

## Методы диагностики туберкулеза в современных условиях

А.И. БАРБОВА

г. Киев

*В работе приведены основные современные методы бактериологической диагностики туберкулеза, их эффективность, преимущества, недостатки и перспективы использования для практического здравоохранения.*

**Ключевые слова:** туберкулез, микобактерия туберкулеза, диагностика

На сегодняшний день туберкулез остается одной из самых актуальных проблем современной медицины. К основным особенностям заболевания в современных условиях необходимо отнести негативную динамику всех эпидемиологических показателей, увеличение количества деструктивных и запущенных случаев заболевания с тяжелым клиническим течением, увеличение заболеваемости в группах риска, высокую смертность, ко-инфекцию ВИЧ/СПИДа, а также изменение биологических особенностей микобактериальной популяции, важнейшими из которых является медикаментозная устойчивость [1, 2, 3].

Нельзя не учитывать негативную роль дезадаптационных изменений на фоне интенсивных психоэмоциональных стрессовых ситуаций, которые сопровождаются снижением иммунного статуса организма. Все эти факторы приводят к снижению эффективности лечения больных туберкулезом [4, 5].

В сложившейся ситуации раннее выявление случаев и своевременная диагностика туберкулеза являются приоритетными задачами современной фтизиатрии и необходимы для назначения адекватного лечения, прекращения бактериовыделения, предотвращения развития химиорезистентности и распространения туберкулеза. Использование современных методов диагностики являются основой для проведения эпиднадзора за туберкулезом и соответствующих профилактических мероприятий [6, 7].

На заседании Берлинского физиологического общества 24 марта 1882 года Роберт Кох выдвинул основные постулаты-критерии, которые до настоящего времени остаются актуальными для бактериологической верификации диагноза «туберкулез» и оценки патогенности возбудителя: «Для доказательства того, что причиной туберкулеза является заражение бациллами, необходимо следующее:

1. Выделить бациллы из организма;
2. Получить чистую культуру
3. Воспроизвести специфический инфекционный процесс, используя экспериментальных животных, выделив от них именно этот, введенный микроорганизм».

Биологическая проба ушла в историю, на смену пришли современные технологии.

В настоящее время бактериологические исследования в лабораторной диагностике туберкулеза являются приоритетными. Это связано с инфекционной природой заболевания, возбудитель которого должен быть выявлен и изучен [8, 9]. Частота выявления микобактерий зависит от многих факторов. Это прежде всего применяемые методики диагностики, эффективность которых различна, оснащение лабораторий, квалификация кадров, информативность образцов доставляемого материала, наличие биобезопасности при работе с образцами, которая предотвращает их контаминацию при проведении исследований [10, 11].

Современные методы диагностики туберкулеза можно условно поделить на 2 большие группы:

– *фенотипические методы* – это классические (рутинные) методы диагностики, которые широко используются в настоящее время в практических бактериологических лабораториях противотуберкулезных учреждений Украины. Они хорошо изучены – это световая бактериоскопия, а также культуральный метод диагностики, позволяющий осуществить выделение возбудителя, его идентификацию и тест медикаментозной чувствительности [10];

– *молекулярно-генетические технологии*, используемые для выявления возбудителя, его идентификации и постановки теста медикаментозной чувствительности [10].

Каждый из применяемых методов имеет свое диагностическое значение, преимущества, недостатки и перспективы развития.

**Метод бактериоскопии** используется в Украине во всех лабораториях общей лечебной сети (ОЛС) для выявления бактериовыделителей и лабораториях противотуберкулезных учреждений для дальнейшего бактериологического подтверждения диагноза [10].

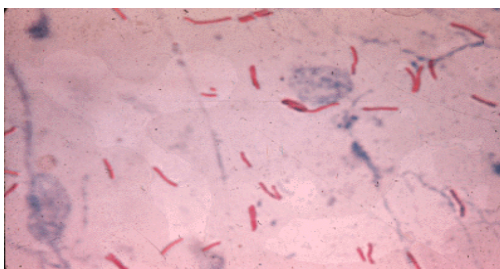


Рис. 1. Микобактерии туберкулеза в мазке мокроты, окраска по Цилю-Нильсену.  
Ув.  $\times 1000$ .

Преимущества метода [11, 12]:

- Простой, доступный, надежный, быстрый метод диагностики.
- Легко поддается стандартизации:

– позволяет сравнивать результаты вне зависимости от того, где они произведены;

– облегчает обучение персонала;

– позволяет объективно оценить работу.

