

Сучасні алгоритми генофенотипової діагностики туберкульозу в Україні

О.А. Журило, А.І. Барбова

ДУ «Національний інститут фтизіатрії і пульмонології ім. Ф.Г. Яновського НАМН України», м. Київ, Україна

Конфлікт інтересів: відсутній

ОБҐРУНТУВАННЯ. Для забезпечення своєчасного та точного виявлення туберкульозу (ТБ), у тому числі з множинною лікарською стійкістю збудника, в Україні створено документ «Стандарти охорони здоров'я при ТБ» (Наказ Міністерства охорони здоров'я України № 2161 від 06.10.2021), в якому в основу лабораторної діагностики ТБ покладено застосування сучасних молекулярно-генетичних методів, апробованих у Центральній референс-лабораторії України з мікробіологічної діагностики ТБ.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ. У статті представлено комплексні алгоритми діагностики та моніторингу лікування ТБ легень із використанням швидких молекулярно-генетичних методів. Основні принципи та підходи до діагностичного процесу, на яких базується вітчизняний нормативний документ, відповідають тим, що рекомендовані експертами Всесвітньої організації охорони здоров'я для країн Європейського регіону. Під час обстеження з метою діагностики ТБ обов'язково має бути виконаний молекулярно-генетичний тест, що дає змогу дуже швидко виявити наявність у діагностичному зразку ДНК *Mycobacterium tuberculosis*. Потім (залежно від можливостей лабораторії) використовується та чи інша технологія виявлення мутацій, асоційованих зі стійкістю *M. tuberculosis* до максимально можливого спектра антимікобактеріальних препаратів (АМБП) I та II ряду. Після отримання результатів посіву в автоматизованій системі BACTEC MGIT, що є наразі золотим стандартом для дослідження медикаментозної чутливості *M. tuberculosis* до АМБП I та II ряду, схема лікування за потреби корегується відповідно до отриманих даних фенотипового тесту медикаментозної чутливості.

ВИСНОВКИ. Згідно з останніми міжнародними рекомендаціями щодо діагностики ТБ перевага має віддаватися молекулярно-генетичним діагностичним тестам і культуральним дослідженням у рідких живильних середовищах. Мікроскопічне та культуральне дослідження є важливими й залишаються необхідними для моніторингу лікування.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: алгоритм мікробіологічної діагностики туберкульозу, швидкі молекулярно-генетичні тести.

Modern algorithms of geno-phenotypic diagnosis of tuberculosis in Ukraine

O.A. Zhurylo, A.I. Barbova

SI "National Institute of Phthisiology and Pulmonology named after F.G. Yanovsky of the NAMS of Ukraine", Kyiv, Ukraine

Conflict of interest: none

BACKGROUND. To ensure timely and accurate detection of tuberculosis (TB), including TB with multiple drug resistance in Ukraine, the document "Health Standards for TB" (Order of the Ministry of Health of Ukraine № 2161 of 06.10.2021), which the basis of laboratory diagnosis of TB is the use of modern molecular genetic methods and tested in the Central Reference Laboratory of Ukraine for microbiological diagnosis of TB.

RESULTS AND DISCUSSION. The article presents complex algorithms for the diagnosis and monitoring treatment of pulmonary TB using rapid molecular genetic methods. The basic principles and approaches to the diagnostic process, on which the domestic normative document is based, corresponds to those recommended by World Health Organization experts for the countries of the European region. When testing for TB, a molecular genetic test must be performed to detect the presence of *Mycobacterium tuberculosis* DNA in the diagnostic sample. Then (depending on the capabilities of the laboratory) one or another technology is used to detect mutations associated with the resistance of *M. tuberculosis* to the maximum possible range of AMBP I and II lines. After receiving the results of seeding in the automated system BACTEC MGIT, which is currently the gold standard for the study of drug sensitivity of *M. tuberculosis* to AMBP I and II lines, the treatment regimen is adjusted if necessary according to the phenotypic test of drug sensitivity.

CONCLUSIONS. According to the latest international guidelines for the diagnosis of TB, preference should be given to molecular genetic diagnostic tests and culture studies in liquid nutrient media. Microscopic and cultural studies are important and remain necessary to monitor treatment.

KEY WORDS: algorithm for microbiological diagnosis of tuberculosis, rapid molecular genetic tests.

