової фази клінічного тестування післяекспозиційних вакцин [14]. Тому є необхідним не лише створювати подібну до БЦЖ бустер-вакцину, але також і після-експозиційну вакцину – підхід, який несе свій власний набір проблем та викликів. З часом, можливо, що єдиним практичним виходом може стати змішаний підхід, який можна назвати як багатофазна вакцина, котру можна призначати безвідносно інфекційного статусу особи, і котра є активною і безпечною як для незараженої, так і для вже інфікованої особи [15].

Заміна БЦЖ буде не легким завданням; БЦЖ-вакцина є, можливо, найбільш використовуваною у світі вакциною, і всупереч її обмеженням, вона дешева і заслуговує на довіру. Неонатальна вакцинація БЦЖ, забезпечує значний захист проти більшості тяжких дитячих проявів захворювання,

таких як туберкульозний менінгіт. В Європі, де БЦЖ вакцинація об'єднана з кампаніями по виявленню та ізоляції дорослих хворих на туберкульоз у санаторії (або призначення нового курсу хіміотерапії для лікування), цього виявляється достатньо для швидкого зниження показників захворюваності. Однак у більшості країн світу, де туберкульоз залишається ендемічним, бракує ресурсів для виявлення і ізоляції або лікування нових випадків, і БЦЖ вакцинація сама по собі не в змозі знизити кількість випадків у дорослих. Таким чином, у гіперендемічних регіонах, таких як перенаселені халупи та міські нетрі, захворюваність настільки висока (у найгірших випадках досягає 1000 на 100 тис.), що більшість дорослих є постійно уразливими до інфекції [15]. В такому оточуючому середовищі будь-яка особа без міцного імунітету незабаром буде інфікована. Щоб попередити це лише вакцинацією потрібно стимулювати імунну відповідь, яка зберігається десятиріччями.

Залишається неясним, чи є це реалістичним завданням. Моделі на лабораторних тваринах (та поточні дослідницькі парадигми, що фінансуються) є погано відповідними для визначення ефективності вакцин через роки або навіть десятиріччя. Це означає, що найбільш часто перед випробуваннями на людях дослідники намагаються вийти за межі ефективності БЦЖ у короткотривалих експериментах, в сподіванні, що більш сильна первинна імунна відповідь також веде до довготривалої імунної пам'яті. У протилежність даним, зареєстрованим при випробуваннях на людях, БЦЖ взагалі забезпечує високі рівні захисту на моделях туберкульозу на тваринах (особливо на морських свинках), і хоча досягнутий значний прогрес у розробці дієвих субодичних вакцин, ще не існує повідомлень про їх ефективність, яка перевищує таку для БЦЖ у незаражених осіб [15]. Тому, при такому підході, вакцини, які б виявились настільки перспективними, щоб замінити БЦЖ, мають бути знайдені серед живих мікобактеріальних вакцин.

Першою з таких для введення в клінічну практику є вакцина rBCG30, котра нещодавно пройшла першу фазу клінічних випробувань [16]. Ця вакцина походить від вакцинного штаму БЦЖ, котрий було генетично модифіковано, щоб підсилити експресію імунодомінантного антигену Ag85B. Ідея цієї вакцини – покращити БЦЖ шляхом експресії вищих рівнів антигену, які вже було показано як протективні. Крім того, опираючись на спостереженні, що БЦЖ виявилася ефективною в ранніх зареєстрованих випробуваннях, але була гіршою – в пізніших дослідженнях [6, 12], було припущено, що «сучасні» штами БЦЖ були занадто атенуовані і втратили в значній мірі імуногенність завдяки безперервній втраті генів з вакцинного запасу [17]. Це може допомогти пояснити довгий період захисту, наданий БЦЖ, оснований на ре-аналізуванні ранніх кампаній вакцинації [18].

Хоча можна сперечатися щодо варіацій в ефективності, які можуть пояснюватись тим фактом,

що пізніші випробування були здійснені, у порівнянні з ранніми іспитами, при інших обставинах і на іншому населенні, гіпотезу «атенуації» підтримують дві лінії досліджень. Першою є вакцина rBCG30 як така: повідомлялось, що вона має безсумнівно покращену ефективність у порівнянні з вихідним вакцинним штамом [16]. Покращена ефективність rBCG30 виявилася дещо несподіваною, тому що БЦЖ має функціональний ген для Ag85B. Однак, недавня робота показала, що надекспресія генів може змінювати імунну відповідь на антигени, які вони кодуєть [19], нагадуючи нам, що всього лише присутність гену мало говорить нам про його експресію *in vivo*, і що ефекти такого гену можуть бути модульовані присутністю чи відсутністю інших генів.

Другою частиною підтримуючого свідчення є спостереження, що нові вакцини, основані на атенуації *Mycobacterium bovis* (батьківського штаму БЦЖ), є більш вірулентними і дають більшу протективну ефективність, ніж БЦЖ [20]. У доповнення, високо атенуовані мутанти *M. tuberculosis*, хоча і зберігають протективність у вакцинах, є менш вірулентними – і менш протективними – ніж БЦЖ [21]. Ці результати сумісні з розбіжностями щодо БЦЖ, яка стала «занадто атенуованою». Опоруючись на цій же самій концепції, повідомлено, що БЦЖ, в яку було введено RD1 локус (який дозволяє їй секретувати ESAT-6-CFP10 комплекс), є більш вірулентною, але також і більш протективною, ніж батьківський БЦЖ штам [22]. Цікаво, що цей вакцинний штам (названий BCG::RD1), як показано нещодавно, ініціює імунну відповідь, яка є якісно більш подібною до такової *M. tuberculosis*, ніж БЦЖ [23]. Це свідчить про те, що антигени, кодовані RD1 (і втрачені під час атенуації BCG), можуть значно модифікувати тип імунної відповіді, викликані мікобактеріальною вакциною, або певний рівень вірулентності (можливо більший, ніж у сучасних вакцинних штамів) є необхідним для оптимальної індукції сильної імунної відповіді живими вакцинами. До речі, ефективність є сумнівною, якщо такі гіпервірулентні вакцинні штами будуть мати профіль безпеки, необхідний для масової вакцинації, особливо в зонах високої захворюваності на вірус імунодефіциту людини [24].

Остання з похідних з БЦЖ вакцин, котра наблизилась до клінічного тестування, використовує інший і більш технічно складний підхід. rBCG::DureC-110+вакцина є уреаза-дефіцитним мутантом БЦЖ, котрий експресується геном лістеріолізіну O *Listeria monocytogenes*. Ці бактерії не здатні затримувати дозрівання фагосоми внаслідок відсутності уреази, і є менш вірулентними, ніж БЦЖ дикого типу в імунодефіцитних (гострий комбінований імунодефіцит) мишей. Це може робити вакцину більш безпечною для населення, в якого поширений вірус імунодефіциту людини (котрий, звичайно, тяжіє до регіонів з найвищим рівнем захворюваності на туберкульоз), і де БЦЖ вакцина може спричиняти поодинокі випадки дисемінованого БЦЖозу [25].

В доповнення, знижений рН у фагосомі, що зріє, забезпечує оптимальні умови для лістеріолізу, котрий, вважається, ушкоджує мембрану фагосоми, дозволяє проникнення рідини у цитозоль і потенційно підвищує кількість антигену бактеріального походження, придатного для презентації CD8 T-клітинами через шляхи цитозольного очищення, як описано раніше [26, 27].

Інші групи дослідників спробували розробити нові вакцини шляхом атенуації *M. tuberculosis* замість експресії підсилення гену в БЦЖ, виходячи з того, що це дасть найкращу стимуляцію природного імунітету, який створюється після інфекції *M. tuberculosis*. Однак *M. tuberculosis* чудово пристосована до уникнення ерадикації імунною системою; навіть вилікована інфекція *M. tuberculosis* не обов'язково дає довготривалий захист [28]. Слід зауважити, що захист, індукований вилікуваною інфекцією *M. tuberculosis* (моделі на тваринах) не завжди перевищує імунітет після вакцинації БЦЖ незараженого реципієнта [29]. Однак у стані розробки знаходяться принаймні дві ТВ вакцини, основані на атенуванні *M. tuberculosis*. Одним з найбільш спірних питань чи потребує зусиль подібна стратегія є ризик, що вакцинний штаб, оснований на *M. tuberculosis*, може реверсувати до вірулентної форми, і обов'язково постає питання наскільки багато атенуації є достатньою [30].