• Не требует дорогостоящего высокотехнологического оборудования и дорогих расходных материалов, отдельных рабочих помещений.

• Более дешевый по сравнению с другими методами исследования.

• Легко осуществим при подозрении на туберкулез.

• Точно указывает на эпидемически опасные случаи, поскольку все больные с положительным мазком фактически являются настоящими случаями туберкулеза.

• При позитивном результате позволяет сразу назначить лечение.

Недостатки метода [11]:

• Чувствительность метода – 5000–10000 клеток в мл, при этом выявляется до 50,0% бактериовыделителей, поэтому данный метод не позволяет диагностировать случаи заболевания со скудным бактериовыделением (на ранних стадиях болезни).

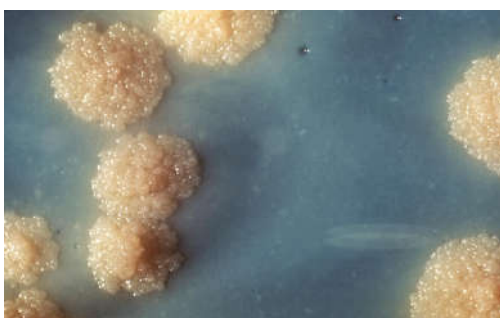
• Не позволяет идентифицировать кислотоустойчивые бактерии (КУБ) при обнаружении их в образцах клинического материала.

В настоящее время в Украине диагностическая эффективность метода бактериоскопии для выявления случаев заболевания в ОЛС, составляет 2,3%. По рекомендациям ВОЗ он должен достигать 5,0–10,0% [11].

В специализированных лабораториях туб. профиля его эффективность не превышает 42,0%, что значительно ниже индикатора ВОЗ (50,0–55,0%). Метод световой микроскопии является также незаменимым для идентификации выделенных культур микобактерий [10].

#### **Метод культуральной диагностики.**

В Украине для реализации этого метода используются твердые яичные питательные среды в классическом варианте [10]. С 2009 года в большинстве областей начато внедрение технологии жидких питательных сред MGIT с использованием автоматизированной системы ВАСТЕС 960 для выделения микобактерий и определение их медикаментозной чувствительности.



*Рис. 2. 3-х недельная культура МБТ на среде Левентейна-Йенсена. Ув.×5.*

Преимущества метода [10, 11, 13]:

- Позволяет установить окончательный диагноз при подозрении на туберкулез.
- Позволяет увеличить число выявленных случаев туберкулеза, нередко на 20–40%.
- Позволяет провести идентификацию и определить медикаментозную чувствительность выделенной культуры и внести коррективы в тактику лечения конкретного больного.
- Позволяет проводить эпиднадзор и мониторинг за медикаментозной устойчивостью возбудителя, что является интегральной частью определения эффективности программ борьбы с туберкулезом.
- Позволяет проводить диагностику случаев заболевания у пациентов с клиническими и рентгенологическими признаками легочного туберкулеза при повторно отрицательных результатах бактериоскопического исследования.
- Позволяет диагностировать внелегочные формы туберкулеза и случаев заболевания у детей.
- Позволяет проводить контрольное обследование больных туберкулезом с отрицательными результатами проведения стандартного курса химиотерапии и с риском наличия химиорезистентных МБТ.
- Позволяет проводить обследование представителей групп повышенного риска, у которых имеются симптомы заболевания.
- Чувствительность метода – 100 бактериальных клеток/мл материала.
- Позволяет диагностировать случаи заболевания у лиц с незначительным бактериовыделением.
- Позволяет выявлять заболевание в более ранние сроки.

*Преимущества метода с применением жидкой среды в автоматизированной системе ВАСТЕС-960 [14, 15]:*

- Достигается увеличение случаев положительного роста культуры на 15–20% по сравнению с плотными питательными средами.
- Достигается быстрая диагностика (рост микобактерий возможен с 3-го дня, средний период положительности роста составляет 8–14 дней) по сравнению с 3–5 неделями для плотной среды.
- Отрицательный результат посева выдается через 6 недель, при работе с плотными средами – через 10 недель
- Протокол теста медикаментозной чувствительности составляет 14 дней, при работе с плотными средами – 42 дня
- Методика посева на жидкую питательную среду с применением аппарата ВАСТЕС-960 предусматривает одновременное проведение световой микроскопии и посева на плотные питательные среды из каждой исследуемой пробы.

- В связи с более тщательной обработкой образцов позволяет сократить количество исследуемых проб с целью диагностики до 2-х и снизить стоимость культурального исследования.



