

К ВОПРОСУ О СОВРЕМЕННЫХ ЛАБОРАТОРНЫХ МЕТОДАХ ВЫЯВЛЕНИЯ ТУБЕРКУЛЁЗА



Пардаева Угулой Джамоловна¹, Шукуров Говсиддин Назарович², Исмаилов Умидбек Кипчакбаевич², Бердияров Улугбек Муродуллаевич²

1 - Самаркандский государственный медицинский университет, Республика Узбекистан, г. Самарканд;

2 - Самаркандский областной центр фтизиатрии и пульмонологии, Республика Узбекистан, Самаркандский район

ТУБЕРКУЛЁЗНИ АНИҚЛАШНИНГ ЗАМОНАВИЙ ЛАБОРАТОРИЯ УСУЛЛАРИ ТАҲЛИЛИ

Пардаева Угулой Джамоловна¹, Шукуров Говсиддин Назарович², Исмаилов Умидбек Кипчакбаевич², Бердияров Улугбек Муродуллаевич²

1 - Самарканд давлат тиббиёт университети, Ўзбекистон Республикаси, Самарканд ш.;

2 - Самарканд вилояти фтизиатрия ва пульмонология маркази, Ўзбекистон Республикаси, Самарканд тумани

TO THE QUESTION OF MODERN LABORATORY METHODS OF TUBERCULOSIS DETECTION

Pardaeva Uguloy Djamolovna¹, Shukurov Govsiddin Nazarovich², Ismailov Umidbek Kipchakbaevich², Berdiyarov Ulugbek Murodullaevich²

1 - Samarkand State Medical University, Republic of Uzbekistan, Samarkand;

2 - Samarkand Regional Center of Phthisiology and Pulmonology, Republic of Uzbekistan, Samarkand Region

e-mail: pardaevauguloy@gmail.com

Резюме. Европанинг шарқий қисмида ва Жануби-шарқий Осиё мамлакатларида сил касаллиги бўйича эпидемиологик вазият жамоатчиликнинг ижтимоий ҳаётида хавотирли муаммо бўлиб қолмоқда. Тадқиқотимизнинг мақсади замонавий босқичда сил касаллигини таъхислашнинг лаборатория усулларининг ҳал қилувчи қобилиятини ва унинг саломатликни яхшилаш омилларидан бири сифатидаги аҳамиятини ўрганишдан иборат. Мақолада республикамизда соғлиқни сақлаш соҳасига ислохотларни жорий этишни назарда тутувчи меъёрий ҳужжатлар ва адабиётлар шарҳи маълумотлари келтирилган. Юқори технологик лаборатория тестлари ва тезлаштирилган бактериологик усуллари жорий этиши, маълум бир дори воситасига микобактерияларнинг минимал концентрациясини аниқлаш имконини беради, бу эса адекват кимётерапия имкониятини яратади. Самарканд вилоятидаги турли даражадаги даволаш-диагностика таъхилотларида беморда ўзига хос касалликни таъхислаш босқичлари ёритилган. Ишимизни яқунлар эканмиз, Ўзбекистон Республикасида соғлиқни сақлаш соҳасида амалга оширилаётган ислохотларнинг аҳамиятини таъкидлаш керак, улардан бири тиббиётга юқори технологияли лаборатория тадқиқот усуллари жорий этишидир. GeneXpert® MTB/Rif технологияси энг янги мултиплек амплификация тизимидан фойдаланган ҳолда, M.tuberculosis complex ДНКсини ва силга қарши дориларга сезувчанликни реал вақт режимида аниқлаш имконини беради. Културал усул VASTES MGIT 960 аппарати ёрдамида I ва II қатор антибактериал препаратларга суяқ озуқа муҳитлари билан ўтказилади. Тезлаштирилган таъхислаш ва ўз вақтида ўтказилган адекват комплекс даволаш беморнинг турли аъзолари ва тизимларининг сил билан зарарланишида соғайиш ва ногиронликни камайтириши гаровидир.

Калим сўзлар: туберкулёз (ТБ), туберкулёз микобактериялари (ТМВ), молекуляр-генетик усуллар, дориларга чидамлик, бирламчи тиббий ёрдам (БТЁ).

