

УДК: 616-002.5

DOI 10.56834/26631504_2022_1_22

Д.С. Мусин, <https://orcid.org/0000-0003-1380-7236>
В.С. Маркина, <https://orcid.org/0000-0002-3107-6150>
М.Э. Гапурхаева, <https://orcid.org/0000-0001-9106-0612>
КГКП «Павлодарский областной центр фтизиопульмонологии»

ИННОВАЦИОННЫЕ МЕТОДЫ СВОЕВРЕМЕННОГО ВЫЯВЛЕНИЯ ТУБЕРКУЛЕЗА.

Резюме. В статье описываются и сравниваются основные методы диагностики туберкулеза, приводятся статистика по диагностике туберкулеза различными методами, определяются плюсы и минусы различных методов диагностики.

Ключевые слова: диагностика, иммунологические методы, квантифероновый тест, молекулярно генетический метод Xpert MTB/RIF, HAIN-TEST.

Д.С. Мусин, В.С. Маркина, М.Э. Гапурхоева
"Павлодар облыстық фтизиопульмонология орталығы" КМҚК

ТУБЕРКУЛЕЗДІ ДЕР КЕЗІНДЕ АНЫҚТАУДЫҢ ИННОВАЦИЯЛЫҚ ӘДІСТЕРІ

Түйін. Мақалада туберкулезді диагностикалаудың негізгі әдістері сипатталған және салыстырылған, әртүрлі әдістермен туберкулезді диагностикалау туралы статистикалық мәліметтер берілген, әртүрлі диагностикалық әдістердің оң және теріс жақтары анықталған.

Түйінді сөздер: Диагностика, иммунологиялық әдістер, квантиферондық сынама, Xpert MTB/RIF молекулалық-генетикалық әдіс, HAIN-TEST.

D.S. Musin, V.S. Markina, M.E. Gapurkheeva
KGKP "Pavlodar Regional Center of Phthisiopulmonology"

INNOVATIVE METHODS FOR TIMELY DETECTION OF TUBERCULOSIS

Resume. The article describes and compares the main methods of diagnosing tuberculosis, provides statistics on the diagnosis of tuberculosis by various methods, determines the pros and cons of various diagnostic methods.

Key words: diagnostics, immunological methods, quantiferon test, Xpert MTB/RIF molecular genetic method, HAIN-TEST.

Введение: На сегодняшний день борьба с туберкулезной инфекцией и контроль распространения заболевания, по-прежнему остаются одной из важнейших задач здравоохранения во всем мире. Своевременное выявление туберкулеза является неотъемлемой частью основных мероприятий, которые препятствуют распространению туберкулезной инфекции среди населения, что повышает вероятность благоприятного исхода лечения пациента, снижения распространения инфекции. Диагностика туберкулеза на основании только клинических признаков заболевания не возможна. Глобальными приоритетными задачами в области борьбы с туберкулезом остается усовершенствование доказательных принципов диагностики туберкулеза. В этой связи является актуальной проведения сравнительного анализа существующих методов диагностики туберкулеза.

Методы: Сравнительный анализ положительных и отрицательных сторон существующих методов диагностики (MTB/RIF, HAIN-LIFESCIENCE, бактериологические методы- Вастес MGIT-960, Л-Й, Диаскинтест, Квантифероновый тест,) на основании проведенных исследований и анализа литературы.

Результаты. Несколько десятилетий в нашей стране для диагностики туберкулезной инфекции проводился кожный туберкулиновый тест (проба Манту). Туберкулинодиагностика сыграла положительную роль в выявлении инфекции, но также есть и отрицательные моменты. Туберкулинодиагностика обладает низкой

чувствительностью. В этой связи, у вакцинированных детей с использованием данного метода невозможно отличить поствакцинальную аллергию от инфекционной, активную туберкулезную инфекцию от перенесенного в прошлом инфицирования [1].

В настоящее время успешно применяется инновационный внутрикожный диагностический тест — Диаскинтест, в основе которого лежит аллерген, представляющий собой комбинацию из двух рекомбинантных белков содержащий два связанных между собой антигена — ESAT6 и CFP10, характерных для патогенных штаммов микобактерий [1].