Современные алгоритмы генофенотипической диагностики туберкулеза в Украине

А.А. Журило, А.И. Барбова

ГУ «Национальный институт фтизиатрии и пульмонологии им. Ф.Г. Яновского НАМН Украины», г. Киев, Украина

Конфликт интересов: отсутствует

ОБОСНОВАНИЕ. Для обеспечения своевременного и точного выявления туберкулеза (ТБ), в том числе со множественной лекарственной устойчивостью возбудителя, в Украине создан документ «Стандарты здравоохранения при ТБ» (Приказ Министерства здравоохранения Украины № 2161 от 06.10.2021), в котором в основу лабораторной диагностики ТБ положено применение современных молекулярно-генетических методов, апробированных в Центральной референс-лаборатории Украины по микробиологической диагностике ТБ.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ. В статье представлены комплексные алгоритмы диагностики и мониторинга лечения ТБ легких с использованием быстрых молекулярно-генетических методов. Основные принципы и подходы к диагностическому процессу, на которых основывается отечественный нормативный документ, отвечают тем, что рекомендованы экспертами Всемирной организации здравоохранения для стран Европейского региона. При обследовании в целях диагностики ТБ обязательно должен быть проведен молекулярно-генетический тест, позволяющий очень быстро выявить наличие в диагностическом образце ДНК *Mycobacterium tuberculosis*. Затем (в зависимости от возможностей лаборатории) используется та или иная технология обнаружения мутаций, ассоциированных с устойчивостью *M. tuberculosis* к максимально возможному спектру антимикобактериальных препаратов (АМБП) I и II ряда. После получения результатов посева в автоматизированной системе BACTEC MGIT, являющейся в настоящее время золотым стандартом для исследования медикаментозной чувствительности *M. tuberculosis* к АМБП I и II ряда, схема лечения при необходимости корректируется в соответствии с полученными данными фенотипического теста медикаментозной чувствительности.

ВЫВОДЫ. Согласно последним международным рекомендациям по диагностике ТБ предпочтение должно отдаваться молекулярно-генетическим диагностическим тестам и культуральным исследованиям в жидких питательных средах. Микроскопическое и культуральное исследования важны и остаются необходимыми для мониторинга лечения.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: алгоритм микробиологической диагностики туберкулеза, быстрые молекулярно-генетические тесты.

Правильна організація діагностичного процесу та, зокрема, використання в лабораторній практиці оптимального алгоритму проведення досліджень є надзвичайно важливими умовами забезпечення якості й ефективності лабораторної діагностики туберкульозу (ТБ).

В Україні лікування ТБ ґрунтується на визначенні локалізації патологічного процесу та мікробіологічному підтвердженні захворювання, ідентифікації збудника, обов'язковому визначенні чутливості *Mycobacterium tuberculosis* до антимікобактеріальних препаратів (АМБП), що використовуються для лікування [4–6]. Нині верифікація діагнозу ТБ насамперед залежить від роботи лікаря-бактеріолога, а також від злагодженої роботи бактеріологічної лабораторії протитуберкульозного закладу та мережі цих лабораторій в Україні загалом [2, 7, 10].

Для забезпечення своєчасного та точного виявлення ТБ, у тому числі з множинною лікарською стійкістю збудника – МЛС-ТБ (раніше використовувався термін «мультирезистентний ТБ», що означає формування резистентності *M. tuberculosis* одночасно до рифампіцину [R] та ізоніазиду [H]), в Україні створено документ «Стандарти охорони здоров'я при ТБ» (Наказ Міністерства охорони здоров'я України № 2161 від 06.10.2021), в якому в основу лабораторної діагностики ТБ покладено застосування сучасних молекулярно-генетичних методів, рекомендованих Всесвітньою організацією охорони здоров'я (ВООЗ) й апробованих у Центральній референс-лабораторії України. Нині молекулярно-генетичні методи імplementовано

в роботу мережі протитуберкульозних бактеріологічних лабораторій України [5].

Представлені комплексні алгоритми діагностики та моніторингу лікування ТБ легень і МЛС-ТБ із використанням швидких молекулярно-генетичних методів, рекомендованих ВООЗ, свідчать про те, що з метою покращення епідемічної ситуації в країні для 100 % лабораторного підтвердження діагнозу ТБ потрібно негайно розширювати масштаби тестування та застосовувати швидкі молекулярно-генетичні методи. Слід віддавати пріоритет використанню як вихідного діагностичного тесту швидких молекулярно-генетичних методів, а не традиційної мікроскопії та бактеріологічних (культуральних) досліджень. До молекулярно-генетичних тестів, схвалених і рекомендованих ВООЗ, належать:

- картриджна технологія GeneXpert;
- аналіз молекулярної гібридизації з типоспецифічними зондами Line Probe Assays (LPA). Система GenoType дістала назву «ДНК-стрипова технологія, або HAIN-тест» (за назвою виробника тест-систем);
- петльова ізотермічна ампліфікація (LAMP).

Ці швидкі діагностичні тести, схвалені ВООЗ, є ключовими в Україні для обстеження всіх осіб з імовірним ТБ, що дає змогу забезпечити його ранню та точну діагностику. Що ж до традиційної мікроскопії, то її слід використовувати як початковий діагностичний тест лише в лабораторних умовах без можливості проведення швидких молекулярно-генетичних тестів і за відсутності змоги

своєчасно транспортувати лабораторні зразки туди, де ці методи доступні.