Abstract. The epidemiologic state of tuberculosis in the eastern part of Europe and in the countries of southeast Asia remains an alarming problem in the social life of the public. The aim of our study was to investigate the resolving ability of laboratory methods of tuberculosis diagnosis at the present stage, and its importance as one of the factors of improving public health in the structure of infectious diseases in the region of Samarkand province. The article presents fragments of literature review and data of normative documents, providing for the introduction of reforms in public health care in our country. Introduction of high-tech laboratory tests and accelerated bacteriological methods with the possibility of determining the minimum concentration of mycobacteria on a certain drug in a minimum concentration, with which there is a possibility of adequate chemotherapy. Stages of diagnostics of a specific disease in a patient at different levels of medical-diagnostic organizations in Samarkand region are highlighted. Summarizing the results of our work, it is necessary to emphasize the importance of ongoing reforms in health care in the Republic of Uzbekistan, one of which is the introduction of high-tech laboratory methods of research in medicine. GeneXpert® MTB/Rif technology using the newest system with multiplex amplification allows detection of M.tuberculosis complex DNA and sensitivity to anti-tuberculosis drugs in real time. Culture method is carried out by VASTES MGIT 960 apparatus with liquid nutrient media for antibac-

terial drugs of I series and II series. Accelerated diagnosis and timely adequate comprehensive treatment are the key to recovery and reduction of disability in tuberculosis lesions of various organs and systems of the patient.

Keywords: tuberculosis (TB), *Mycobacterium tuberculosis* (MTB), molecular genetic methods, drug resistance, Primary Health Care (PHC).

Актуальность исследования соответствует к современным требованиям борьбы против туберкулёза (ТБ), так как своевременное выявление, правильная диагностика и лечение, с гарантией излечения и выздоровления больного. Постановление Президента Республики Узбекистан, от 20.01.2023 г. № ПП-12 «О мерах по дальнейшему развитию службы фтизиатрии и пульмонологии в 2023 — 2026 годах». В республике осуществляется целенаправленная работа по охране здоровья населения и защите от туберкулёзной инфекции, профилактике распространения туберкулёза и неспецифических заболеваний лёгких. Охват экспресс генномолекулярной диагностикой, определяющий резистентность МБТ к препаратам 1-го ряда, и в особых случаях противотуберкулёзным препаратам 1-го и 2-го ряда — до 120 тысяч исследований в год. Улучшение качества жизни и обучение основам профилактики обострения больных неспецифическими заболеваниями лёгких, путём организации при многопрофильных центральных поликлиниках «школ астмы и хронических обструктивных заболеваний лёгких» [5].

Группой «Новые Методы Диагностики» Партнерства Стоп ТБ, Фондом Инновационных Методов Диагностики (FIND), Глобальной Лабораторной Инициативы (GLI), Всемирной Организацией Здравоохранения (ВОЗ), Компанией «HainLifescienceGmbH» и неправительственными агентствами разработано 11 новых методов диагностики ТБ и МЛУ ТБ [1-3,9].

Достаточно широко в последнее десятилетие применяется современный метод диагностики специфической инфекции - полимеразная цепная реакция, которая основанная на определении патологического ДНК микобактерий туберкулёза. В современных методических рекомендациях предоставлены новейшие данные по молекулярно-генетическим экспресс методам выявления резистентности к основным препаратам изониазиду и рифампицину, позволяющим в течении 2-х суток выявить мультирезистентный туберкулез (GenoTypeMTBDRplus, GenoTypeMTBDRplus 2.0 с МБТ и туберкулёза с широкой лекарственной устойчивостью (GenoType MTBDRSI) и отдифференцировать туберкулезные штаммы от атипичных микобактериозов (GenoType Mycobacterium CM) [4-5,9]. Под руководством нашего правительства и республиканским научным центром пульмонологии и туберкулеза, проводятся масштабные работы по борьбе с туберкулёзом. По всей республике и в частности в нашей Самаркандской области согласно приказа министерства здравоохранения Республики Узбекистан (№ 383 от 24.10.2014 г.), поэтапно внедрены новые инновационные высокотехнологические методы диагностики, успешные схемы лечения и профилактики ТБ. Большие возможности дают быстрые молекулярно-биологические методы диагностики ТБ, которые основаны на выявлении мутации в генах МБТ с феноменом лекарственной устойчивости.