Основными преимуществами Диаскинтеста являются:

- Высокая специфичность и высокая чувствительность;
- Отсутствие ложноположительных результатов в случае вакцинации БЦЖ;
- Не требуется специального лабораторного оборудования;
- Малотравматичен для детей любого возраста;
- Эффективен в любом возрасте: дети, подростки, взрослые.

В отличие от пробы Манту, реакция на «Диаскинтест» возникает, только если в организме есть активные микобактерии туберкулеза. «Диаскинтест» более специфичен и не реагирует на другие штаммы бактерий, не вызывающие туберкулез. Не реагирует «Диаскинтест» также и на прививку БЦЖ. Поэтому его часто назначают после пробы Манту для проведения дифференциальной диагностики.

Альтернативой классическому кожному тесту с туберкулином является Квантифицированный тест - метод оценки клеточного иммунного ответа у пациентов, инфицированных микобактериями туберкулеза. В крови людей, инфицированных комплексом *M.tuberculosis*, обычно присутствуют сенсibilизированные микобактериями туберкулеза лимфоциты, распознающие микобактериальные антигены и реагирующие повышением синтеза и секреции цитокина IFN- γ . Квантифероновый тест основан на выявлении *in vitro* продукции INF- γ (гамма-интерферона) сенсibilизированными Т-клетками крови пациента, стимулированными *in vitro* специфическими протенами (ESAT-6 и CFP-10, TB7.7) микобактерий туберкулеза, входящих в комплекс *Mycobacterium tuberculosis complex* (*M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. canettii*, *M. caprae*, *M. pinnipedii*, *M. mungi*, *M. microti*, *M. africanum* и др.)

Основными преимуществами квантиферонового теста являются [2]:

- высокая специфичность;
- высокая чувствительность;
- отсутствие противопоказаний для исследования;
- безопасность и отсутствие побочных реакций;
- отсутствие ложноположительных результатов в случае вакцинации БЦЖ;
- интерпретация результатов теста менее субъективна, чем интерпретация результатов кожных туберкулиновых тестов [3].

Стоит отметить, что квантифероновый тест имеет и минусы как невозможность дифференциации латентного и активного туберкулеза. Величина уровня гамма интерферона не коррелирует со стадией и степенью инфицирования, уровнем иммунной реактивности или вероятностью перехода латентного туберкулеза в активный. Таким образом, несмотря на неоспоримые преимущества в сравнении с пробой Манту, квантифероновый тест не является самодостаточным для диагностики туберкулезной инфекции, и для постановки или исключения диагноза туберкулеза требуется углубленное клинико-диагностическое обследование [3].

Лабораторная служба не стоит на месте. Молекулярно – генетические методы являются на сегодняшний день наиболее перспективным направлением в лабораторной диагностике туберкулеза, который динамично развивается. Они позволяют значительно сократить время исследования и с высокой чувствительностью и специфичностью проводить выявление микобактерий в различном диагностическом материале, их идентификацию и определение лекарственной чувствительности [5].

Среди молекулярно – генетических методов диагностики ТБ выделяют следующие группы [6]:

- Методы линейных зондов;
- Модульный тест системы амплификации нуклеиновых кислот (NAATs);
- Автоматизированные закрытые ПЦР платформы;
- Открытые ПЦР платформы;
- Секвенирование нового поколения NGS

Высокая чувствительность, специфичность и положительная прогностическая ценность молекулярных методов позволила экспертной группе ВОЗ рекомендовать широкомасштабное внедрение этих методов для диагностики туберкулеза и множественной лекарственной устойчивости туберкулеза (далее МЛУ – ТБ).

Молекулярно – генетические методы пока еще не могут полностью заменить существующие традиционные методы диагностики лекарственной устойчивости микобактерии туберкулеза, так как последние необходимы для выделения живых культур микобактерии туберкулеза из диагностических образцов для проведения фенотипических диагностических методов, таких как посев и ТЛЧ на питательных средах к единичным противотуберкулезным препаратам основного и резервного ряда.

