

АКТУАЛЬНЫЕ АСПЕКТЫ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ ТУБЕРКУЛЁЗА

Штраух Валерия Игоревна

студент, ФГБОУ ВО Северный государственный медицинский университет Минздрав России, РФ, г. Архангельск

Елизарова Вероника Сергеевна

студент, ФГБОУ ВО Северный государственный медицинский университет Минздрав России, РФ, г. Архангельск

Елисеев Платон Иванович

научный руководитель, канд. мед. наук, старший научный сотрудник ЦНИЛ, РФ, г. Архангельск

Аннотация. В данной работе представлен обзор литературы, посвященный современным методам лабораторной диагностики *M. tuberculosis* (МБТ) с учётом их преимуществ и недостатков. Сделаны выводы о том, что несмотря на наличие разнообразных методов в диагностике туберкулёза существует необходимость усовершенствования и разработки новых, высокоспецифичных и чувствительных методов диагностики.

Ключевые слова: Туберкулёз, лабораторная диагностика, методы исследования, обзор литературы.

Во всём мире насчитывается около 2 миллиардов человек, инфицированных *M. tuberculosis*, из этого числа у 10 миллионов развиваются активные формы заболевания, а около 1,6 миллионов погибают от туберкулёза [3, 15]. Активная форма туберкулёзной инфекции преимущественно поражает лёгкие, а передача возбудителя воздушно-капельным путём обуславливает высокую заразность данного заболевания.

Поэтому одним из актуальных вопросов современной фтизиатрии является разработка новых надёжных и быстрых методов диагностики туберкулёза, что является важным компонентом для подбора адекватной терапии заболевания и контроля его распространения в популяции.

Целью данной работы является литературный обзор современных методов лабораторной диагностики туберкулёзной инфекции.

Для диагностики и мониторинга туберкулёза в настоящее время используются различные методы исследования: клинические, микробиологические, молекулярно-генетические, лучевые. Однако среди них самым надёжным является непосредственное обнаружение возбудителя в материале больного методом ПЦР, остальные же информативны только в комплексе [1, 3, 5].

Наиболее доступным, быстрым и экономичным методом является бактериоскопическое исследование. Однако из-за низкой чувствительности данный метод позволяет выявить кислотоустойчивые микобактерии только при содержании их не менее 5000-10000

бактериальных клеток в 1 мл материала, поэтому при незначительной выраженности туберкулёзного процесса бактериоскопия имеет низкую диагностическую эффективность и высока вероятность получения ложноотрицательных результатов [3, 5].

В сравнении с микроскопией, культуральные методы диагностики отличаются наибольшей чувствительностью и имеют ряд преимуществ, среди которых возможность получения культуры возбудителя. Это позволяет подробно исследовать культуру, провести дальнейшую идентификацию и тестирование на лекарственную чувствительность. Однако данный метод является трудоёмким, дорогостоящим и длительным (результат посева можно получить не ранее, чем через 5-6 недель), так как требует наличия специализированных помещений для изготовления питательных сред и обработки образцов, а также обученного персонала [1, 11, 14].

Широкое распространение для диагностики туберкулёза получили системы автоматических микробиологических анализаторов типа ВАСТЕС, принцип работы которых основан на флуоресцентной регистрации сигнала. Для посева обычно используются флаконы с жидкой питательной средой Миддлбрук и встроенным сенсором, на который нанесена специальная краска – флюорохром, ингибируемая кислородом. В случае присутствия в пробирке микроорганизмов флюорохром будет реагировать на уменьшение количества свободного кислорода, вследствие жизнедеятельности МБТ, что приведёт к модуляции свечения, которое поглощается флуоресцентным материалом в сенсоре. Фотодетекторы прибора измеряют уровень флуоресценции, зависящий от объёма выделяемого кислорода, а интерпретация результатов происходит в зависимости от установленных критериев, заложенных в программу. При выявлении положительных культур, ВАСТЕС подаёт световой и звуковой сигнал, выводит данные на монитор [7, 9, 10].

К плюсам данного метода можно отнести: возможность диагностики в максимально короткие сроки — одновременное проведение 960 анализов, выявление микобактерии за 3-15 дней, определение чувствительности к антибактериальным препаратам за 7-9 дней, при этом высеваемость микобактерии туберкулёза составляет до 94%, а исключение необходимости ручной обработки – сводит к нулю ошибки, связанные с человеческим фактором.

Микробиологический анализатор ВАСТЕС также позволяет определять чувствительность к препаратам первого ряда (стрептомицину, изониазиду, рифампицину, этамбутолу), пипразинамиду и препаратам второго ряда, в том числе, к новым препаратам. При этом специфичность метода составляет 100%, чувствительность - 92-98%, варьирование зависит от препарата [7].

