

**Яцкевич Н. В.**

*Республиканский научно-практический центр пульмонологии и фтизиатрии,  
г. Минск, Беларусь*

**Скрягина Е. М.**

*Республиканский научно-практический центр пульмонологии и фтизиатрии,  
г. Минск, Беларусь*

**Суркова Л. К.**

*Республиканский научно-практический центр пульмонологии и фтизиатрии,  
г. Минск, Беларусь*

**Николенко Е. Н.**

*Республиканский научно-практический центр пульмонологии и фтизиатрии,  
г. Минск, Беларусь*

## **НОВЫЕ ПОДХОДЫ К МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКЕ ТУБЕРКУЛЕЗА В СОВРЕМЕННЫХ УСЛОВИЯХ**

Ранняя диагностика туберкулеза и обеспечение возможности тестирования лекарственной чувствительности (ТЛЧ) *M. tuberculosis* (МБТ) является одним из основных принципов стратегии борьбы с туберкулезом в современных условиях.

В настоящее время в Республике Беларусь достигнуто снижение заболеваемости туберкулезом до 29 на 100 000 населения с учетом рецидивов в 2017 г., однако установлен рост удельного веса пациентов с рифампицин-устойчивым туберкулезом (РУ-ТБ)/мультирезистентным туберкулезом легких (МЛУ-ТБ) до 79,9 % в 2017 г. В структуре лекарственно-устойчивого туберкулеза значительное место занимает туберкулез с широкой лекарственной устойчивостью возбудителя (ШЛУ-ТБ) и пре-ШЛУ-ТБ [1].

В последнее десятилетие в связи с разработкой и широким внедрением в клиническую практику сразу нескольких новых молекулярно-генетических технологий появилась возможность быстрой этиологической диагностики туберкулеза и определения лекарственной устойчивости МБТ и своевременного назначения адекватного лечения РУ-ТБ [2].

Новые подходы к микробиологической диагностике туберкулеза основываются на принципе обеспечения ранней диагностики не только МЛУ-ТБ, но и пре-ШЛУ и ШЛУ-ТБ в сроки до 7 дней не менее чем у 95 % пациентов. На этой основе разработан комплексный метод диагностики мультирезистентного (рифампицин-устойчивого) туберкулеза.

Комплексный метод включает микроскопическое исследование по Цилю–Нильсену, комбинацию двух молекулярно-генетических методов в режиме реального времени (Xpert MTB/Rif) и гибридизацию со специфическими ДНК-зондами на линейных стрипах (LPA MTB DR plus/sl) в сочетании с посевом и ТЛЧ в жидкой питательной среде с использованием автоматизированной бактериологической системы Bactec MGIT 960.

**Цель работы** — изучить эффективность комплексного метода ранней диагностики туберкулеза с одновременным определением лекарственной чувствительно-

сти МБТ к противотуберкулезным лекарственным средствам (ПТЛС) первого и второго ряда.

**Материалы и методы.** Проведено обследование 163 пациентов, 55 женщин, 108 мужчин (в возрасте  $38,5 \pm 1,2$  лет) с туберкулезом легких, подтвержденным наличием бактериовыделения, с повышенным риском развития РУ-ТБ/МЛУ-ТБ.

У всех пациентов проведена микроскопия мокроты с окраской по Цилю–Нильсену, культуральное исследование мокроты с использованием плотной питательной среды, ускоренное бактериологическое исследование мокроты с использованием автоматизированной системы Bactec MGIT 960. Молекулярно-генетическое исследование мокроты методом гибридизации с ДНК зондами (LPA) с использованием тест-систем, позволяющих определить устойчивость МБТ к ПТЛС первого и второго ряда (GenoType MTBDRplus v.2, GenoType MTBDRsl v.2) проведено у 133, молекулярно-генетическим тестом, позволяющим обнаружить ДНК МБТ и определить устойчивость МБТ к рифампицину (XpertMTB/Rif) — у 159 пациентов.

Для оценки эффективности комплекса методов были сформированы 4 группы.

Основную группу 1 (ОГ1) составили 90 пациентов, у которых при микроскопии мокроты с окраской по Цилю–Нильсену не были выявлены кислотоустойчивые бактерии (КУБ «-»). ОГ2 составили 43 пациента, у которых при микроскопии мокроты КУБ были выявлены (КУБ «+»). У пациентов основных групп все исследования (микроскопия, бактериологические, молекулярно-генетические исследования) были проведены из одного образца мокроты.

Контрольную группу 1 (КГ1) составили 20 пациентов с КУБ «-», КГ2 — 10 пациентов с КУБ «+». У пациентов контрольных групп не проведено молекулярно-генетическое исследование методом гибридизации с ДНК зондами с использованием тест-систем, позволяющих определить устойчивость МБТ к ПТЛС первого и второго ряда.

Статистическая обработка материала исследования выполнялась на персональном компьютере с помощью пакета Statistica for Windows 10, USA.

**Результаты и обсуждение.** Проведена оценка эффективности сочетанного применения разных методов исследования и каждого метода в отдельности при проведении диагностики РУ-ТБ/МЛУ-ТБ.