К молекулярно-генетическим методам относится Xpert® MTB/RIF. Он является наиболее эффективным и быстрым методом диагностики, который подтверждает туберкулез и рифампицинорезистентность в течении 2 часов. В декабре 2010 года ВОЗ рекомендовала использование теста Xpert MTB/RIF. Выпущенное в начале 2011 года стратегическое заявление ВОЗ было подкреплено документом о скорейшем внедрении этого теста [7]. С 2013 года все региональные лаборатории были обеспечены доступом к молекулярно-генетическим экспресс методам диагностики ТБ и МЛУ ТБ. Параллельно в обязательном порядке патологический материал засеивается на плотную среду Левенштейна-Йенсена, и жидкие среды автоматизированной системы Bactec MGIT-960. Диагностика Xpert MTB/ RIF проводится как при внелегочном, так и легочной форме туберкулеза [7]. В Павлодарской области оборудование Xpert MTB/ RIF было установлено в 2013 году в центре фтизиопульмонологии. На сегодняшний день на территории Павлодарской области функционируют 7 аппаратов Xpert MTB/ RIF, которые установлены не только в крупных городах, но и в отдаленных районах области, что обеспечивает доступность диагностики туберкулеза на районном уровне.

В Павлодарской области методом Xpert/RIF в 2017г. обследовано 1655 пациентов. Положительный результат теста установлен у 493 (29 %) лиц, из них устойчивы к рифампицину 231 пациентов (46 %), чувствительность к рифампицину определена у 262 пациентов (53 %), а отрицательный результат у 1162 пациентов (71 %). К 2021 году количество обследованных выросло до 6086 пациентов. Из них положительный результат теста зарегистрирован у 411 (6,8 %) лиц, из них устойчивость к рифампицину у 247 пациентов (60,0 %), чувствительность к рифампицину у 167 пациентов (40,6 %), а отрицательный результат у 5675 (93,2 %).

Рост обследованных пациентов за 2021 год обусловлен введением нового приказа Министерство здравоохранения от 30 ноября 2020 года №214 «Об утверждении правил проведения мероприятий по профилактике туберкулеза» с изменениями в диагностическом алгоритме.

Стоит отметить, что метод Xpert MTB/ RIF рекомендован экспертной группой ВОЗ в 2020 году использовать как первичный тест диагностики легочного, так и внелегочного туберкулеза и выявление устойчивости к рифампицину.

Основные преимущества Xpert MTB/RIF [7]:

- для диагностики легочного ТБ
- чувствительный и устойчивости к рифампицину у взрослых и детей;
- для диагностики внелегочного ТБ у взрослых и детей;
- ценовая доступность и экономическая

эффективность.

Также, одним из экономичных, простых методов диагностики туберкулеза является - бактериоскопический метод.

Метод микроскопии наиболее быстрый, не требует больших затрат и оценки выявления кислостойчивых бактерий, но обладает ограниченной чувствительностью. Микроскопия не позволяет провести различие между живыми и мертвыми организмами или между чувствительными и устойчивыми к лекарствам организмами. Микроскопия применяется для мониторинга лечения пациентов противотуберкулезными препаратами. Специфичность метода позволяет выявить кислостойчивые бактерии без определения видовой принадлежности микроорганизма. Кроме микобактерии туберкулезного комплекса, обнаруживает нетуберкулезные микобактерии, кислостойчивые сапрофиты [10].

Традиционные культуральные исследования (на плотных или жидких культурах) могут проводиться в национальных или региональных лабораториях. ВОЗ рекомендует использование как плотных, так и жидких культур, и жидкая культура рассматривается как золотой стандарт выявления туберкулеза; кроме того, результаты исследования на жидких культурах получают быстрее, чем результаты исследования на плотных культурах. Культуральное исследование проводится для мониторинга реакции пациентов с МЛУ-ТБ на противотуберкулезную терапию [7].