Кращий підхід – створити мутації двох ключових генів, щоб зменшити потенціал для реверсії до вірулентної форми. Одна така вакцина, розроблена у Госпіталі Альберта Ейнштейна у Нью-Йорці, PanD–Leu–auxotroph of *M. tuberculosis* [21, 31], продемонструвала і безпечність на імунодефіцитних scid мишах, і протективну ефективність на інфекційній моделі у високо сприйнятливих морських свинок. Мутант $\Delta\rho\text{H}\rho\text{P/R}$, у якому $\rho\text{H}\rho\text{P}$ фактор вірулентності інактивованій шляхом вставки гену антибіотику, є другою вакциною, яка виглядає багатобічною на тваринних моделях [32]. Надія полягає в тому, що ці вакцини індукують кращі, можливо триваліші імунні відповіді, ніж БЦЖ, але з можливістю бустер-ревакцинації у пізніший строк, якщо необхідно. Однак, якщо ревакцинація є необхідною, ці вакцини малоімовірно будуть успішними у такій ролі.

Подібно до БЦЖ, всі ці вакцини передбачаються для імунологічно інтактних реципієнтів (власне кажучи, що обмежує їх застосування новонародженим у країнах, що розвиваються). Бустер БЦЖ створений імунітет після другої дози БЦЖ в пізніший строк багаторазово демонстрував відсутність будь-якого добродійного ефекту [33]. Ця невдача збігається з результатами на тваринах, котрі показали, що БЦЖ (і тому можливо будь-яка мікобактеріальна жива вакцина) потребує періоду розмноження і дисемінації в організмі хазяїна, щоб стимулювати захисну імунну відповідь. Якщо цей процес блокувати хіміотерапією незабаром після вакцинації, то протективний ефект вакцинації анулюється [34, 35]. Існуюча імунна відповідь (будь-то завдяки по-

передній БЦЖ вакцинації або перехресним імунним відповідям після контакту з іншими мікобактеріями з оточуючого середовища), виявляється, має той же самий ефект, який веде до швидкого очищення від БЦЖ [36, 37, 38]. Це можна пояснити і продемонстрованим ефектом БЦЖ вакцинації у новонароджених, і в дорослого населення, де було виключено осіб зі шкірно-позитивним тестом [12], і його невдачею в випробуваннях, до яких було включено мікобактеріально сенситизованих дорослих осіб. Якщо, як очікувалось, нові мікобактеріальні вакцини не в змозі стимулювати довготривалий імунітет, неонатальна вакцинація може потребувати підсилення немікобактеріальними вакцинами, так званими бустер-вакцинами [15].

У протилежність до вакцин, сконструйованих для заміни БЦЖ, пізні бустер-вакцини націлені на одержання вигоди широкого використання БЦЖ шляхом бустер-імунізації в молоді вже первинно ґрунтованої шляхом ранньої вакцинації в дитинстві. Приблизно 3 мільярди населення, половина населення світу, одержали БЦЖ [39], і більшість з них мешкає в регіонах, де ТВ є ендемічним захворюванням. Навіть якщо протективний ефект нових вакцин триває не довше, чим індукований БЦЖ, він все ще значно зменшує кількість нових випадків ТВ шляхом зменшення захворюваності на піковому віці для ТВ (від 25 до 35 років). Діхотомія «ґрунтування/бустер» дещо уводить в оману. Навіть в регіонах, де БЦЖ вакцинація є плановою, не кожна особа буде вакцинована БЦЖ, і не кожний вакцинований буде мати ефективну імунологічну пам'ять. Таким чином, бустер-вакцини будуть потребувати також здатності стимулювати і ефективні первинні відповіді. Але вимоги дещо відмінні від таких щодо вакцин, призначених замінити або конкурувати з БЦЖ для неонатальної вакцинації.

Вакцина, призначена замінити БЦЖ, щоб серйозно розглядатися, повинна продемонструвати кращу за БЦЖ ефективність, тоді як бустер-вакцини часто є не більш ефективними, ніж БЦЖ під час генерування первинних імунних відповідей [40, 41, 42]. Але вони мають додаткову умову – бути ефективними як в сенситизованих, так і в інтактних реципієнтів, критерій, котрого БЦЖ напрочуд не дає. Більш того, при конструюванні вакцин для ТВ-ендемічних регіонів з високою перевагою латентного ТВ, потрібно мати на увазі їх потенційну активність у вже інфікованих осіб (після-експозиційні вакцини). Це може потребувати включення цілком відмінного набору генних продуктів, націлених на гени, які можуть регулюватися мікобактеріями у відповідь на довготривалу експозицію у антагоністичному середовищі активованого макрофага.

Різноманітні живі вакцини створювалися як бустер-вакцини, в тому числі рекомбінантна аденовірусна вакцина і рекомбінантний штаб *Shigella*, сконструйовані як система-носії для ДНК вакцини [43, 44]. Ці вакцини все ще в стадії розробки, і не ясно, коли вони будуть готові для клінічних випробувань. Однак одна жива бустер-вакцина зараз зна-

ходить у клінічному випробовуванні [45]. Йдеться про MVA-85A, де рекомбінантний, реплікаційно-дефіцитний вакцинний вірус експресує сильно імуногенний антиген 85A *M. tuberculosis* [46]. Вакцина добре досліджена на тваринних моделях, і зараз дані з перших клінічних іспитів показують, що вона імуногенна і вочевидь безпечна для людини [45, 46].

Також серед першої хвилі нових ТВ вакцин, що проходять клінічні іспити є продукти, основані на рекомбінантних протеїнах. В минулому, рекомбінантні білкові вакцини були не дуже успішні у стимуляції сильної Th1 відповіді завдяки нестачі адекватного ад'юванту для генерування сильних клітинно-опосередкованих імунних відповідей у людини без виникнення неприйнятних побічних ефектів [47, 48]. Впродовж багатьох років єдиним ад'ювантом, санкціонованим для людини, були гідроксид та фосфат алюмінію, ефективні для вакцин, що генерують гуморальний імунітет (дифтерійна, правцева, гепатитна В вакцини). Дійсно, оскільки цей ад'ювант впливав на імунну відповідь в напрямку пулу Th2 [49], було показано зниження захисту, викликане вакцинацією проти *M. tuberculosis* [48]. Нещодавно для використання для людських вакцин був санкціонований ад'ювант MF59, але він був обмежений для тих профілактичних препаратів, де ключовим є генерування гуморальної відповіді, таких як грип [50].

Зараз до клініки надходять нові ад'юванти, і деякі з них продукують сильні Th1 відповіді, що робить їх гарними кандидатами для вакцин проти *M. tuberculosis*. Ці нові вакцини зобов'язані своїм успіхом на тваринних моделях покращеному розумінню активації імунної системи у відповідь на збережені молекули патогенів [51-56], побудовані навкруги бактеріальних ліпідів, бактеріальних токсинів або аналогів цих молекул. В деяких випадках (монофосфорил ліпід А, наприклад) рецептори відомі і є частиною родини Toll-подібних рецепторів. Іншими словами, ми починаємо використовувати деякі з техник, що використовує *M. tuberculosis*, щоб маніпулювати імунними відповідями. Ми можемо очікувати побачити більше вакцин, які використовуватимуть цей підхід в майбутньому, тому що обидва рекомбінантні антигени і ад'юванти можуть бути легко синтезованими за великою шкалою, при використанні у вакцинному виробництві.