Мікроскопічні дослідження мають бути обмежені тестуванням зразків, позитивних на ТБ, виявлених із застосуванням швидких молекулярних методів, і виконуватися виключно для оцінки ступеня інфекційної небезпеки пацієнта з метою інфекційного контролю, а також для моніторингу лікування. Продовження практики проведення мікроскопічних досліджень також дає змогу зберегти напрацьовані навички в цій сфері в разі, якщо молекулярні дослідження виявляться недоступними.

Безперечно, мікроскопічне дослідження мазків мокротиння для виявлення мікобактерій є інформативним методом, але з дуже низькою чутливістю, відсутністю можливості видової ідентифікації мікобактерій, а також визначення їхньої життєздатності. Мікроскопічно позитивні зразки, щодо яких у ході молекулярно-генетичного дослідження отримано негативні результати, дають змогу припустити наявність нетуберкульозних мікобактерій (НТМБ) – збудників мікобактеріозу [5, 6].

При використанні рідкого живильного середовища в системі BACTEC MGIT швидкість зростання мікобактерій варіює від 4-8 до 42 діб. Безумовно, результативність культивування в рідкому середовищі в середньому на 20,0 % вища, ніж на щільному яєчному поживному середовищі Левенштейна-Єнсена. Культура мікобактерій, виділена з рідкого живильного середовища, підлягає обов'язковій субкультивуванню на середовищі Левенштейна-Єнсена та видовій ідентифікації для виключення НТМБ. Для ідентифікації виділених штамів використовують імунохроматографічний експрес-тест BD MGIT TBc ID (Becton Dickinson, США) [13]. Незважаючи на те, що результати зростання в рідкому середовищі можуть стати доступними протягом декількох днів, робота з рідким середовищем потребує серйозних навичок лікарів-бактеріологів. Рідке середовище схильне до забруднення, дорожче й пов'язане з підвищеним ризиком біологічної безпеки [7].

Нині автоматизовані системи з використанням рідких поживних середовищ є золотим стандартом для фенотипового тесту медикаментозної чутливості (фТМЧ) *M. tuberculosis* до АМБП I та II ряду. У світі використовуються три види автоматизованих систем на основі культивування в рідких середовищах: BACTEC MGIT (BD, США), BacT/ALERT3D (bioMérieux, Франція) та відносно новий продукт – платформа Mycolor TK (Salubris, Туреччина) [8, 9, 15]. В Україні кожна область забезпечена системою BACTEC MGIT 960 (BD, США). При виконанні фТМЧ *M. tuberculosis* до АМБП варто досліджувати ті препарати, які нині використовуються в Україні [1]. Протоколи компанії BD (США) дають змогу це зробити.

На всій території України фТМЧ для *M. tuberculosis* виконується до АМБП I ряду (рифампіцин [R], ізоніазид [H], етамбутол [E], піразинамід [Z]), II ряду (левофлоксацин [Lfx], моксифлоксацин [Mfx] у двох концентраціях, бедаквілін [Bdq], лінезолід [Lzd], клофазимін [Cfz], деламаід [Dlm], амікацин [Am]), а за потреби й до канаміцину (Km), капреоміцину (Cm), протіонаміду (Pto) чи етіонаміду (Eto).

Мікроскопія та культура особливо важливі для моніторингу лікування. Культуральні дослідження забезпечують максимальну чутливість, традиційний фТМЧ потрібний для діагностики рецидивів ТБ і допомагає в розробленні індивідуальної схеми лікування пацієнтів із МЛС-ТБ і рецидивами ТБ. У разі чутливості *M. tuberculosis* до R у тесті Xpert MTB/RIF Ultra фТМЧ виконується до АМБП I ряду. За умови лікарської стійкості (ЛС) *M. tuberculosis* до R у тесті Xpert MTB/RIF Ultra фТМЧ виконується до АМБП I та II ряду одночасно.