Цель исследования. Целью нашего исследования явилось изучить разрешающие способности лабораторных методов диагностики туберкулёза на современном этапе, и его значение как один из факторов улучшения здоровья населения в структуре инфекционных заболеваний в регионе самаркандской области.

Материалы и методы исследования. Нами проанализированы существующие лабораторные методы диагностики первичного звена и новые инновационные методы диагностики ТБ в самаркандском областном центре фтизиатрии и пульмонологии за последние 10 лет.

На этапе первичных лечебно диагностических учреждениях при диагностики туберкулёза в основном используется бактериоскопический метод исследования патологического материала окраски по Цилю-Нильсена, который имеет относительно низкую разрешающую способность (чувствительность 25–65% по сравнению с бактериологическим методом), однако прост в исполнении для первичного лечебно диагностического звена и не дорогой метод исследования для нашего контингента больных [6-8].

На амбулаторном уровне в современном этапе врачи общей практики и фтизиатры в учреждениях ПМСП, при подозрении на туберкулёз органов дыхания у пациента проводит следующие минимальные диагностические обследования:

К обязательным методам обследования входят: сбор жалоб, анамнеза заболевания и жизни пациента, физикальные методы обследования, общеклинические анализы.

На рисунке 1 указан комплекс лабораторной диагностики ТБ органов дыхания в лаборатории III - IV уровня, в виде диагностического алгоритма выполняемой врачами общей практики и фтизиатрами в учреждениях ПМСП.

Своевременное выявление специфического заболевания лёгких среди населения проводится согласно по указанному алгоритму.

На рисунке 1 «диагностический алгоритм выявления туберкулёза лёгких в лаборатории III и IV уровня» подробно указаны пошаговое выполнение лабораторных методов обследования: 2-х кратное исследование мокроты: порция А – Xpert MTB RIF/ Ultra + микроскопия КУБ, порция В – посев + микроскопия КУБ; Обзорная рентгенограмма органов грудной клетки в 2-х проекциях.

По показаниям проводят дополнительные и функциональные методы обследования: Иммунологические тесты - проба Манту, Диаскин тест. Биохимические анализы крови - креатинин, АЛТ, АСТ, глюкоза крови, С реактивный белок; Анализ крови на ВИЧ; Исследование функции внешнего дыхания (ФВД); МСКТ органов грудной клетки и средостения; Электрокардиографическое обследование (ЭКГ).



* Предпочтительно люминесцентная микроскопия. В случае если КУБ положительный необходимо поставить HAIN 1 или 2 ряда;

** В зависимости результатов порции Б действовать согласно Приложению 8;

*** Для повторных случаев М/ШЛУ-ТБ не повторять Xpert MTB RIF / Ultra.

Рис. 1. Диагностический алгоритм выявления туберкулёза лёгких лаборатории III - IV уровня

Таблица 1. Забор патологического материала для лабораторного обследования при внелегочном туберкулёзе

Локализация предполагаемого туберкулёза	Соответствующий образец для GeneXpert и посева / ТЛЧ
Менингит	СМЖ – люмбальная пункция
Лимфаденопатия	Аспират лимфатического узла
Перитонеальный туберкулёз	Аспират асцитической жидкости
Плевральный туберкулёз	Аспират плевральной жидкости
ТБ легких (дети младшего возраста)	Желудочный аспират и индукция мокроты
Другая локализация	Гной, кости, ткани и пр.