Однако основным недостатком, ограничивающим возможность его широкого распространения и применения, является себестоимость проводимых анализов [2].

Длительность получения результатов культуральным методом исследования привело к разработке новых методов диагностики туберкулёза – молекулярно-генетических, основанных на выявлении в исследуемых образцах диагностического материала специфических фрагментов цепи ДНК возбудителя. Среди применяемых для этого молекулярно-биологических методик наиболее широкое распространение получил метод полимеразно-цепной реакции (ПЦР), направленный на амплификацию специфических участков генома микобактерии туберкулеза, их детекции и идентификации. Основное преимущество данных методов связано с тем, что они позволяют получить результаты в относительно короткий промежуток времени [3, 5, 14].

В настоящее время в Российской Федерации зарегистрировано большое количество тест-систем для выявления ДНК микобактерий методом ПЦР, различающихся способом детекции результатов, например, автоматизированная система GeneXpert MTB/RIF, которая включает в себя амплификацию нуклеиновых кислот и определение искомой последовательности в простых или комплексных образцах в режиме реального времени. В тест-системе используются одноразовые картриджи, благодаря которым исключается перекрёстная контаминация образцов. Праймеры в анализе амплифицируют порцию гена *groV*, содержащего 81 пару комплементарных оснований нуклеиновых кислот, датчик способен дифференцировать дику последовательность и мутации данного гена, ассоциированные с

резистентностью к рифампицину [6]. Чувствительность и специфичность исследования по методу Xpert MTB/RIF для определения устойчивости к рифампицину составляют соответственно 99,1% и 100% [11].

Система GeneXpert позволяет обнаруживать за одно исследование до 12 уникальных последовательностей нуклеиновых кислот, это даёт возможность одновременно проводить как само исследование, так и контрольные измерения, предоставляя в итоге высоконадежные и стабильные результаты. Подключение к лабораторной информационной системе предоставляет оптимизированный порядок обработки образцов и позволяет получать достоверные результаты, а автоматизация процесса уменьшает количество ошибок и облегчает работу с базой данных по пациентам [9].

Еще одним способом молекулярно-генетической диагностики МБТ является тест-система Genotype MTBD, основанная на быстрой детекции наиболее частых мутаций, встречающихся в генах, ассоциированных с устойчивостью к изониазиду и рифампицину. Кроме того, данная система позволяет одновременно определять и чувствительность к этим препаратам.

Механизм работы Genotype MTBD основан на обратной гибридизации амплифицированной ДНК штамма *M. tuberculosis* или иммобилизованными на нитроцеллюлозной полоске пробами ДНК [11]. Данный тест может проводиться на чистой культуре, взятой из пробы пациента или на самой пробе, что сокращает время получения результата, так как исключён этап культурального метода [12]. В добавок, версия Genotype 2.0, в отличие от версии 1.0, позволяет проводить исследования, как в положительных, так и в отрицательных мазках. Диагностическая чувствительность метода составляет 96 и 97 %, а специфичность - 90,7 и 83,3 %. Время получения ответа 1-2 дня [13].

Заключение: На сегодняшний день наиболее распространёнными методами лабораторной диагностики туберкулёзной инфекции по-прежнему остаются бактериологические, среди которых наибольшую эффективность и надёжность представляют микробиологические исследования на жидких питательных средах с помощью автоматического анализатора ВАСТЕС. Среди его преимуществ: возможность проведения большого количества анализов, быстрое выявление микобактерий в срок от 3 дней, а также определение чувствительности к антибактериальным препаратам первого ряда.

“Золотым стандартом” в диагностике туберкулёза являются молекулярно-генетические методы: молекулярно-генетический картриджный тест GeneXpert MTB/RIF и генетическая тест-система Genotype MTBD. Автоматизированный тест GeneXpert предоставляет высоконадежные и стабильные результаты, позволяя диагностировать возбудителя туберкулёза в мокроте и определять чувствительность к рифампицину, а автономные одноразовые картриджи исключают возможность перекрёстной контаминации образцов, что сводит вероятность ошибки к нулю. Genotype MTBD показывает высокую диагностическую чувствительность и специфичность, позволяет определять устойчивость к препаратам второго ряда и использовать при исследовании как пробы чистой культуры, так и пробы, полученные сразу от пациента, но чувствителен к контаминации ввиду отсутствия одноразовой картриджной системы. В сравнении с GeneXpert, является более технически сложным исследованием, занимающим больше времени.