*Рис. 3. Автоматизированная система BASTEC-960 для выделения микобактерий и определения их медикаментозной чувствительности.*



*Рис. 4. Свечение позитивной культуры МБТ, выделенной в жидкой среде в аппарате BASTEC-960.*

Недостатки метода культуральной диагностики [11]:

- Является более дорогостоящей.
- Требуется специальное оборудование. В первую очередь, ламинары, антиаэрозольные центрифуги.
- Трудоемкая, особенно на жидких средах.
- Выполняется специально обученным персоналом. Требуется частое проведение ретренингов.
- Занимает длительное время от момента посева до выдачи окончательного результата.
- Требуется дополнительных помещений, корректной работы вентиляции.

В соответствии с рекомендациями ВОЗ, культуральная диагностика на твердых питательных средах позволяет диагностировать 85,0% случаев легочного туберкулеза [11]. По Украине этот показатель не превышает 48,0%. В некоторых областях эффективность выше – 55,0–65,0%. С внедрением жидких сред процент диагностики туберкулеза должен повыситься до 90,0%.

#### **Молекулярно-генетические технологии.**

На сегодняшний день в Украине молекулярно-генетические технологии в диагностике туберкулеза не используются. Однако эти методики являются перспективными. Важно отметить, что ВОЗ рекомендует применять те из них, которые дают возможность не только выделить ДНК возбудителя и провести его идентификацию, но и быстро определить медикаментозную резистентность. Наиболее значимым

является метод, основанный на гибридизации с ДНК-зондами, так называемая *ДНК-стрип технология* или *Hain-тест* [15, 16].

Эта методика позволяет:

- Дифференцировать микобактерии туберкулезного комплекса – *M.tuberculosis* complex: *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. bovis* BCG, *M. africanum*, *M. caprae*, *M. microti*, *M. canetti*.
- Идентифицировать 30 видов клинически значимых нетуберкулезных микобактерий.
- Определить медикаментозную чувствительность к изониазиду и рифампицину.
- Определить медикаментозную чувствительность к этамбутолу, фторхинолонам, аминогликозидам и циклическим пептидам.

Данная технология включает несколько этапов [16]:

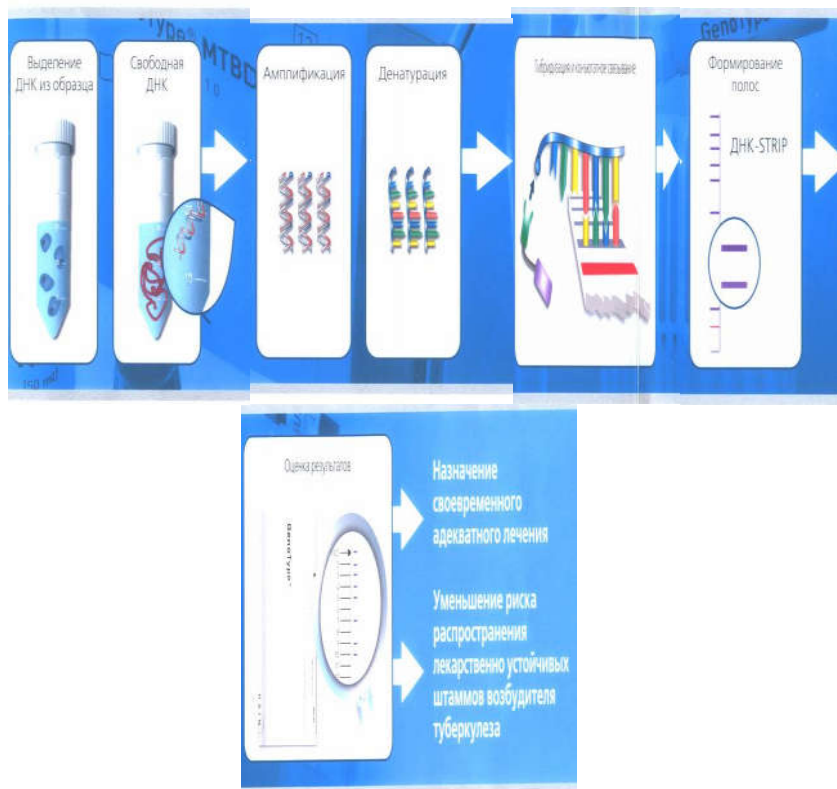


Рис. 5. Схема исследования с применением Hain-теста.