Таблица 2. Основные эпидемиологические показатели туберкулёза по Самаркандской области

Исследуемый период	Заболееваемость	Болезненность	Смертность
2021	49,5	124,28	5,59
2022	51,9	10,0	1,1
2023	42,55	96,8	1,2
2024	41,7	71,7	0,5

На уровне диспансера начиная с 2015 года, эффективно используется метод люминесцентной микроскопии (ЛМ) и культуральные методы согласно диагностическому алгоритму: автоматизированный анализ тестов на основе полимеразной цепной реакции (ПЦР) GeneXpert MTB/RIF (Xpertc), 2018года Geno Type MTBDRplus (HAIN-test), с 2019 года автоматизированная система ВАСТЕС MGIT 960 для бактериологического метода исследования.

Технология GeneXpert® MTB/Rif основана на систему с мультиплексной амплификацией, который позволяет детектировать ДНК *M.tuberculosis complex* и чувствительность к противотуберкулёзному препарату рифампицин в режиме реального времени.

Больным обратившимся в диспансерное отделение для обследования с подозрением на ТБ лёгких, исследуется мокрота методом люминесцентной микроскопии, который располагает большей разрешающей способностью с более точным результатом, что на 10% точнее по сравнению с окраской по Цилю-Нильсена.

Однако люминесцентная микроскопия требует особые условия, где используются органические красители и бинокулярный микроскоп с дополнительным освещением. Всем пациентам при обращении в диспансер проводятся чувствительность к антибактериальным препаратам, для экстренного выявления возбудителя ТБ с одновременным определением его устойчивости к рифампицину, используется высокочувствительный, специфичный и быстрый метод, катриджные технологии метод GeneXpert MTB/RIF и HAIN-test.

На этапе стационарного лечения для определения эффективности лечения патологический материал больного (мокрота, промывные воды бронхов, выделения из свищей и операционный материал, различные жидкости; плевральная, спинномозговая, брюшная, моча) исследуется для выявления ДНК МБТ методами ПЦР ко всем существующим АБП как первого, так и второго ряда, которые дают возможность получить результат в течение не более 24 часов. Перед началом лечения больным проводятся молекулярно-

генетические методы диагностики ЛУ МБТ к рифампицину (наличию устойчивости к рифампицину не исключает вероятности также устойчивости и к изониазиду), а при определении множественно ЛУ (МЛУ) к препаратам резервного ряда к фторхинолонам. Учитывая широкое распространение случаев МЛУ-ТБ и широко- лекарственную устойчивость (ШЛУ-ТБ), с целью получения данных по всему спектру устойчивости МБТ, производится одномоментное тестирование лекарственной чувствительности к ПТП I и II ряда.

Также для определения лекарственной чувствительности МБТ используется аппарат ВАСТЕС MGIT 960 с жидкими питательными средами к ПТП I ряда (изониазид, рифампицин, пипразинамид, стрептомицин, этамбутол) и II ряда (этионамид, протионамид, левофлоксацин, офлоксацин, амикацин, циклосерин, капреомицин). Посев патологического материала обладает высокой чувствительностью со способностью определить меньшую бактериальную нагрузку с 10–100 МБТ в 1мл.

При малой активности МБТ больше информации можно получить фенотипическим методом определения тест на лекарственную чувствительность (ТЛЧ).

Бактериологический метод даёт больше возможностей в диагностике МБТ в патологическом материале, при минимальном количестве возбудителей с данными выявлять реакцию изолята на определённый препарат в минимальной концентрации, известной также как минимальная ингибирующая концентрация (МИК). Тесты основаны на измерении роста *M. tuberculosis* в жидких (MGIT) или твёрдых (Левенштейна-ЙенсенаЛЙ) питательных средах, содержащих «критическую» концентрацию препарата. Результаты ТЛЧ обычно доступны примерно через 4 недели после получения положительного результата посева. Для выявления вида лекарственной устойчивости методы MGIT и ЛЙ на ТЛЧ имеют одинаковое диагностическое значение. На первых порах лабораторного обследования выполняется ТЛЧ на MGIT, учитывая преимущества выполнения за короткий срок. Однако для контроля качества точности и мониторинга, наиболее информативным считается ТЛЧ на ЛЙ. При диагностике внелегочного туберкулёза посев мокроты является эффективнее мазка мокроты, из-за скудного выделения МБТ. Разрешающая способность бактериологического метода 10–100 микробактерий в одном мл. патологического материала.