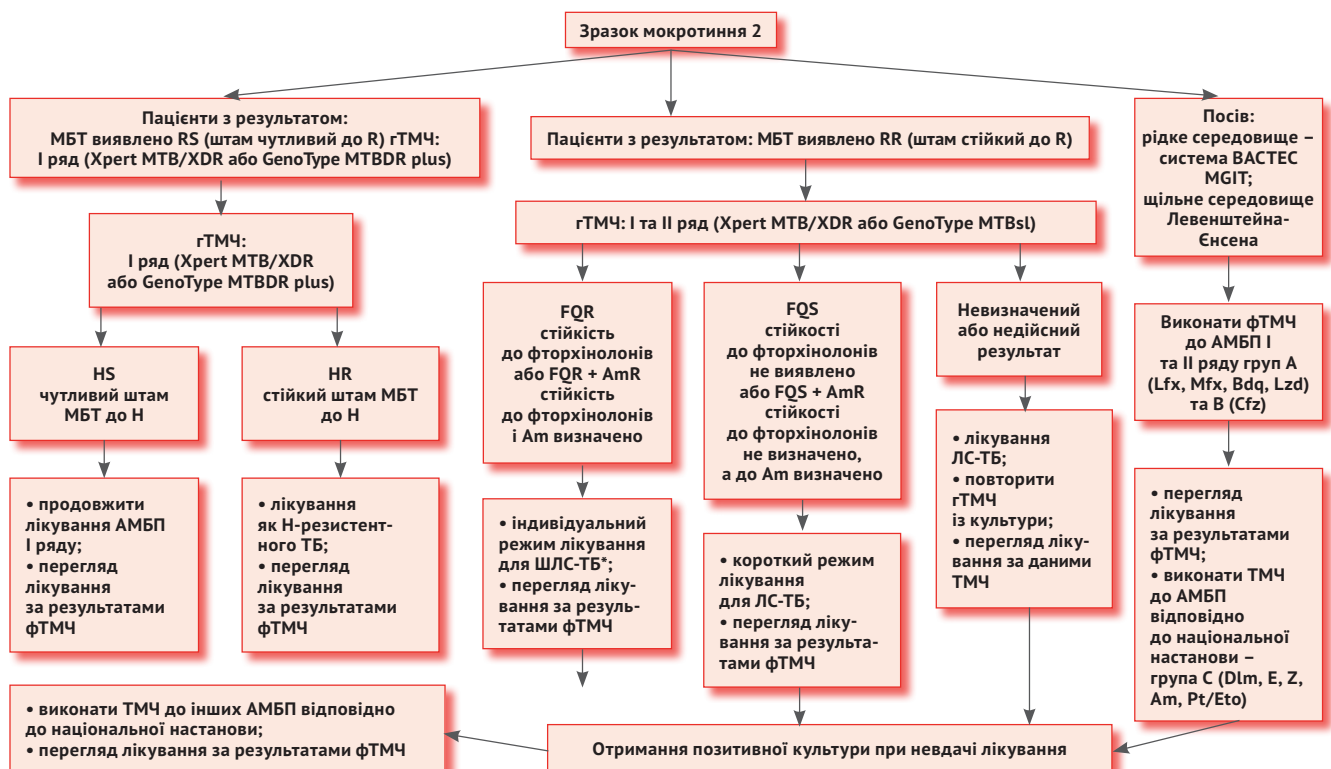
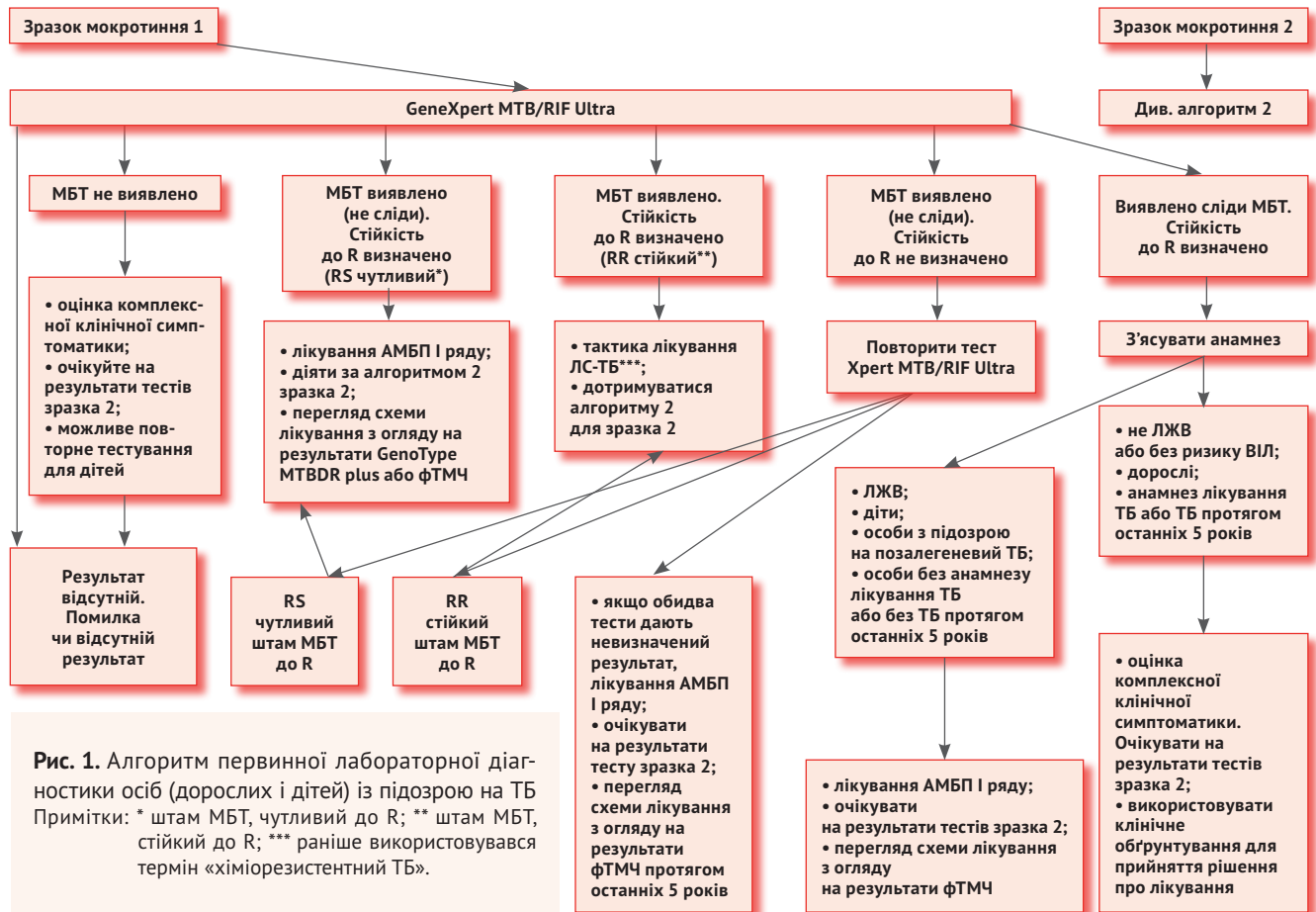
Основними елементами глобальних протитуберкульозних програм на сьогодні залишаються раннє виявлення випадків ТБ, швидке тестування ЛС *M. tuberculosis* до АМБП та відповідне цим профілям ЛС лікування хворих [16, 18]. Ефективна організація зазначених етапів дає змогу значною мірою контролювати поширення, появу та передачу ЛС до АМБП штамів *M. tuberculosis*. Окрім цих заходів, надзвичайно актуальним є розроблення нових АМБП [11]. Сучасним золотим стандартом визначення ЛС у клінічних штамів комплексу *M. tuberculosis* залишається ТМЧ до АМБП з урахуванням культурального методу, який визначає ЛС *M. tuberculosis* до препаратів за фенотипом. Недоліком методів тестування на основі культури є їхня тривалість, що зумовлено повільним зростанням збудника: потрібно від 8 до 12 тижнів у разі культивування на щільному яєчному середовищі Левенштейна-Єнсена чи від 5 до 42 днів у рідкому середовищі Middlebrook [12]. Відомо також, що фТМЧ дає погано відтворювані результати для деяких препаратів, як-от Z, стрептоміцин (S) та E [17].