Першою з цих субодиничних вакцин, що увійшли до клінічних іспитів, є вакцина 72f, розроблена Corixa і GSK разом [41]. Ця вакцина є зрощеною молекулою, що складається з двох протеїнів, з PPE родинним членом Rv1196, вставленим у середину вірогідно серін-протеазою Rv0125, котра є представленою, таким чином, двома фрагментами. Використаний ад'ювант містить сапонін похідний QS21, змішаний з TLR4 ліганд монофосфорил ліпідом А [41]. В доповнення щодо його активності для праймування, ця вакцина продемонструвала також БЦЖ бустер ефект [57]. Другий рекомбінантний протеїн, хоча одержаний незалежно Statens Serum Institute, є дуже подібним за своєю філософією роз-

робки. Це зрощена молекула, що складається з двох імунодомінант, декретованих білків з *M. tuberculosis* (ESAT-6 і Ag85B) і має доведену на тваринних моделях високу ефективність, ранжовану від мишей до приматів, фактично більш ефективну, ніж одиничні антигени [40, 58, 59]. Вакцини мають також доведену ефективність як бустер для БЦЖ і підсилюють її ефективність навіть хоча ESAT-6 компонент вакцини не представлений у БЦЖ (неопубліковані авторські дані) [15].

Ag85B-ESAT-6 зрощений протеїн випробовувалися двома клінічними іспитами у 2005-2006 роках. Перший з них тестував вакцину в традиційній парентеральній стратегії вакцинації, котра використовує суміш олігодеоксинуклеотидів і полікатіонних амінокислот як ад'ювантів [54]. Другий тест, який проводився паралельно, тестував той самий антиген при перназальному застосуванні, використовуючи LTK63, модифікований, термолабільний ентеротоксин з *Escherichia coli* в якості ад'юванту [55]. ESAT-6 застосовується також як діагностичний засіб виявлення клітинно-опосередкованих імунних відповідей, котрі специфічно сигналізують про присутність активної інфекції [60- 63]. Нові зрощені молекули, які не містять ESAT-6, є предметом поточного дослідження і цікаво, чи єдиний антиген знайдений таким чином, котрий може бути здатним замінити ESAT-6, також є членом тієї ж невеликої родини генів, але, у протилежність до ESAT-6, він представлений у БЦЖ [54, 55, 64, 65].

Деяким чином ці дві рекомбінантні вакцини можуть розглядатися як *M. tuberculosis* в мініатюрі – вони містять два імунодомінантні антигени і використовують в якості ад'юванта модифіковані молекули, що походять від патогенів людини, котрі стимулюють Th1 відповіді. Такий мінімалістський підхід пропонує певні переваги. Шляхом вибору обмеженого числа ретельно тестованих імунодомінантних антигенів, ми згенеруємо сильну захисну відповідь, уникаючи можливості індукування небажаної модуляції відповіді або презентації антигену. Шляхом використання молекул ад'юванту (дещо модифікованих, щоб зменшити їх токсичність), які походять від людських патогенів, викликано саме той тип запальної відповіді, яким у нормі організм відповідає на бактеріальну інфекцію.

Всі вищеописані вакцини є профілактичними препаратами, які мають уводитися ще до інфікування *M. tuberculosis* і, тим більше, до виникнення захворювання. Не ясно, чи будуть вони ефективними, або навіть безпечними, якщо будуть уведені вже інфікованим *M. tuberculosis* особам. Для бустер-вакцин це є серйозним підходом; у ТВ-ендемичних регіонах, до цільового населення, як можна очікувати, будуть включені багато латентно інфікованих осіб. Небагато з доступних даних з експериментів на тваринах не дозволяють вважати, що провідні вакцини-кандидати індукують в інфікованих реципієнтів ефект подібний до феномену Коха, та навіть вважати ці вакцини ефективними проти латентної фази захворювання (неопубліковані авторські дані)

[66]. Вірогідно, що імунпрофілактика мільйонів населення, які потенційно латентно інфіковані *M. tuberculosis*, потребує комбінованої стратегії, яка використовує мультифазну вакцину, ефективну проти гострої та латентної інфекції. Гостра фаза інфекції *M. tuberculosis* характеризується швидким бактеріальним ростом і розвитком імунної відповіді, спрямованої на бактеріальні антигени, активно секретовані в першій ростовій фазі, такі як ESAT-6 [67]. Вакцини, розроблені на цей час проти цих гостро-фазних антигенів, можуть зменшувати гостроту початкової бактеріємії і захворювання, але вони не запобігають укоріненню інфекції [40, 58]. Однак, оскільки *M. tuberculosis* пристосована до гіпоксичного і ворожого середовища макрофагів хазяїна, вона, як показано, піддається істотній зміні у генній транскрипції, характерній, вважається, для латентного існування [68, 69], і ця зміна в експресії генів може надати патогену можливість персистувати в оточенні сильних відповідей імунної пам'яті. Ця латентна стадія інфекції є звичайно асоційованою з виживанням декотрих бактерій у так званому «сплячому стані» з низькою або зміненою метаболічною активністю [15].

Вирощена *in vitro* в умовах, що імітують ті, що, вважається, мають існувати *in vivo*, *M. tuberculosis* пристосовується спеціальними наборами генів, що частково перекриваються [70-72]. Підвищена експресія генів, таких як HspX (так званий α -кристалін, Rv2031c, тощо) впродовж стаціонарної фази росту [72] виявляється критичною для виживання мікроорганізму [73]. В узгодженні з цими спостереженнями *in vitro* продемонстровано, що транскрипція ряду генів регулюється зі зниженням, тоді як інші регулюються в інфікованих тварин строго з підвищенням після ініціації сильної імунної відповіді [74]. Разом з надлишком регуляторних протеїнів у геномі *M. tuberculosis* [75], це показує важливість здатності патогену адаптуватися впродовж інфекції до різних умов середовища. Ця регуляторна пластичність може лежати в основі його здатності переключатися поміж гострим прогресуючим захворюванням і довготривалою латентною інфекцією.

На додаток до вищеописаних експериментальних даних, розпочинаються дослідження на людях, щоб одержати доказ в підтримку гіпотези, що імунні відповіді у здорових, але латентно інфікованих осіб націлені на інші антигени, ніж відповідь на гостру інфекцію [60, 62]. Сподіваються, що вакцинація іншими антигенами, такими як HspX, ідентифікованими *in vitro* методами, описаними вище, може сприяти імунній відповіді, котра буде допомагати запобіганню реактивації захворювання. Існує доказ, що подібний підхід може дійсно працювати. Lowrie із співавторами з успіхом використали HSP65-based DNA вакцину в латентно інфікованих мишей [76], але ці дані дещо дискусійні [77] і підкреслюють необхідність подальших досліджень в цій сфері, в особливості, необхідність суворо обґрунтованих тваринних моделей.

Сферою, яка викликає подібний інтерес, є «активуючий оживлення фактор» (“resuscitation-promoting factor”) або *prf* гени. *Micrococcus luteus* експресує *prf* ген, продукт якого потрібен, щоб оживити ріст сплячої культури *Micrococcus luteus*, і який є істотним для росту цього організму. Нещодавно продемонстровано, що *M. tuberculosis* має, щонайменше, п'ять *prf* гомологів, що знову наводять на думку про важливість латентності і оживлення для виживання *M. Tuberculosis* [78, 79]. Припускаючи, що вони є суттєвими для повернення зі сплячого стану і є імуногенними, декретованими антигенами, вони можуть бути спокусливими мішенями для вакцинації [80]. Область після-експозиційної вакцинації зараз інтенсивно досліджується, і хоча вакцина ще в майбутньому, пропонується ідея мультифазної вакцини, котра індукує і відповіді проти антигенів гострої фази, забезпечуючи таким чином захист, якщо реципієнт буде надалі інфікованим, і проти антигенів, пов'язаних з латентним станом, так що захворювання знаходиться в ремісії навіть якщо реципієнт вакцини вже інфікований [15].