Улучшилась диагностика и дифференциальной диагностики экстрапульмонального туберкулёза, с выявлением МБТ в плевральных экссудатах, в спинномозговых жидкостях, в жидкостях брюшной полости в операционном материале при не осложнённого течения внелегочного туберкулёза (таблица №2).

Результаты. На современном этапе лаборатория областного центра нашего диспансера оснащена новейшими оборудованьями с высоким уровнем чувствительности и эффективности выявления устойчивости. Имеется три вида генотипических тестов с катриджной системой: Xpert MTB/RIF, Hain LPA для выявления МЛУ-ТБ (Hain MDRTVplus) и Hain LPA для выявления лекарственной устойчивости к препаратам 2-го ряда (Hain MTBDRsl). Время для работы тестов максимально за 2, 24 часа. Тест основан на амплифи-

кации ДНК инфекционных бактерий, следствии выявления мутации в гене *groV*, с обхватом до 95-97%. Чувствительность до 98%, и по сравнению с методом посева чувствительностью и специфичностью до 98%. Своевременное выявление специфического заболевания лёгких среди населения проводится согласно алгоритму (таблица -№1).

Одним из основных преимуществ молекулярно-генетических методов заключается в высокой информативности и скорости, то есть за короткий срок времени можно получить точный результат с одновременным определением чувствительности ко всем существующим противотуберкулёзным препаратам I и II ряда. Определение лекарственной устойчивости на основании мутаций в ассоциированных генах, даёт возможность своевременную коррекцию химиотерапии.

При малой активности МБТ больше информации можно получить фенотипическим методом определения тест на ТЛЧ. Бактериологический метод даёт больше возможностей в диагностике МБТ в патологическом материале, при минимальном количестве возбудителей с данными выявлять реакцию изолята на определённый препарат в минимальной концентрации, известной также как минимальная ингибирующая концентрация.

Анализируя данные эпидемиологических показателей Самаркандского противотуберкулёзного диспансера за период от 2021 по 2024 гг., можно увидеть явное снижение смертности на 0,5, болезненности на 71,7, заболеваемости на 41,7 по отношению к 100000 населения (таблица №3).

Ухудшению ситуации по туберкулёзу способствуют: Социально-экономические условия, экология, миграционные процессы, снижение жизненного уровня населения, рост числа безработных и лиц без определённого места жительства, распространение ВИЧ инфекции, неэффективная работа программ борьбы с туберкулёзом, что приводит к появлению лекарственно резистентных форм возбудителей.

В значительном улучшении эпидемиологических показателей, немаловажное значение имеет применение ускоренных, высокотехнологических методов диагностики. Применение высоких технологий для диагностики ТБ основанные на ПЦР, ускорили процесс диагностики и своевременное начало методов комплексного лечения. Поэтапное внедрение и эффективное использование выше указанных мер, как на первичном этапе в процессе обследования больного в диспансере для выявления заболевания и дифференциальной диагностике, так и в определении схем и контроля лечения позволило снижение показателей болезненности и смертности от ТБ и улучшение качества жизни пациента.

Выводы: Подводя итоги нашей работы, необходимо подчеркнуть значение проводимых реформ в здравоохранении в республике Узбекистан, одним из которых является внедрение высокотехнологичных лабораторных методов исследования в медицину. Технология GeneXpert® MTB/Rif используя новейшую систему с мультиплексной амплификацией позволяет детектировать ДНК *M.tuberculosis complex* и чувствительность к противотуберкулёзным препаратам в режиме реального времени. культуральный метод прово-

дится аппаратом ВАСТЕС MGIT 960 с жидкими питательными средами к антибактериальным препаратам I ряда и II ряда. Ускоренная диагностика и своевременно проводимое адекватное комплексное лечение, залог выздоровления и уменьшения инвалидности при туберкулёзном поражении различных органов и систем пациента.