- Выделение ДНК микобактерий из исследуемых образцов.
- Полимеразной цепной реакции с применением праймеров для амплификации фрагментов генов, ассоциированных с медикаментозной устойчивостью.
- Гибридизации продуктов амплификации с ДНК-зондами, иммобилизованными на стрипах.
- Оценки результатов гибридизации. Проводится детекция наличия микобактерий комплекса *M.tuberculosis*, а также наличие мутаций в

исследуемых генах, отвечающих за развитие устойчивости к лекарственным препаратам 1-го и 2-го ряда.

Преимущество метода [16]:

– Высокая чувствительность и специфичность метода при определении медикаментозной чувствительности – 99,0%.

– Скорость определения медикаментозной устойчивости – 4–5 ч.

Применение метода приводит к назначению своевременного адекватного лечения и уменьшению риска распространения штаммов возбудителя туберкулеза с медикаментозной устойчивостью.

Важно отметить, что данная методика позволяет проводить исследование образцов мокроты с позитивным результатом бактериоскопии на КУБ, а также культур МБТ, выросших на жидких средах в автоматизированной системе ВАСТЕС-960 или твердых питательных средах. Эффективность конечного результата с помощью Hain-теста будут зависеть от того, какие образцы будут исследованы [16].

В случае исследования образцов мокроты ДНК возбудителя будет выделена только из проб с позитивным результатом бактериоскопии на КУБ. Однако, как известно, метод бактериоскопии позволяет диагностировать всего 55,0% случаев бактериовыделения при условии, что в 1 мл мокроты должно содержаться большое количество микробных клеток – 5000–10000. Следовательно, в данном случае, количество определений методом ДНК-стрип будет ограничиваться количеством позитивных бактериоскопий.

Исследование позитивных культур, выделенных в жидкой среде с применением автоматизированной системы или на твердой питательной среде, существенно увеличит количество определений с помощью Hain-теста, поскольку эффективность выделения МБТ в данном случае может достигать 80,0–90,0%. Однако в данном случае возрастут затраты на одно исследование.

В настоящее время в странах Западной Европы данная молекулярно-генетическая технология применяется не только для экспресс-диагностики туберкулеза, но и при проведении эпиднадзора за медикаментозной устойчивостью возбудителя туберкулеза.

### **Выводы**

Современный этап бактериологической диагностики туберкулеза характеризуется активным внедрением в практическую деятельность высокотехнологических методов наряду с существующими классическими. Каждый из методов имеет свою диагностическую нишу, но несравненно больший эффект достигается при внедрении «диагностической цепочки», заключающейся прежде всего в единой обработке биологических проб, полученных от лиц с подозрением на туберкулез, для последующего проведения бактериоскопии, традиционного



культивування на щільних поживних середовищах, прискореної культуральної детекції МБТ на рідких середовищах в автоматизованих системах з подальшим визначенням медикаментозної стійкості та молекулярно-генетических досліджень. Саме такий підхід є найбільш раціональним і ефективним для бактеріологічної верифікації діагнозу «туберкульоз».