ТВ-вакцини зараз лише надходять до клініки, проте шлях тестування вже добре прокладений: ризик індукування тяжкої реакції у вже інфікованих осіб і високий рівень співпадіння ТВ і вірусу імунодефіциту людини у багатьох регіонах означає, що вакцини вперше тестовані на безпечність і імуногенність в імунологічно інтактних осіб (ні вакцинованих БЦЖ, ні шкірно-позитивних) ще до переходу до вірус-позитивного імунодефіциту людини і латентно ТВ-інфікованих осіб. Паралельно з цим, бустер-вакцини будуть потребувати тестування у вже БЦЖ-вакцинованих суб'єктів, щоб побачити можливе підсилення імунних відповідей. Перша з нових бустер-вакцин кандидатів вступила до цієї фази у 2005 році. Вона вже пройшла екстенсивне тестування на тваринних моделях, приматах включно, отже виникнення проблем безпечності малоімовірно [15].

Залишаються два великих бар'єри для нових вакцин. Першим є питання ефективності. Давні іспити ТВ-вакцини, основані на визначенні ефективності БЦЖ, використовували простий клінічний кінцевий пункт: як багато випадків ТВ в групі вакцинованих цією вакциною у порівнянні з групами, вакцинованими плацебо або не вакцинованими. ТВ розвивається поступово, і навіть у регіонах з високою захворюваністю, показник захворюваності набагато менший за 1 %. Це означає, що для одержання надійних даних, вивчення ефективності має тривати десятиріччя і охоплювати дуже велику кількість учасників (типово понад 100 000) [81]. Це коштовний захід, не привабливий ні для виробників вакцини, ані для системи охорони здоров'я, яка має справу з мільйонами випадків щорічно. Праймінгові вакцини, такі як рекомбінантна БЦЖ і атенуйована *M. tuberculosis*, повинні, як обговорювалось вище, використовуватися в імунологічно інтактного населення, так що кінцевий їх ефект щодо легеневого ТВ дорослих буде визначатися лише через десятиріччя.

Швидшим шляхом визначення їх ефективності буде розглянути вплив на ТВ у дітей в порівнянні зі стандартною БЦЖ вакцинацією. Хоча таке дослідження необхідно буде широким, його можливо завершити в декілька років, і на початку це є більш прийнятним напрямком. Бустер-вакцини мають коротший строк поміж вакцинацією і піковим віком для захворюваності ТВ дорослих, оскільки вони вірогідно вводяться молоді у підлітковому періоді. Однак, це означає ще очікування приблизно десятиріччя до більш ясного визначення можливого ефекту. Таким чином, пізні бустер-вакцини, просто щоб продемонструвати, що вони ефективні для людей, можуть бути вперше тестовані проти педіатричного ТВ.

Недавній прогрес в сфері діагностики ТВ може виявитися дуже важливим засобом у майбутніх клінічних випробуваннях. Число інфекції *M. tuberculosis* є набагато більшим, ніж кількість клінічних випадків, і недавнє покращення у діагностичних засобах, основане на визначенні імунних відповідей на фактори вірулентності *M. tuberculosis* (такі як ESAT-6, котрі не є експресованими в БЦЖ або в більшості мікобактерій оточуючого середовища), виявилось перспективним для діагностики субклінічного і латентного ТВ [60, 82-84, 62, 63]. Останні дані вказують, що величина ESAT-6 відповіді може відображати тяжкість інфекції [85, 86] і може прогнозувати пізніше захворювання [60], так що визначення рівня початкового захворювання (і високої ESAT-6 реактивності) краще, ніж рівень подальшого захворювання може пропонувати можливість набагато скорішої оцінки ефективності вакцини і можливості використовувати набагато менші групи населення. Проте цей підхід, до використання, потребує валідації, і такі дослідження вже проводяться.

Друге питання полягає в тому, який ефект навіть покращена вакцина буде мати на захворюваність ТВ, зважаючи на існування широкого резервуару латентного ТВ. Математичне моделювання прогнозує, що після-експозиційна вакцина ефективна для попередження захворювання в латентно інфікованих осіб буде викликати значне зниження в кількості нових випадків в короткий строк, але через час пре-експозиційна вакцина буде мати більш значний ефект [87]. Тому ідеальним підходом буде єдина мультифазна вакцина, котра буде ефективною і проти гострої, і проти латентної інфекції, але в поточний час такої вакцини не існує. Таким чином, хоча в останньому десятиріччі в розробці ТВ вакцини пройдений довгий шлях, ще існують значні пробіли в знаннях, які мають заповнитися до того, як ми зможемо дійсно контролювати *M. tuberculosis* через нову стратегію вакцинації.

Список літератури

1. Fine, P. E. Vaccines, genes and trials. [Text] / P. E. Fine // Novartis Found Symp. 1998. – 217:57-69; discussion 69-72. [PubMed]

2. Fine, P. E. Variation in protection by BCG: implications of and for heterologous immunity [Text] / P. E. Fine // Lancet, 1995. – 346:1339-1345. [PubMed]
3. Hart, P. D. Efficacy and applicability of mass BCG vaccination in tuberculosis control [Text] / P. D. Hart // Br. Med. J., 1967. – 1:587-592. [PubMed]
4. Wilson, M. E. Geographic latitude and the efficacy of bacillus Calmette-Guerin vaccine [Text] / M. E. Wilson, H. V. Fineberg, G. A. Colditz // Clin. Infect. Dis., 1995. – 20:982-991. [PubMed]
5. Brewer, T. F. Preventing tuberculosis with bacillus Calmette-Guerin vaccine: a meta-analysis of the literature [Text] / T. F. Brewer // Clin. Infect. Dis., 2000. – 31(Suppl. 3):S64-67. [PubMed]
6. Colditz, G. A. Efficacy of BCG vaccine in the prevention of tuberculosis [Text] / G. A. Colditz, T. F. Brewer, C. S. Berkey, M. E. Wilson, E. Burdick, H. V. Fineberg, F. Mosteller // Meta-analysis of the published literature. JAMA, 1994. – 271:698-702. [PubMed]
7. Jeon, B.Y. Mycobacterium bovis BCG immunization induces protective immunity against nine different Mycobacterium tuberculosis strains in mice [Text] / S.C. Derrick, J. Lim, K. Kolibab, V. Dheenadhayalan, A.L. Yang, B. Kreiswirth, S.L. Morris // Infect Immun., 2008. – Nov;76(11):5173-80. Epub 2008 Aug 18. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18710860>
8. Comstock, G. W. Tuberculosis studies in Muscogee County, Georgia. Twenty-year evaluation of a community trial of BCG vaccination. [Text] / G. W. Comstock, S. F. Woolpert, V. T. Livesay. // Public Health Rep., 1976. – 91:276-280. [PubMed]
9. Hart, P. D. BCG and vole bacillus vaccines in the prevention of tuberculosis in adolescence and early adult life [Text] / P. D. Hart, I. Sutherland. // Br Med. J., 1977. – 2:293-295. [PubMed]
10. Sterne, J. A. Does the efficacy of BCG decline with time since vaccination? [Text] / J. A. Sterne, L. C. Rodrigues, I. N. Guedes. // Int. J. Tuberc. Lung Dis., 1998. 2:200-207. [PubMed]
11. Fifteen year follow up of trial of BCG vaccines in south India for tuberculosis prevention. [Електронний ресурс] / Anonymous // Indian J. Med. Res., 1999. – 110:56-69. [PubMed]
12. Colditz, G. A. The efficacy of bacillus Calmette-Guerin vaccination of newborns and infants in the prevention of tuberculosis: meta-analyses of the published literature [Text] / G. A. Colditz, C. S. Berkey, F. Mosteller, T. F. Brewer, M. E. Wilson, E. Burdick, H. V. Fineberg. // Pediatrics, 1995. – 96:29-35. [PubMed]
13. Kerr, C. M. Six New TB Vaccines in Clinical Trials [Text] / M. Kerr // Ninth Annual Conference for Vaccine Research: Abstracts 3, 4, 5. Presented May 8, 2005. Medscape Medical News, 2006 PMID: 18809446 [PubMed - indexed for MEDLINE]
14. Derrick, S.C. The safety of post-exposure vaccination of mice infected with Mycobacterium tuberculosis [Text] / S.C.Derrick, L.P.Perera, V.Dheenadhayalan, A.Yang, K.Kolibab, S.L.Morris // Vaccine. 2008. – Nov 11;26(48):6092-8. Epub 2008 Sep 20. – Режим доступу до статті: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18809446>