На відміну від фТМЧ молекулярно-генетичний ТМЧ (гТМЧ) розроблено на основі полімеразно-ланцюгової реакції (ПЛР), що базується на оброблених зразках пацієнтів, як-от тести на основі ПЛР у реальному часі або тести за принципом гібридизації зонда (LPA). Вони швидші, але дають змогу виявити маркери резистентності для обмеженої кількості препаратів: їхня аналітична можливість обмежена форматом тесту, тобто невеликою кількістю вже відомих досліджених мутацій. Окрім того, навіть за високої специфічності залишаються можливими хибно-позитивні результати гТМЧ, наприклад, у разі виявлення резистентності R за допомогою широко застосовуваного тесту в системі GeneXpert [14].

В Україні розроблено декілька алгоритмів лабораторної діагностики ТБ:

- алгоритм первинної лабораторної діагностики пацієнтів (дорослих і дітей) із підозрою на ТБ (рис. 1);
- алгоритм обстеження пацієнтів (дорослих і дітей) із *M. tuberculosis* (+) (рис. 2);
- алгоритм спостереження за хворими з лікарсько-чутливим ТБ легень (рис. 3);
- алгоритм спостереження за хворими з МЛС-ТБ та R-резистентністю (рис. 4) [5].

Перше, на що варто звернути увагу: швидка молекулярно-генетична діагностика ТБ в Україні має використовуватись як початковий метод для всіх випадків із клінічною підозрою на ТБ. Пріоритетом має бути використання швидких молекулярно-генетичних тестів на противагу звичайним, зокрема мікроскопії, бактеріологічному