Литература:

1. Global Tuberculosis report, WHO 2012. Source: Global tuberculosis database, WHO, 2011.
2. Global WHO tuberculosis report 2012. WHO document WHO/HTM/TB/2012. Geneva, 2012.
3. Guidelines for Programmatic Management of Drug-Resistant Tuberculosis.. WHO Geneva, 2011.
4. А.Х. Аленова, Т.Ш. Абилдаев, А.Ш. Жумадилов и др. Структура и алгоритмы новейших молекулярно-генетических технологий экспресс диагностики туберкулеза и лекарственной устойчивости в Республике Казахстан: Методические рекомендации. Алматы, 2013.
5. Постановление Президента Республики Узбекистан, от 20.01.2023 г. № ПП-12 О мерах по дальнейшему развитию службы фтизиатрии и пульмонологии в 2023 — 2026 годах.
6. Pardayeva U.D. Uzbekistan on the path of integration in the field of higher education into world society - in the context of globalization // Issues of science and education. – 2020. – №. 16 (100). – Pp. 36-41. [In Russ]
7. Pardayeva U.D. Aspects of modern pedagogical technologies at the stage of training a qualified medical specialist // Pedagogy and psychology of innovation. – 2019. – №. 7 (3). – Pp. 29-45. [In Russ]
8. Pardayeva U.D., Kim A.A., Asatulayev A.F. Integration of uzbekistan's educational system into global globalization // Thematics Journal of Education. – 2022.
9. Pardayeva U.D. medicamentous correction of hepatotoxic action of antibacterial preparatives in patients with intropulmonary tuberculosis Modern education and development P. 149-164 Vol. 149-164 Vol. 4 No. 4 (2024): Modern education and development: <https://ilmiy xabarlar.uz/index.php/journal/issue/view/29>
10. Rizaev J. A., Umirzakov Z. B. B., Umirov S. E. Ways to Optimize Medical Services for Covid-19 Patients //Special Education. – 2022. – Т. 1. – №. 43.
11. Rizaev J. A. et al. Physico-chemical parameters of mixed saliva and their correction in patients in the post-covid period // Cardiometry. – 2022. – №. 25. – С. 1168-1173.

К ВОПРОСУ О СОВРЕМЕННЫХ ЛАБОРАТОРНЫХ МЕТОДАХ ВЫЯВЛЕНИЯ ТУБЕРКУЛЁЗА

Пардаева У.Дж., Шукуров Г.Н., Исмаилов У.К.,
Бердияров У.М.

Резюме. Эпидемиологическое состояние по туберкулёзу в восточной части европы, и в странах юго-восточной азии остаётся тревожной проблемой в социальной жизни общественности. Целью нашего исследования явилось изучить разрешающие способности лабораторных методов диагностики туберкулёза на современном этапе, и его значение как один из факторов улучшения здоровья, населения в структуре инфекционных заболеваний в регионе самаркандской области. В статье приведены фрагменты литературного обзора и данные нормативных документов, предусматривающих внедрение реформ в здравоохранение в нашей республике. Внедрение высоко технологичных лабораторных тестов и ускоренных бактериологических методов с возможностью определения минимальную концентрацию микобактерий на определённый препарат в минимальной концентрации, что даёт возможность адекватной химиотерапии. Также освещены этапы диагностики специфического заболевания у пациента, на различных уровнях лечебно-диагностических организаций в самаркандской области. Подводя итоги нашей работы, необходимо подчеркнуть значение проводимых реформ в здравоохранении в республике Узбекистан, одним из которых является внедрение высокотехнологичных лабораторных методов исследования в медицину. Технология GeneXpert® МТВ/Rif используя новейшую систему с мультиплексной амплификацией позволяет детектировать ДНК *M.tuberculosis complex* и чувствительность к противотуберкулёзным препаратам в режиме реального времени. Культуральный метод проводится аппаратом ВАСТЕС MGIT 960 с жидкими питательными средами к антибактериальным препаратам I ряда и II ряда. Ускоренная диагностика и своевременно проводимое адекватное комплексное лечение, залог выздоровления и уменьшения инвалидности при туберкулёзном поражении различных органов и систем пациента.

Ключевые слова: туберкулёз (ТБ), микобактерии туберкулёза (МБТ), молекулярно-генетические методы, лекарственная устойчивость, первично медико-санитарная помощь (ПМСП).