15. Doherty, T. M. Vaccines for Tuberculosis: Novel Concepts and Recent Progress [Text] / T. M. Doherty, P. Andersen // *Clin Microbiol Rev.* 2005. – October; 18(4): 687–702. doi: 10.1128/CMR.18.4.687-702.2005. PMC-ID: PMC1265910
16. Horwitz, M. A. A new vaccine against tuberculosis affords greater survival after challenge than the current vaccine in the guinea pig model of pulmonary tuberculosis. [Text] / M. A. Horwitz, G. Harth // *Infect. Immun.*, 2003. – 71:1672-1679. [PubMed]
17. Behr, M. A. Correlation between BCG genomics and protective efficacy [Text] / M. A. Behr // *Scand. J. Infect. Dis.* 2001. – 33:249-252. [PubMed]
18. Aronson, N. E. Long-term efficacy of BCG vaccine in American Indians and Alaska Natives: A 60-year follow-up study. [Text] / N. E. Aronson, M. Santosham, G. W. Comstock, R. S. Howard, L. H. Moulton, E. R. Rhoades, L. H. Harrison // *JAMA*, 2004. – 291:2086-2091. [PubMed]
19. Rao, V. Modulation of host immune responses by overexpression of immunodominant antigens of *Mycobacterium tuberculosis* in bacille Calmette-Guerin. [Text] / V. Rao, N. Dhar, A. K. Tyagi // *Scand. J. Immunol.*, 2003. – 58:449-461. [PubMed]
20. de Lisle, G. W. The efficacy of live tuberculosis vaccines after presensitization with *Mycobacterium avium*. [Text] / G. W. de Lisle, B. J. Wards, B. M. Buddle, D. M. Collins. // *Tuberculosis (Edinburgh)*, 2005. – 85:73-79.
21. Sambandamurthy, V. K. Long-term protection against tuberculosis following vaccination with a severely attenuated double lysine and pantothenate auxotroph of *Mycobacterium tuberculosis* [Text] / V. K. Sambandamurthy, S. C. Derrick, K. V. Jalapathy, B. Chen, R. G. Russell, S. L. Morris, W. R. Jacobs, // *Jr. Infect. Immun.*, 2005. –73:1196-1203. [PubMed]
22. Pym, A. S. Recombinant BCG exporting ESAT-6 confers enhanced protection against tuberculosis. [Text] / A. S. Pym, P. Brodin, L. Majlessi, R. Brosch, C. Demangel, A. Williams, K. E. Griffiths, G. Marchal, C. Leclerc, S. T. Cole. // *Nat. Med.*, 2003. –9:533-539. [PubMed]
23. Majlessi, L. Influence of ESAT-6 secretion system 1 (RD1) of *Mycobacterium tuberculosis* on the interaction between mycobacteria and the host immune system. [Text] / L. Majlessi, P. Brodin, R. Brosch, M. J. Rojas, H. Khun, M. Huerre, S. T. Cole, C. Leclerc. // *J. Immunol.*, 2005. –174:3570-3579. [PubMed]
24. Kamath, A. T. New live mycobacterial vaccines: the Geneva consensus on essential steps towards clinical development. [Text] / A. T. Kamath, U. Fruth, M. J. Brennan, R. Dobbelaer, P. Hubrechts, M. M. Ho, R. E. Mayner, J. Thole, K. B. Walker, M. Liu, P. H. Lambert // *Vaccine*, 2005. –23:3753-3761. [PubMed]
25. Campos, J. M. Disseminated *Bacillus Calmette-Guerin* infection in HIV-infected children: case report and review [Text] / J. M. Campos, J. P. Simonetti, M. V. Pone, L. A. Carvalho, A. C. Pereira, J. R. Garrido // *Pediatr. AIDS HIV Infect.*, 1996. –7:429-432. [PubMed]
26. Conradt, P. Cytolytic T-cell responses to human dendritic cells and macrophages infected with *Mycobacterium bovis* BCG and recombinant BCG secreting listeriolysin [Text] / P. Conradt, J. Hess, S. H. Kaufmann // *Microbes Infect.*, 1999. – 1:753-764. [PubMed]
27. Grode, L. Cell-mediated immunity induced by recombinant *Mycobacterium bovis* Bacille Calmette-Guerin strains against an intracellular bacterial pathogen: importance of antigen secretion or membrane-targeted antigen display as lipoprotein for vaccine efficacy [Text] / L. Grode, M. Kursar, J. Fensterle, S. H. Kaufmann, J. Hess // *J. Immunol.*, 2002. – 168:1869-1876. [PubMed]
28. de Boer, A. S. Recurrent tuberculosis due to exogenous reinfection [Text] / A. S. de Boer, D. van Soelingen // *N. Engl. J. Med.*, 2000. – 342:1050-1051.
29. Mollenkopf, H. J. Immune response to postprimary tuberculosis in mice: *Mycobacterium tuberculosis* and *Mycobacterium bovis* bacille Calmette-Guerin induce equal protection [Text] / H. J. Mollenkopf, M. Kursar, S. H. Kaufmann // *J. Infect. Dis.*, 2004. – 190:588-597. [PubMed]
30. Brown, N. Reduced local growth and spread but preserved pathogenicity of a Δ purC *Mycobacterium tuberculosis* auxotrophic mutant in gamma interferon receptor-deficient mice after aerosol infection [Text] / N. Brown, M. Jacobs, S. K. Parida, T. Botha, A. Santos, L. Fick, B. Gicquel, M. Jackson, V. Quesniaux, B. Ryffel // *Infect. Immun.*, 2005. – 73:666-670. [PubMed]
31. Sampson, S. L. Protection elicited by a double leucine and pantothenate auxotroph of *Mycobacterium tuberculosis* in guinea pigs [Text] / S. L. Sampson, C. C. Dascher, V. K. Sambandamurthy, R. G. Russell, W. R. Jacobs, Jr., B. R. Bloom, M. K. Hondalus // *Infect. Immun.*, 2004. – 72:3031-3037. [PubMed]
32. Raynaud, C. Phospholipases C are involved in the virulence of *Mycobacterium tuberculosis* [Text] / C. Raynaud, C. Guilhot, J. Rauzier, Y. Bordat, V. Pelicic, R. Manganelli, I. Smith, B. Gicquel, M. Jackson // *Mol. Microbiol.*, 2002. – 45:203-217. [PubMed]
33. Leung, C. C. Efficacy of the BCG revaccination programme in a cohort given BCG vaccination at birth in Hong Kong [Text] / C. C. Leung, C. M. Tam, S. L. Chan, M. Chan-Yeung, C. K. Chan, K. C. Chang // *Int J. Tuberc. Lung Dis.*, 2001. – 5:717-723. [PubMed]
34. Francis, J. Natural and experimental tuberculosis in monkeys; with observations on immunization and chemotherapy [Text] / J. Francis // *J. Comp. Pathol.*, 1956. – 66:123-135. [PubMed]
35. Siebenmann, C. O. Effect of BCG vaccination and chemotherapy on experimental tuberculosis in mice [Text] / C. O. Siebenmann // *J. Immunol.*, 1951. – 67:137-149. [PubMed]
36. Brandt, L. Failure of the *Mycobacterium bovis* BCG vaccine: some species of environmental mycobacteria block multiplication of BCG and induction of protective immunity to tuberculosis [Text] / L. Brandt, J. Feino Cunha, A. Weinreich Olsen, B. Chilima, P. Hirsch, R. Appelberg, P. Andersen // *Infect. Immun.*, 2002. – 70:672-678. [PubMed]