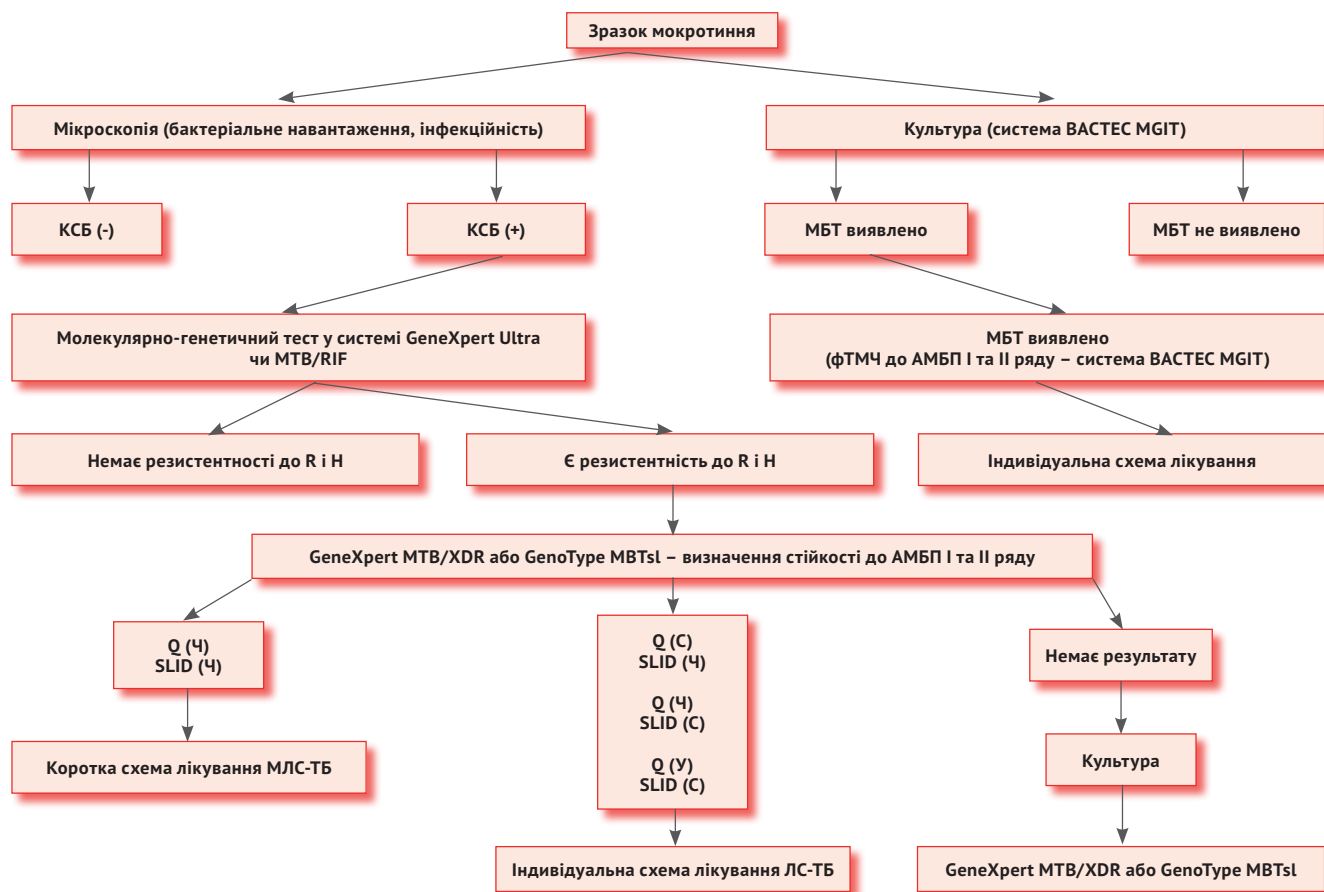


Рис. 3. Алгоритм обстеження хворих на лікарсько-чутливий ТБ легень

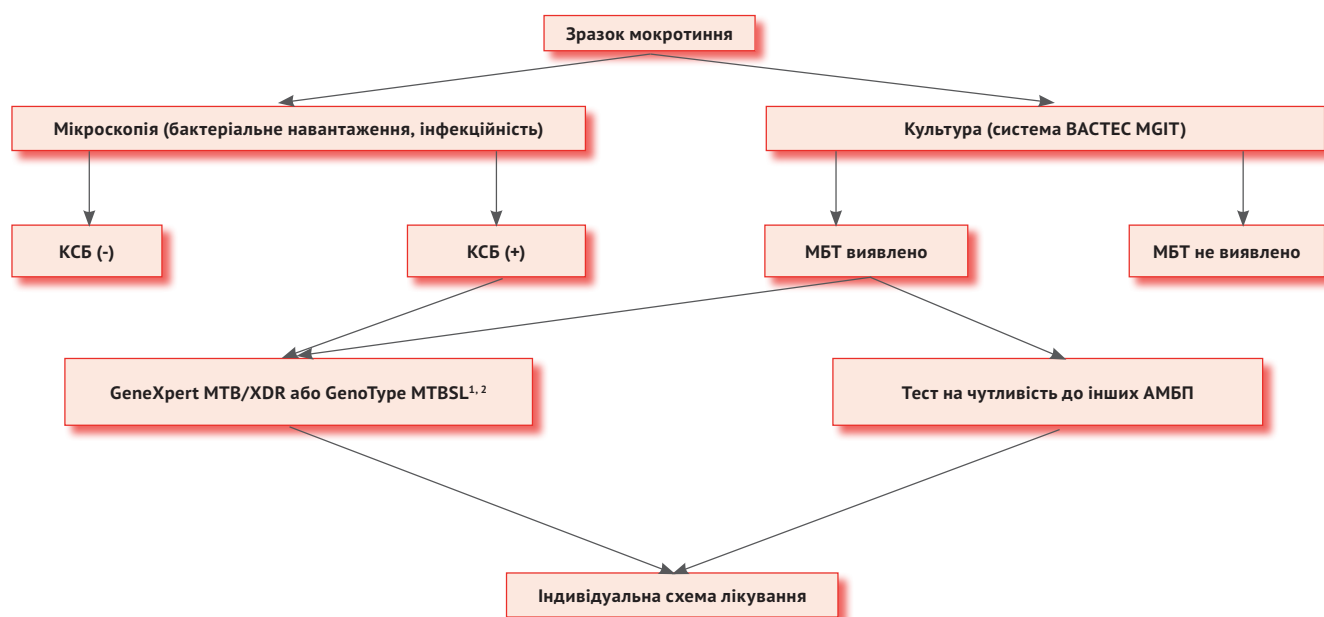


Рис. 4. Алгоритм обстеження хворих на МЛС-ТБ із R-резистентністю

Примітки: ¹ виконати лише за умови, якщо раніше не було виявлено резистентності до АМБП II ряду: Q й інжекційним препаратам (Am, Cm і Km); ² немає потреби повторювати початкові тести на стійкість *M. tuberculosis* до R, оскільки вони залишаються стійкими.

(культуральному) методу, як початкових діагностичних тестів для дорослих і дітей, у котрих підозрюється ТБ легень. Це забезпечить ранню та точну діагностику. Звичайна мікроскопія має використовуватись як початковий діагностичний тест лише в тих лабораторіях, де немає швидких молекулярно-генетичних тестів і можливості своєчасно транспортувати зразки до установ, у яких ці методи доступні [4].

Впровадження методу ПЛР (GeneXpert MTB/RIF Ultra, GeneXpert MTB/RIF, GeneXpert MTB/XDR або LPA) як скринінгового є найефективнішим інструментом зниження рівня ТБ та МЛС-ТБ порівняно з традиційнішими методами. У дорослих і дітей з ознаками та симптомами легеневого ТБ як первинний діагностичний тест у разі виявлення ТБ та ЛС *M. tuberculosis* до R у мокротинні, назофарингеальному або шлунковому аспіраті (в дітей) в Україні має застосовуватись молекулярно-генетична система GeneXpert із картриджами MTB/RIF Ultra [3, 5].

Якщо культуральний метод дає позитивний результат, але після того, як початковий молекулярно-генетичний і мікроскопічний тести були негативними, потрібно повідомити фтизіатра про позитивний результат посіву дослідного матеріалу. Такі випадки відображають ситуацію із частиною зразків (їх трохи більш ніж 1,0 %), для котрих культуральний метод залишається найчутливішим тестом.