### Література

1. Фещенко Ю.І. Туберкульоз: організація діагностики, лікування, профілактики та контролю за смертністю / Ю.І. Фещенко, В.М. Мельник, Л.В. Турченко [та ін.]. – К.: Здоров'я, 2010. – 447 с.
2. Фещенко Ю. І. Стан надання фтизіатричної допомоги населенню України / Ю.І. Фещенко // Укр. пульмонол. журн. – 2008. – № 3. Додаток. – С. 7–9.
3. Журило О. А. Біологічні властивості *M. tuberculosis*, виділених від хворих з первинною медикаментозною стійкістю / О.А. Журило, А.І. Барбова, П.С. Трофімова [та ін.] // Укр. пульмонол. журн. – 2005. – № 3. – С. 51–53.
4. Фещенко Ю.І. Сучасна стратегія боротьби з туберкульозом в Україні / Ю.І. Фещенко, В.М. Мельник. – К.: Здоров'я, 2007. – 664 с.
5. Попович В.К. Туберкульоз: розвиток епідемії [метод. посібник] / В.К. Попович, І.М. Сон. – М., 2005. – 24 с.
6. Фещенко Ю.І. Сучасні методи діагностики, лікування і профілактики туберкульозу / Ю.І. Фещенко, В.М. Мельник. – К.: Здоров'я, 2002. – 904 с.
7. Туберкульоз виявлення, лікування і моніторинг по К. Томену. Вопросы и ответы / Под ред. Т. Фридена. – Женева: ВОЗ, 2004. – 387 с.
8. Фещенко Ю.І. Організація протитуберкульозної допомоги населенню / Ю.І. Фещенко, В.М. Мельник. – К.: Здоров'я, 2006. – 656 с.
9. Наказ МОЗ України від 15 листопада 2005 р. № 610 «Про впровадження в Україні Адаптованої ДОТС-стратегії».
10. Наказ МОЗ України від 06 лютого 2002 р. № 45 «Про затвердження Інструкції з бактеріологічної діагностики туберкульозної інфекції».
11. Cantor I. N. Laboratory services in tuberculosis control / I.N. Cantor, S.J. Kim, Th. Frieden [et al.]. – Geneva: WHO, 1998. – Part 1 «Organisation and management». – 63 p. – Part 2 «Microscopy». – 61 p. – Part 3 «Culture». – 85 p.
12. Ліпкан Г.М. Лабораторна діагностика туберкульозу та контроль за якістю бактеріоскопічних досліджень / Г.М. Ліпкан, В.Г. М'ясніков, Т.Л. Сакун [та ін.]. – К.: Медицина, 2006. – 128 с.
13. Культуральные методы диагностики туберкулеза [учебное пособие] / Под ред. В.В. Ерохина. – М., 2008. – 208 с.
14. Барбова А.І. Застосування автоматизованої системи MGIT для діагностики туберкульозу легень і визначення медикаментозної стійкості мікобактерій: [метод. рекомендації] / А.І. Барбова, Г.А. Жемкова, О.А. Журило [та ін.]. – К., 2007. – 23 с.
15. Navelkova M. Guidelines for surveillance of drug resistance in tuberculosis. – 4<sup>th</sup> ed. / M. Navelkova, M. Ismail, H. Hoffmann [et al.]. – Geneva: WHO, 2009. – 83 p.
16. Энэрсон Д. Молекулярные методы (гибридизация с ДНК-зондами) для ускоренного скрининга пациентов с повышенным риском развития мультирезистентного туберкулеза: официальные рекомендации ВОЗ. [Перевод с англ.] / Д. Энэрсон, С. Руж-Гердес, Х. Ридер [и др.]. – Женева: ВОЗ, 2008. – 17 с.



## Методи діагностики туберкульозу в сучасних умовах

**А.І. БАРБОВА**

*У роботі представлені основні сучасні методи бактеріологічної діагностики туберкульозу, їх ефективність, переваги, недоліки та перспективи використання для практичної охорони здоров'я.*

**Ключові слова:** туберкульоз, мікобактерія туберкульозу, діагностика

## Methods of up-to-date diagnosis of tuberculosis

**A.I. BARBOVA**

*In this work the main up-to-date methods of bacteriological diagnosis of tuberculosis as well as their efficiency, advantages shortcomings and perspectives of their use in health service are represented.*

**Key words:** tuberculosis, *Mycobacterium tuberculosis*, diagnosis

УДК: 616.98 : 578.828:6] : 355 : 614.4

## Організація роботи 27 санітарно-епідеміологічного загону (регіонального) щодо гігієнічного виховання військовослужбовців з питань профілактики ВІЛ/СНІДу

**В.А. БАРКЕВИЧ, М.В. ТВЕРЕЗОВСЬКИЙ, Д.В. ЛОБАРЬОВ**

*м. Київ, м. Одеса*

*ВІЛ/СНІД в Україні залишається актуальною проблемою. З кожним роком зростає захворюваність та смертність від цієї небезпечної хвороби. Для Збройних Сил України, як невід'ємної частини суспільства, питання профілактики ВІЛ-інфекції є не менш актуальною проблемою, тому питання формування безпечної поведінки, прихильності до здорового способу життя військовослужбовців є пріоритетом у діяльності державної санітарно-епідеміологічної служби МО України.*

**Ключові слова:** ВІЛ-інфекція, військовослужбовці, гігієнічне виховання

ВІЛ-інфекція являє собою загрозу для громадського та економічного розвитку країн та континентів, для людей у найбільш плідний період їхнього життя, матерів та дітей, сімей та народів. Вона порівняна з екологічною катастрофою. Масштаби кризи, пов'язаної зі СНІД, перевершили всі найгірші сценарії десятирічної давнини. Десятки країн, охоплені повномасштабними епідеміями ВІЛ/СНІД, і ще більше знаходяться на межі епідемії. З кожним роком зростає захворюваність та смертність від цієї небезпечної хвороби. Проблема ВІЛ/СНІДу в Україні залишається актуальною. ВІЛ/СНІД вже давно перестали бути суто