37. Buddle, B. M. Influence of sensitisation to environmental mycobacteria on subsequent vaccination against bovine tuberculosis [Text] / B. M. Buddle, B. J. Wards, F. E. Aldwell, D. M. Collins, G. W. de Lisle // *Vaccine*, 2002. – 20:1126-1133. [PubMed]
38. Lozes, E. Cross-reactive immune responses against *Mycobacterium bovis* BCG in mice infected with non-tuberculous mycobacteria belonging to the MAIS-Group [Text] / E. Lozes, O. Denis, A. Drowart, F. Jurion, K. Palfliet, A. Vanonckelen, J. De Bruyn, M. De Cock, J. P. Van Vooren, K. Huygen // *Scand. J. Immunol.*, 1997. – 46:16-26. [PubMed]
39. Smith, P. G. BCG vaccination [Text] / P. Smith // In P. D. O. Davies (ed.), *Clinical tuberculosis*, 1st ed. Chapman and Hall Medical, London, England, 1994. – P. 297-310.
40. Doherty, T. M. Comparative analysis of different vaccine constructs expressing defined antigens from *Mycobacterium tuberculosis* [Text] / T. M. Doherty, A. W. Olsen, J. Weischenfeldt, K. Huygen, S. D'Souza, T. K. Kondratieva, V. V. Yeremeev, A. S. Apt, B. Raupach, L. Grode, S. H. E. Kaufmann, P. Andersen // *J. Infect. Dis.*, 2004. – Dec 15;190(12):2146-53. Epub 2004 Nov 8. [PubMed] Режим доступу до статті: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15551213>
41. Skeiky, Y. A. Differential immune responses and protective efficacy induced by components of a tuberculosis polyprotein vaccine, Mtb72F, delivered as naked DNA or recombinant protein [Text] / Y. A. Skeiky, M. R. Alderson, P. J. Owendale, J. A. Guderian, L. Brandt, D. C. Dillon, A. Campos-Neto, Y. Lobet, W. Dalemans, I. M. Orme, S. G. Reed // *J. Immunol.*, 2004. – 172:7618-7628. [PubMed]
42. Williams, A. Evaluation of vaccines in the EU TB Vaccine Cluster using a guinea pig aerosol infection model of tuberculosis [Text] / A. Williams, G. J. Hatch, S. O. Clark, K. E. Gooch, K. A. Hatch, G. A. Hall, K. Huygen, T. H. Ottenhoff, K. L. Franken, P. Andersen, T. M. Doherty, S. H. Kaufmann, L. Grode, P. Seiler, C. Martin, B. Gicquel, S. T. Cole, P. Brodin, A. S. Pym, W. Dalemans, J. Cohen, Y. Lobet, N. Goonetilleke, H. McShane, A. Hill, T. Parish, D. Smith, N. G. Stoker, D. B. Lowrie, G. Kallenius, S. Svenson, A. Pawlowski, K. Blake, P. D. Marsh // *Tuberculosis (Edinburgh)*, 2005. – 85:29-38.
43. Vogels, R. Replication-deficient human adenovirus type 35 vectors for gene transfer and vaccination: efficient human cell infection and bypass of preexisting adenovirus immunity [Text] / R. Vogels, D. Zuijdgheest, R. van Rijnsoever, E. Hartkoorn, I. Damen, M. P. de Bethune, S. Kostense, G. Penders, N. Helmus, W. Koudstaal, M. Cecchini, A. Wetterwald, M. Sprangers, A. Lemckert, O. Ophorst, B. Koel, M. van Meerendonk, P. Quax, L. Panitti, J. Grimbergen, A. Bout, J. Goudsmit, M. Havenga // *J. Virol.*, 2003. – 77:8263-8271. [PubMed]
44. Fouts, T. R. Progress toward the development of a bacterial vaccine vector that induces high-titer long-lived broadly neutralizing antibodies against HIV-1. *FEMS Immunol. [Text]* / T. R. Fouts, A. L. DeVico, D. Y. Onyabe, M. T. Shata, K. C. Bagley, G. K. Lewis, D. M. Hone // *Med. Microbiol.*, 2003. – 37:129-134. [PubMed]
45. McShane, H. Recombinant modified vaccinia virus Ankara expressing antigen 85A boosts BCG-primed and naturally acquired antimycobacterial immunity in humans [Text] / H. McShane, A. A. Pathan, C. R. Sander, S. M. Keating, S. C. Gilbert, K. Huygen, H. A. Fletcher, A. V. Hill // *Nat. Med.*, 2004.10:1240-1244. [PubMed]
46. Goonetilleke, N. P. Enhanced immunogenicity and protective efficacy against *Mycobacterium tuberculosis* of bacille Calmette-Guerin vaccine using mucosal administration and boosting with a recombinant modified vaccinia virus Ankara [Text] / N. P. Goonetilleke, H. McShane, C. M. Hannan, R. J. Anderson, R. H. Brookes, A. V. Hill // *J. Immunol.*, 2003. – 171:1602-1609. [PubMed]
47. Gupta, R. K. Adjuvants for human vaccines-current status, problems and future prospects [Text] / R. K. Gupta, G. R. Siber // *Vaccine*, 1995. – 13:1263-1276. [PubMed]
48. Lindblad, E. B. Adjuvant modulation of immune responses to tuberculosis subunit vaccines. [Text] / E. B. Lindblad, M. J. Elhay, R. Silva, R. Appelberg, P. Andersen // *Infect. Immun.*, 1997. – 65:623-629. [PubMed]
49. Brewer, J. M. Aluminium hydroxide adjuvant initiates strong antigen-specific Th2 responses in the absence of IL-4- or IL-13-mediated signaling [Text] / J. M. Brewer, M. Conacher, C. A. Hunter, M. Mohrs, F. Brombacher, J. Alexander // *J. Immunol.*, 1999. – 163:6448-6454. [PubMed]
50. Podda, A. MF59-adjuvanted vaccines: increased immunogenicity with an optimal safety profile [Text] / A., G. Podda, Del Giudice. // *Expert Rev. Vaccines*, 2003. – 2:197-203. [PubMed]
51. Doherty, T. M. Oral vaccination with subunit vaccines protects animals against aerosol infection with *Mycobacterium tuberculosis* [Text] / T. M. Doherty, A. W. Olsen, L. van Pinxteren, P. Andersen // *Infect. Immun.*, 2002. – 70:3111-3121. [PubMed]
52. Hogarth, P. J. Evaluation of adjuvants for protein vaccines against tuberculosis in guinea pigs [Text] / P. J. Hogarth, K. J. Jahans, R. Hecker, R. G. Hewinson, M. A. Chambers // *Vaccine*, 2003. – 21:977-982. [PubMed]
53. Holten-Andersen, L. Combination of the cationic surfactant dimethyl dioctadecyl ammonium bromide and synthetic mycobacterial cord factor as an efficient adjuvant for tuberculosis subunit vaccines [Text] / L. Holten-Andersen, T. M. Doherty, K. S. Korsholm, P. Andersen // *Infect. Immun.*, 2004. – 72:1608-1617. [PubMed]
54. Lingnau, K. Poly-L-arginine synergizes with oligodeoxynucleotides containing CpG-motifs (CpG-ODN) for enhanced and prolonged immune responses and prevents the CpG-ODN-induced systemic release of pro-inflammatory cytokines [Text] / K. Lingnau, A. Egyed, C. Schellack, F. Mattner, M. Buschle, W. Schmidt // *Vaccine*, 2002. – 20:3498-3508. [PubMed]
55. Peppoloni, S. Mutants of the *Escherichia coli* heat-labile enterotoxin as safe and strong adjuvants for intranasal delivery of vaccines. *Expert Rev. [Text]* / S. Pep-