Список литературы:

1. Казанова А.С., Лядова И.В., Кондратюк Н.А., Пантелеев А.В., Васильева И.А., Тараканова Ю.Н. Способ диагностики туберкулеза и дифференциальной диагностики туберкулеза и латентной туберкулёзной инфекции: пат. 2576833 Российская Федерация. 2016. Бюл. №7. 12 с.
2. Огарков О.Б., Медведева Т.В. Диагностика туберкулеза: клиническое и эпидемиологическое значение современных лабораторных методов // Сиб. мед. журнал. 2004. №1. С. 6-9.
3. Серегина В.А., Будруцкий А.М. Современные возможности диагностики туберкулеза легких // Вестник ВГМУ. 2016. №14. С. 7-16.

4. Толемисова А.М., Балмахаева Р.М. Об инновациях в лабораторной диагностике туберкулеза в Республике Казахстан. Обзор литературы // Вестник КазНМУ. 2013. №5-2.
5. Черноусова Л.Н., Мищенко В.В. Традиции и новации в лабораторной диагностике туберкулеза в Российской Федерации // Практическая пульмонология. 2008. №1. С. 10-12.
6. Xpert MTB/RIF [Электронный ресурс]. – Электрон. текстовые дан. – Режим доступа: http://ruslt.ru/wp-content/uploads/2020/01/mtb_rif.pdf, свободный (дата обращения: 22.06.2020). – Загл. с экрана.
7. Новейшие технологии [Электронный ресурс] // Новейшие технологии – Городской противотуберкулезный диспансер. – Электрон. дан. – Режим доступа: <http://tubercules.org/index.php?id=54>, свободный (дата обращения: 22.06.2020). – Загл. с экрана.
8. Анализаторы системы [Электронный ресурс] // ВАСТЕС 9050. – Электрон. дан. – Режим доступа: <http://www.invitro.ua/about/equip/1197/>, свободный (дата обращения: 22.06.2020). – Загл. с экрана.
9. Микробиологический анализатор Bactec FX Top Unit [Электронный ресурс] // Микробиологический анализатор для гемокультур, на 200 флак., Bactec FX Top Unit, BD Biosciences. – Электрон. дан. – Режим доступа: <https://www.dia-m.ru/catalog/lab/mikrobiologicheskie-analizatory/becton-dickinson-441385-mikrobiologicheskii-analizator-bd-bactec-fx-top-unit-dlya-gemokultur-na-200-flakonov/>, свободный (дата обращения: 22.06.2020). – Загл. с экрана.
10. Основные преимущества системы genexpert [Электронный ресурс] // Спортивное обозрение. – Электрон. дан. – Режим доступа: <http://www.sportoboz.ru/2019/05/19/osnovnyie-preimuschestva-sistemy-genexpert.html>, свободный (дата обращения: 22.06.2020). – Загл. с экрана.
11. Выявление и диагностика туберкулеза на уровне первичного звена здравоохранения [Электронный ресурс]. – Электрон. текстовые дан. – Режим доступа: http://www.ksmi.kg/images/files/KP_viyavlenie_i_disgnos_TB_na_pervichke.PDF, свободный (дата обращения: 13.07.2020). – Загл. с экрана.
12. Экспресс-тест GenoType® MTBDRsl при определении устойчивости к противотуберкулезным препаратам второй линии [Электронный ресурс] // Экспресс-тест GenoType® MTBDRsl. – Электрон. дан. – Режим доступа: https://www.cochrane.org/ru/CD010705/INFECTN_ekspress-test-genotyper-mtbdrsl-pri-opredelenii-ustoychivosti-k-protivotuberkuleznym-preparatam, свободный (дата обращения: 13.07.2020). – Загл. с экрана.
13. GenoType® MTBDRsl assay for resistance to second-line antituberculosis drugs (Review) [Электронный ресурс] // Theron G, Peter J, Richardson M, Warren R, Dheda K, Steingart KR. – Электрон. текстовые дан. – Режим доступа: <https://www.cochranelibrary.com/cdsr/doi/10.1002/14651858.CD010705.pub3/full/ru>, свободный (дата обращения: 13.07.2020). – Загл. с экрана.
14. Федеральные клинические рекомендации по организации и проведению микробиологической и молекулярно-генетической диагностики туберкулеза [Электронный ресурс] // Российское респираторное общество. – Электрон. дан. – Режим доступа: http://roftb.ru/netcat_files/doks/rm.pdf, свободный (дата обращения: 13.07.2020). – Загл. с экрана.
15. Туберкулез [Электронный ресурс] // ВОЗ. – Электрон. дан. – Режим доступа: <https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/tuberculosis>, свободный (дата обращения 20.07.2020). – Загл. с экрана.