В настоящее время применение в диагностике туберкулеза нашла генетическая тест-система Hain MTBDR plus. Эта система используется для одновременного обнаружения устойчивости к изониазиду и рифампицину, а также к фторхинолонам и инъекционным препаратам. Время от приема образца для исследования до получения результата составляет 2 дня. В связи с тем, что проведение этого исследования технически более сложно, а сам тест более чувствителен к контаминации образца, чем Xpert MTB/RIF [9]. Среднее время на выявление составляло менее 1 дня для Xpert MTB/RIF, 1 день для микроскопии, 17 дней для посевов на жидких средах и более 30 дней для посевов на плотных средах. Устойчивость к рифампицину выявлялась с помощью Xpert MTB/RIF менее чем за 1 день, тогда как фенотипическое ТЛЧ занимало в среднем 30 дней. Когда результаты Xpert MTB/RIF не использовались в качестве ориентира в терапии, больных туберкулезом с отрицательными результатами бактериоскопии начинали лечить после срединного периода 30 дней, в то время как при использовании результатов Xpert MTB/RIF лечение пациентов начинали после срединного периода в 4 дня [9].

Выводы: Сложная эпидемическая ситуация по туберкулезу в мире требует решения проблемы своевременной диагностики его не только в странах с высоким бременем туберкулеза, но и в развитых странах, где туберкулез до недавнего времени считался побежденным. Достижение целей программы «Остановим туберкулез», которая разработана в 2015 году, возможно только с помощью комплексных мер, в числе которых важнейшее значение имеет совершенствование организации и внедрение новых методов диагностики туберкулеза в первичном звене здравоохранения.

1. Таким образом, возможности современной

лабораторной диагностики туберкулеза, основанной на комплексном использовании микробиологических и новейших ПЦР-технологий, а также обеспечение доступа к эффективной диагностике и лечению туберкулеза, должны позволить изменить эпидемическую ситуацию по туберкулезу в РК в лучшую сторону.

2. В настоящее время по-прежнему «золотым стандартом» в диагностике туберкулеза легких является молекулярно-генетические, бактериологические (его модификации) методы исследования.

3. Применяется инновационный внутрикожный диагностический тест - Диаскинтест, для диагностики туберкулеза, оценки активности процесса и выявления лиц с высоким риском развития активного туберкулеза; дифференциальной диагностики туберкулеза; дифференциальной диагностики поствакцинальной и инфекционной аллергии (гиперчувствительности замедленного типа); оценки эффективности противотуберкулезного лечения в комплексе с другими методами.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1 Приказ Министра здравоохранения Республики Казахстан от 30 ноября 2020 года № ҚР ДСМ-214/2020.
- 2 Киселев В.И., Барановский П.М., Пупышев С.А. и др. Новый кожный тест для диагностики туберкулеза на основе рекомбинантного белка ESAT-6. Мол. мед. - 2008.
- 3 А.М. ТОЛЕМИСОВА, О.А. СИДОРЕНКО, Р.М. БАЛМАХАЕВА, З.С. БЕКБЕНБЕТОВА, Н.К. СМАГУЛОВА Институт последипломного образования при КазНМУ, кафедра гигиены и эпидемиологии.
- 4 18-й Доклад о глобальной борьбе с туберкулезом. - ВОЗ, 2013.
- 5 Старшинова А.А., Павлова М.В., Довгалюк И.Ф., Журавлев В.Ю. Иммунологические и молекулярно-генетические методы диагностики туберкулеза. - Инновационные технологии во фтизиатрии и пульмонологии. - Научная сессия ФГБУ СПб НИИ фтизиопульмонологии, 5.04.2013г
- 6 QuantiFERON®-TB Gold In-Tube Method (IT) www.biochemmack.ru
- 7 Руководство по внедрению диагностического теста Xpert MTB/RIF For more information, please contact: Global TB Programme World Health Organization Avenue Appia 20, CH-1211 Geneva-27, Switzerland www.who.int/tb/en/
- 8 Tuberculosis Prevalence Surveys: a Handbook. Geneva, World Health Organization, 2011. (доступно на http://www.who.int/tb/advisory_bodies/impact_measurement_taskforce/resources_documents/thelimebook/en/index.html).
- 9 Министерство здравоохранения Республики Казахстан Национальный центр проблем туберкулеза МЗ РК, Структура и алгоритмы новейших молекулярно-генетических технологий экспресс диагностики туберкулеза и лекарственной устойчивости в Республике Казахстан, Методические рекомендации Алматы 2013.
10. Национальное руководство по лабораторной службе противотуберкулезных организаций МЗ РК ННЦФ Алматы 2021г.