- poloni, P. Ruggiero, M. Contorni, M. Morandi, M. Piza, R. Rappuoli, A. Podda, G. Del Giudice // *Vaccines*, 2003. – 2:285-293. [PubMed]
56. Ulrich, J. T. Monophosphoryl lipid A as an adjuvant. Past experiences and new directions [Text] / J. T. Ulrich, K. R. Myers // *Pharm. Biotechnol.*, 1995. – 6:495-524. [PubMed]
57. Brandt, L. The protective effect of the Mycobacterium bovis BCG vaccine is increased by coadministration with the Mycobacterium tuberculosis 72-kilodalton fusion polyprotein Mtb72F in M. tuberculosis-infected guinea pigs [Text] / L. Brandt, Y. A. Skeiky, M. R. Alderson, Y. Lobet, W. Dalemans, O. C. Turner, R. J. Basaraba, A. A. Izzo, T. M. Lasco, P. L. Chapman, S. G. Reed, I. M. Orme // *Infect. Immun.*, 2004. – 72:6622-6632. [PubMed]
58. Olsen, A. W. Protective effect of a tuberculosis subunit vaccine based on a fusion of antigen 85B and ESAT-6 in the aerosol guinea pig model [Text] / A. W. Olsen, A. Williams, L. M. Okkels, G. Hatch, P. Andersen // *Infect. Immun.*, 2004. – 72:6148-6150. [PubMed]
59. Weinrich Olsen, A. Protection of mice with a tuberculosis subunit vaccine based on a fusion protein of antigen 85B and ESAT-6 [Text] / A. Weinrich Olsen, L. A. van Pinxteren, L. Meng Okkels, P. Birk Rasmussen, P. Andersen // *Infect. Immun.*, 2001. – 69:2773-2778. [PubMed]
60. Doherty, T. M. Immune responses to the Mycobacterium tuberculosis-specific antigen ESAT-6 signal subclinical infection among contacts of tuberculosis patients [Text] / T. M. Doherty, A. Demissie, J. Olobo, D. Wolday, S. Britton, T. Eguale, P. Ravn, P. Andersen // *J. Clin. Microbiol.*, 2002. – 40:704-706. [PubMed]
61. Lalvani, A. Rapid detection of Mycobacterium tuberculosis infection by enumeration of antigen-specific T cells [Text] / A. Lalvani, A. A. Pathan, H. McShane, R. J. Wilkinson, M. Latif, C. P. Conlon, G. Pasvol, A. V. Hill // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 2001. – 163:824-828. [PubMed]
62. Ravn, P. Hum. T-cell responses to the ESAT-6 antigen from Mycobacterium tuberculosis [Text] / P. Ravn, A. Demissie, T. Eguale, H. Wondwosson, D. Lein, H. A. Amoudy, A. S. Mustafa, A. K. Jensen, A. Holm, I. Rosenkrands, F. Oftung, J. Olobo, F. von Reyn, P. Andersen // *J. Infect. Dis.*, 1999. – 179:637-645. [PubMed]
63. van Pinxteren, L. A. H. Diagnosis of tuberculosis based on the two specific antigens ESAT-6 and CFP10. [Text] / L. A. H. van Pinxteren, P. Ravn, E. M. Agger, J. M. Pollock, P. Andersen // *Clin. Diagn. Lab Immunol.*, 2000. – 7:155-160. [PubMed]
64. Dietrich, J. Exchanging ESAT6 with TB10.4 in an Ag85B Fusion Molecule-Based Tuberculosis Subunit Vaccine: Efficient Protection and ESAT6-Based Sensitive Monitoring of Vaccine Efficacy [Text] / J. Dietrich, C. Aagaard, R. Leah, A. W. Olsen, A. Stryhn, T. M. Doherty, P. Andersen // *J. Immunol.*, 2005. – 174:6332-6339. [PubMed]
65. Skjot, R. L. Epitope mapping of the immunodominant antigen TB10.4 and the two homologous proteins TB10.3 and TB12.9, which constitute a subfamily of the ESAT-6 gene family [Text] / I. Brock, S. M. Arend, M. E. Munk, M. Theisen, T. H. Ottenhoff, P. Andersen // *Infect. Immun.*, 2002. – 70:5446-5453. [PubMed]
66. Turner, J. Effective preexposure tuberculosis vaccines fail to protect when they are given in an immunotherapeutic mode [Text] / J. Turner, E. R. Rhoades, M. Keen, J. T. Belisle, A. A. Frank, I. M. Orme // *Infect. Immun.*, 2000. – 68:1706-1709. [PubMed]
67. Sorensen, A. L. Purification and characterization of a low-molecular-mass T-cell antigen secreted by Mycobacterium tuberculosis [Text] / A. L. Sorensen, S. Nagai, G. Houen, P. Andersen, A. B. Andersen // *Infect. Immun.*, 1995. – 63:1710-1717. [PubMed]
68. Honer zu Bentrup, K. Mycobacterial persistence: adaptation to a changing environment [Text] / K. Honer zu Bentrup, D. G. Russell // *Trends Microbiol.*, 2001. – 9:597-605. [PubMed]
69. Mehrotra, J. Regulation of virulence genes in Mycobacterium tuberculosis [Text] / Mehrotra, J., W. R. Bishai // *Int. J. Med. Microbiol.*, 2001. – 291:171-182. [PubMed]
70. Sherman, D. R. Regulation of the Mycobacterium tuberculosis hypoxic response gene encoding alpha-crystallin [Text] / D. R. Sherman, M. Voskuil, D. Schnappinger, R. Liao, M. I. Harrell, G. K. Schoolnik // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2001. – 98:7534-7539. [PubMed]
71. Voskuil, M. I. Inhibition of respiration by nitric oxide induces a Mycobacterium tuberculosis dormancy program [Text] / M. I. Voskuil, D. Schnappinger, K. C. Visconti, M. I. Harrell, G. M. Dolganov, D. R. Sherman, G. K. Schoolnik // *J. Exp. Med.*, 2003. – 198:705-713. [PubMed]
72. Yuan, Y. Stationary-phase-associated protein expression in Mycobacterium tuberculosis: function of the mycobacterial alpha-crystallin homolog. [Text] / Y. Yuan, D. D. Crane, C. E. Barry 3rd. // *J. Bacteriol.*, 1996. – 178:4484-4492. [PubMed]
73. Yuan, Y. The 16-kDa alpha-crystallin (Acr) protein of Mycobacterium tuberculosis is required for growth in macrophages [Text] / Y. Yuan, D. D. Crane, R. M. Simpson, Y. Q. Zhu, M. J. Hickey, D. R. Sherman, C. E. Barry 3rd. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1998. – 95:9578-9583. [PubMed]
74. Shi, L. Expression of Th1-mediated immunity in mouse lungs induces a Mycobacterium tuberculosis transcription pattern characteristic of nonreplicating persistence [Text] / L. Shi, Y. J. Jung, S. Tyagi, M. L. Gennaro, R. J. North // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2003. – 100:241-246. [PubMed]
75. Cole, S. T. Deciphering the biology of Mycobacterium tuberculosis from the complete genome sequence [Text] / S. T. Cole, R. Brosch, J. Parkhill, T. Garnier, C. Churcher, D. Harris, S. V. Gordon, K. Eiglmeier, S. Gas, C. E. Barry, 3rd, F. Tekaia, K. Badcock, D. Basham, D. Brown, T. Chillingworth, R. Connor, R. Davies, K. Devlin, T. Feltwell, S. Gentles, N. Hamlin, S. Holroyd, T. Hornsby, K. Jagels, A. Krogh, J. Mclean, S. Moule, L. Murphy, K. Oliver, J. Osborne, M. A. Quail, M.-A. Rajandream, J. Rogers, S. Rutter, K. Seeger, J. Skelton, R. Squares, S. Squares, J. E. Sulston, K. Tay-