При комплексном микробиологическом и молекулярно-генетическом исследовании одного образца клинического материала (мокроты) у пациентов с положительным результатом микроскопии мокроты с окраской по Цилю–Нильсену (ОГ2) установлено, что срок выявления МБТ составил  $1,12 \pm 0,07$  день по сравнению  $23,14 \pm 0,82$  днями при посеве на плотную среду ( $Z = 7,41$ ,  $p < 0,01$ ),  $12,58 \pm 0,98$  днями — при посеве в жидкую среду MGIT и  $5,25 \pm 0,49$  днями — при исследовании молекулярно-генетическим методом гибридизации с ДНК-зондами.

Диагностическая значимость комплексного метода в выявлении МБТ у пациентов ОГ2 составила 100 % по сравнению с 83,7 % при посеве на плотную среду, 93,0 % — при посеве в жидкую среду MGIT, 93,0 % — при исследовании молекулярно-генетическим методом гибридизации с ДНК-зондами.

У пациентов с КУБ «←» по сравнению с пациентами с КУБ «+» при исследовании одного образца мокроты с использованием комплекса методов сроки выявления МБТ удлинялись до  $11,74 \pm 1,39$  дней ( $Z = 3,78$ ,  $p < 0,01$ ), при использовании только традиционного культурального метода исследования — до  $36,29 \pm 1,14$  дней ( $5,33$ ;  $p < 0,01$ ).

Диагностическая значимость комплексного метода в выявлении МБТ у пациентов ОГ1 составила 100 % по сравнению с 87,8 % при посеве на плотную среду, 87,8 % — при посеве в жидкую среду MGIT, 96,7 % — при исследовании молекулярно-генетическим методом гибридизации с ДНК-зондами.

У пациентов ОГ1 (с КУБ «←») чувствительность выявления ДНК МБТ с использованием теста XpertMTB/Rif была низкой и составила 56,2 %. У пациентов ОГ2 (с КУБ «+») по сравнению с пациентами ОГ1 (с КУБ «←») чувствительность выявления ДНК МБТ с использованием молекулярно-генетического теста XpertMTB/Rif, была выше на 43,8 % (в 1,78 раза) и составила 100,0 % ( $p < 0,01$ ).

Результаты ТЛЧ МБТ к ПТЛС второго ряда у пациентов с КУБ «+» при исследовании одного образца мокроты с использованием комплекса методов получены через  $6,67 \pm 1,08$  дней в сравнении с  $25,85 \pm 1,31$  днями у пациентов с КУБ «←» ( $Z = 6,42$ ;  $p < 0,01$ ) и в сравнении с  $49,89 \pm 0,77$  и  $62,54 \pm 1,2$  днями при проведении культуральных исследований на плотной среде у пациентов с КУБ «+» и КУБ «←» соответственно.

Таким образом, применение комплексного метода у пациентов с КУБ «←» и КУБ «+» позволило назначить адекватную схему лечения на 36,69 дней ( $Z = 2,18$ ,  $p < 0,01$ ) и 43,22 дня ( $Z = 6,91$ ,  $p < 0,01$ ) соответственно раньше, чем при использовании традиционного культурального исследования с использованием плотной питательной среды.

**Выводы.** Для обеспечения ранней диагностики и адекватного лечения пациентов с туберкулезом легких необходимо проведение комплекса исследований клинического материала с использованием молекулярно-генетических, ускоренного и традиционного бактериологических методов выявления МБТ, тестирования лекарственной чувствительности МБТ. Молекулярно-генетические методы диагностики туберкулеза необходимо использовать на первоначальном этапе диагностики для быстрого выявления МЛУ/ШЛУ-ТБ. Проведение комплекса исследований клинического материала на первоначальном этапе диагностики позволит повысить терапевтическую и экономическую эффективность лечения пациентов с туберкулезом легких [3].

#### ЛИТЕРАТУРА

1. *Эпидемиология туберкулеза с широкой лекарственной устойчивостью в Республике Беларусь* / В. Я. Кралько [и др.] // Проблемы диагностики и лечения рифампицин-устойчивого туберкулеза на современном этапе : материалы междунар. науч.-практ. конф. «Новые подходы к диагностике и лечению туберкулеза», Минск, 11–12 декабря 2017 г. Минск, 2017. С. 10–16.
2. *Оптимизация лабораторной диагностики туберкулеза с использованием современных бактериологических и молекулярно-генетических методов* / Я. М. Бабанова [и др.] // Туберкулез и болезни легких. 2011. Т. 88, № 2. С. 36–43.

Актуальные проблемы микробиологии, вирусологии, иммунологии: материалы  
научно-практической конференции  
Минск, 19 октября 2018

3. *Оценка* клинико-экономической эффективности нового алгоритма и комплексного метода лабораторной диагностики рифампицин-устойчивого туберкулеза (МЛУ/ШЛУ-ТБ) / Л. К. Суркова [и др.] // Современные направления развития респираторной медицины и фтизиатрии : сб. науч. тр. Первого съезда фтизиатров и пульмонологов Республики Беларусь, Минск, 17–18 мая 2018 г. Рецпт. Приложение. 2018. С. 136–142.

Репозиторий БГМУ