REFERENCES

1 Prikaz Ministra zdravooohranenija Respubliki Kazahstan ot 30 nojabrja 2020 goda № ҚР DSM-214/2020.
 2 Kiselev V.I., Baranovskij P.M., Pupyshev S.A. i dr. Novyj kozhnyj test dlja diagnostiki tuberkuleza na osnove rekombinantnogo belka ESAT-CFP. Mol. med. -2008.
 3 A.M. TOLEMISOVA, O.A. SIDORENKO, R.M. BALMAHAJEVA, Z.S. BEKBENBETOVA, N.K. SMAGULOVA Institut poslediplomnogo obrazovanija pri KazNMU, kafedra gigieny i jepidemiologii.
 4 18-j Doklad o global'noj bor'be s tuberkulezom. - VOZ, 2013.
 5 Starshinova A.A., Pavlova M.V., Dovgaljuk I.F., Zhuravlev V.Ju. Immunologicheskie i molekularno-geneticheskie metody diagnostiki tuberkuleza. – Innovacionnye tehnologii vo ftiziatirii i pul'monologii. – Nauchnaja sessija FGBU SPb NII ftiziapul'monologii, 5.04.2013g
 6 QuantiFERON®-TB Gold In-Tube Method (IT) www.biochemmack.ru
 7 Rukovodstvo po vnedreniju diagnosticheskogo testa Xpert MTB/RIF For more information, please contact: Global TB Programme World Health Organization Avenue Appia 20, CH-1211 Geneva-27, Switzerland www.who.int/tb/en/
 8 Tuberculosis Prevalence Surveys: a Handbook. Geneva, World Health Organization, 2011. (dostupno na http://www.who.int/tb/advisory_bodies/impact_measurement_taskforce/resources_documents/thelimebook/en/index.html).
 9 Ministerstvo zdravooohranenija Respubliki Kazahstan Nacional'nyj centr problem tuberkuleza MZ RK, Struktura i algoritmy novejsih molekularno-geneticheskikh tehnologij jekspress diagnostiki tuberkuleza i lekarstvennoj ustojchivosti v Respublike Kazahstan, Metodicheskie rekomendacii Almaty 2013.

10. Nacional'noe rukovodstvo po laboratornoj sluzhbe protivotuberkuleznyh organizacij MZ RK NNCF Almaty 2021g.

Вклад авторов. Все авторы принимали равносильное участие при написании данной статьи.

Конфликт интересов – не заявлен.

Данный материал не был заявлен ранее, для публикации в других изданиях и не находится на рассмотрении другими издательствами. При проведении данной работы не было финансирования сторонними организациями и медицинскими представительствами. Финансирование – не проводилось.

Авторлардың үлесі. Барлық авторлар осы мақаланы жазуға тең дәрежеде қатысты.

Мүдделер қақтығысы – мәлімделген жоқ.

Бұл материал басқа басылымдарда жариялау үшін бұрын мәлімделмеген және басқа басылымдардың қарауына ұсынылмаған. Осы жұмысты жүргізу кезінде сыртқы ұйымдар мен медициналық өкілдіктердің қаржыландыруы жасалған жоқ. Қаржыландыру жүргізілмеді.

Authors' Contributions. All authors participated equally in the writing of this article.

No conflicts of interest have been declared.

This material has not been previously submitted for publication in other publications and is not under consideration by other publishers. There was no third-party funding or medical representation in the conduct of this work. Funding - no funding was provided.

Информация об авторах:

№	ФИО полностью	Должность полностью	Место работы полностью	Ученое звание (если имеется)	Эл. почта	Номер телефона
1	Мусин Даулетбек Сеикович	Руководитель	КГКП «Павлодарский областной центр фтизиопульмонологии»		dotspv@mail.ru	87015590641
2	Маркина Виолетта Сергеевна	Заведующая консультативно-диагностическим отделением	КГКП «Павлодарский областной центр фтизиопульмонологии»		viola_05_08_85@mail.ru	87077545411
3	Гапурхаева Мак Эсмановна	Заведующая лабораторией	КГКП «Павлодарский областной центр фтизиопульмонологии»			870160404231