- lor, S. Whitehead, B. G. Barrel // Nature, 1998. – 393:537-544. [PubMed]
76. Lowrie, D. B. Therapy of tuberculosis in mice by DNA vaccination [Text] / D. B. Lowrie, R. E. Tascon, V. L. Bonato, V. M. Lima, L. H. Faccioli, E. Stavropoulos, M. J. Colston, R. G. Hewinson, K. Moelling, C. L. Silva // Nature, 1999. – 400:269-271. [PubMed]
77. Turner, O. C. Lack of protection in mice and necrotizing bronchointerstitial pneumonia with bronchiolitis in guinea pigs immunized with vaccines directed against the hsp60 molecule of Mycobacterium tuberculosis [Text] / O. C. Turner, A. D. Roberts, A. A. Frank, S. W. Phalen, D. M. McMurray, J. Content, O. Denis, S. D'Souza, A. Tanghe, K. Huygen, I. M. Orme // Infect. Immun., 2000. – 68:3674-3679. [PubMed]
78. Downing, K. J. Mutants of Mycobacterium tuberculosis lacking three of the five rpf-like genes are defective for growth in vivo and for resuscitation in vitro [Text] / K. J. Downing, V. V. Mischenko, M. O. Shleeva, D. I. Young, M. Young, A. S. Kaprelyants, A. S. Apt, V. Mizrahi // Infect. Immun., 2005. – 73:3038-3043. [PubMed]
79. Tufariello, J. M Individual Mycobacterium tuberculosis resuscitation-promoting factor homologues are dispensable for growth in vitro and in vivo [Text] / J. M. Tufariello, W. R. Jacobs, Jr., J. Chan // Infect. Immun., 2004. – 72:515-526. [PubMed]
80. Yermeev, V. V. Proteins of the Rpf family: immune cell reactivity and vaccination efficacy against tuberculosis in mice [Text] / V. V. Yermeev, T. K. Kondratieva, E. I. Rubakova, S. N. Petrovskaya, K. A. Kazarian, M. V. Telkov, S. F. Biketov, A. S. Kaprelyants, A. S. Apt // Infect. Immun., 2003. – 71:4789-4794. [PubMed]
81. Baily, G. V. Tuberculosis prevention Trial, Madras. Indian [Text] / G. V. Baily // J. Med. Res., 1980. – 72(Suppl.):1-74. [PubMed]
82. Harboe, M. Evidence for occurrence of the ESAT-6 protein in Mycobacterium tuberculosis and virulent Mycobacterium bovis and for its absence in Mycobacterium bovis BCG [Text] / M. Harboe, T. Oettinger, H. G. Wiker, I. Rosenkrands, P. Andersen // Infect. Immun., 1996. – 64:16-22. [PubMed]
83. Lalvani, A. Enumeration of T cells specific for RD1-encoded antigens suggests a high prevalence of latent Mycobacterium tuberculosis infection in healthy urban Indians [Text] / A. Lalvani, P. Nagvenkar, Z. Udawadia, A. A. Pathan, K. A. Wilkinson, J. S. Shastri, K. Ewer, A. V. Hill, A. Mehta, C. Rodrigues // J. Infect. Dis., 2001. – 183:469-477. [PubMed]
84. Lalvani, A. Enhanced contact tracing and spatial tracking of Mycobacterium tuberculosis infection by enumeration of antigen-specific T cells [Text] / A. Lalvani, A. A. Pathan, H. Durkan, K. A. Wilkinson, A. Whelan, J. J. Deeks, W. H. Reece, M. Latif, G. Pasvol, A. V. Hill // Lancet, 2001. – 357:2017-2021. [PubMed]
85. Lyashchenko, K., Association of tuberculin-boostered antibody responses with pathology and cell-mediated immunity in cattle vaccinated with Mycobacterium bovis BCG and infected with M. bovis [Text] / K. Lyash-

- chenko, A. O. Whelan, R. Greenwald, J. M. Pollock, P. Andersen, R. G. Hewinson, H. M. Vordermeier // Infect. Immun., 2004. – 72:2462-2467. [PubMed]
86. Vordermeier, H. M. Correlation of ESAT-6-specific gamma interferon production with pathology in cattle following Mycobacterium bovis BCG vaccination against experimental bovine tuberculosis. Infect. [Text] / H. M. Vordermeier, M. A. Chambers, P. J. Cockle, A. O. Whelan, J. Simmons, R. G. Hewinson // Immun., 2002. – 70:3026-3032. [PubMed]
87. Ziv, E., Potential public health impact of new tuberculosis vaccines. [Text] / E. Ziv, C. L. Daley, S. Blower // Emerg. Infect. Dis., 2004. – 10:1529-1535. [PubMed]

УДК 579.873.21: 615.371(045)

**СУЧАСНІ ПІДХОДИ ДО РОЗРОБКИ
ВАКЦИНИ ПРОТИ ТУБЕРКУЛЬОЗУ**

Єлісеєва І.В., Бабич Є.М., Ждамарова Л.А., Колпак С.А., Бобирєва І.В.

Сучасною парадигмою в методології конструювання протитуберкульозних вакцин є або заміна БЦЖ більш ефективною вакциною, яка дає довшу тривалість захисту, або створення вакцини для підсилення вже існуючого імунітету і забезпечення захисту в дорослих. В останні роки на рівні лабораторних випробувань знаходяться понад 200 варіантів вакцин, серед яких – цільно-клітинні (атенуйовані, векторні), субдиничні, ДНК-вакцини, тощо. Щодо пізньої бустер стратегії існує суттєве зауваження, що в регіонах високо ендемічних по туберкульозу в багатьох випадках імунізація буде здійснюватись вже сенситизованим до мікобактеріальних антигенів особам (попередньою БЦЖ вакцинацією, контактом із мікобактеріями зовнішнього середовища або латентною туберкульозною інфекцією). Повсюдне використання нових вакцин очікується не раніш 2015 року.

Ключові слова: туберкульоз, нові вакцини.

УДК 579.873.21: 615.371(045)

**СОВРЕМЕННЫЕ ПОДХОДЫ К РАЗРАБОТКЕ
ВАКЦИНЫ ПРОТИВ ТУБЕРКУЛЕЗА**

Елісеєва І.В., Бабич Є.М., Ждамарова Л.А., Колпак С.А., Бобирєва І.В.

Современная парадигма в методологии конструирования противотуберкулезных вакцин заключается в замене БЦЖ более эффективной вакциной, которая дает большую продолжительность защиты, или создание вакцины для усиления существующего иммунитета и обеспечения защиты взрослых. В последние годы на стадии лабораторных испытаний находится свыше 200 вариантов вакцин, среди которых – целлюно-клеточные (аттенуированные, векторные), субединичные, ДНК-вакцины и др. В отношении поздней бустер стратегии существует существенное предостережение, что в регионах высоко эндемичных по туберкулезу во многих случаях иммунизация будет проводиться уже сенситизированным к ми-

кобактериальным антигенам лицам (предыдущей БЦЖ вакцинацией, контактом с микобактериями внешней среды или латентной туберкулезной инфекцией). Повсеместное применение новых вакцин ожидается не ранее 2015 года.

Ключевые слова: туберкулез, новые вакцины.

UDK 579.873.21: 615.371(045)

UP-TO-DATE APPROACHES TO TUBERCULOSIS VACCINE DEVELOPMENT

Yelyseyeva I.V., Babych Ye.M., Zhdamarova L.A., Kolpak S.A., Bobireva I.V.

Novel concepts in development of vaccines for tuberculosis consist in exchange BCG for more effective vaccine with long-term protective efficacy or in development of vaccine for acquired immunity increase and adult protection support. There are above 200 variants of vaccine at the laboratory test stage in recent years, among of which there are whole-cell (attenuated, vector), subunit, DNA-vaccines et al. Referred to as the late booster strategy is the caveat that in highly tuberculosis endemic regions such a vaccine will in many cases be given to already sensitized to mycobacterial antigens persons (whether by prior BCG vaccination, exposure to environmental mycobacteria, or latent tuberculosis infection). Extensive use of novel vaccines for tuberculosis is expecting not earlier than 2015 year.

Key words: tuberculosis, novel vaccines.