Обсяг лабораторного дослідження клінічного зразка має визначатись відповідно до категорії пацієнта (новий випадок; рецидив, що вже отримувал лікування), мети аналізу (для діагностики або моніторингу лікування) й оцінки ризику пацієнта (ВІЛ або ризик МЛС-ТБ). Ця інформація має бути відображена в лабораторному інформаційному бланку разом із результатами тестів для забезпечення найбільш доцільної, ефективної й економічно виправданої лабораторної роботи, а також полегшення інтерпретації результатів у разі неоднозначних результатів. Часті повторення гТМЧ/фТМЧ не є доцільними. Якщо було виявлено, що пацієнт має МЛС-ТБ, наприклад, немає необхідності проводити повторне тестування на H та R. До того ж слід застосовувати лінійний зонд-аналіз (LPA) лише на рівні великих обласних лабораторій і Центральної референс-лабораторії МОЗ України через його складність і наявність необхідної інфраструктури.

Завдяки використанню швидких молекулярно-генетичних методів для первинної діагностики ТБ та МЛС-ТБ на рівні району високоспецифічний діагноз ТБ може бути встановлений на нижчому рівні системи охорони здоров'я. Це допоможе зменшити діагностичну затримку та застосувати найвідповідніші заходи до боротьби з інфекцією.

Алгоритм первинної лабораторної діагностики осіб (дорослих і дітей) із підозрою на ТБ наведено на рисунку 1. Обстеженню на ТБ підлягають дорослі та діти з ознаками чи симптомами, що вказують на ТБ, або з результатами рентгенологічного обстеження органів грудної клітки з відхиленнями, що вказують на ТБ. Цей алгоритм може використовуватись для діагностики поза-легеневого ТБ із використанням спинномозкової рідини, лімфатичного біоптату вузла й інших зразків тканини. Слід пам'ятати, що при виконанні Xpert MTB/RIF окрім мокротиння можуть використовуватись зразки шлункового соку, аспірату з носоглотки та фекалій. У разі виконання

тесту Xpert MTB/RIF Ultra тестування шлункового соку та фекалій можливе лише в операційних дослідженнях [3, 4].

Зразки біологічного матеріалу осіб із симптомами ТБ або підтвердженим діагнозом направляються для проведення мікробіологічного дослідження до бактеріологічної лабораторії із сертифікованою системою управління якістю, яка успішно пройшла зовнішню оцінку якості молекулярно-генетичних і бактеріологічних досліджень на базі Центральної референс-лабораторії.

Зразок 1 збирається на місці при зверненні пацієнта та має бути швидко досліджений у тесті Xpert MTB/RIF Ultra. Зразок 2 – це переважно ранкове мокротиння, що має бути використане для бактеріологічного та додаткового молекулярно-генетичного дослідження.

В осіб із симптомами ТБ легеневої локалізації за неможливості зібрати мокротиння, котре спонтанно виділяється, застосовують індукцію мокротиння або фібро-бронхоскопічне дослідження з бронхоальвеолярним лаважем, у дітей також досліджують назофарингеальний або шлунковий аспірат чи інший матеріал за верифікованими та валідованими методиками [3, 4]. Лише за вичерпання можливостей згаданих методів діагностики застосовується хірургічна біопсія з отриманням матеріалу для гено-фенотипового дослідження.

Отже, первинне лабораторне обстеження пацієнтів за алгоритмом 1 здійснюється з діагностичною метою: виявлення комплексу *M. tuberculosis* і визначення стійкості до R із подальшим проведенням інших мікробіологічних досліджень (мікроскопія, культуральне дослідження, фТМЧ).

Обстеження осіб із наявністю мікобактерій у зразку дослідження (МБТ+) за результатами первинного лабораторного обстеження методом Xpert MTB/RIF Ultra з метою виявлення *M. tuberculosis* і визначення гТМЧ та/або фТМЧ до АМБП I та II ряду здійснюється відповідно до діагностичного алгоритму 2 (рис. 2). Фтизіатр має якомога раніше призначати відповідний режим лікування, зважаючи на результати мікробіологічних досліджень, дані анамнезу попереднього використання АМБП, а в разі виділення культури *M. tuberculosis* з обов'язковим виконанням ТМЧ *M. tuberculosis* до АМБП молекулярно-генетичними та фенотиповими методами дослідження зразка, який отриманий до початку лікування.

Результат Xpert MTB/RIF Ultra «виявлено МБТ» включає високий, середній, низький або дуже низький рівень навантаження виявленої ДНК *M. tuberculosis*. Ці категорії використовуються для вихідного тесту Xpert MTB/RIF Ultra. Коли отримано позитивний результат молекулярно-генетичного аналізу, потрібно виконати мікроскопію мазка мокротиння із цього діагностичного зразка для оцінки бактеріального навантаження мокротиння, тобто визначення статусу інфекційності пацієнта. Якщо результат аналізу Xpert MTB/RIF Ultra негативний, нецільно проводити мікроскопію.

Інтерпретація та подальше тестування для результатів «МБТ виявлено / рифампіцин не визначено» для тесту Xpert MTB/RIF Ultra зазвичай пов'язані з дуже низькою кількістю бактерій у зразку. У разі високого або середнього рівня МБТ і невизначеного результату R лабораторія має виконати аналіз кривих плавлення для виключення

ймовірності великих делецій або множинних мутацій, що надають стійкість *M. tuberculosis* до R. В інших випадках – очікувати результати від зразка мокротиння 2 для підтвердження або виключення стійкості за допомогою фТМЧ та LPA (набір MTBDR plus). Результат «виявлено сліди МБТ» застосовується тільки для тесту Xpert MTB/RIF Ultra, але не Xpert MTB/RIF.

Якщо виявлено стійкість *M. tuberculosis* до R, потрібно негайно розпочати курс лікування ЛС-ТБ. Щодо того самого зразка мокротиння 1 виконати тестування Xpert MTB/XDR. Також для оцінки резистентності *M. tuberculosis* до АМБП можливе використання молекулярно-генетичного методу (LPA) чи фенотипового (культуральне дослідження та фТМЧ).

У пацієнтів із попереднім анамнезом ТБ протягом останніх 5 років або в разі, якщо лікування ТБ було завершено менш як 5 років тому, результат Xpert MTB/RIF Ultra «виявлено сліди» може свідчити не про активний процес ТБ, а про наявність нежиттєздатних бактерій (ДНК бактерій).

Алгоритм 2 обстеження пацієнтів із МБТ (+) наведено на рисунку 2. При достатній кількості дослідного матеріалу доцільно всі процедури виконувати зі зразка мокротиння 1 (одного зразка), але можливе використання зразка 2.

Обов'язковим є посів в одну пробірку MGIT із рідким поживним середовищем і дві пробірки з щільним яєчним поживним середовищем Левенштейна-Єнсена після деконтамінації мокротиння методом NaLC-NaOH з одночасним контрольним мазком з осаду та забарвленням за методом Циля-Нільсена. Виділені з дослідних зразків мокротиння культури підлягають обов'язковій ідентифікації [6].

LPA доцільно виконувати з осаду мокротиння. Тест LPA для препаратів I ряду (GenoType MTBDR plus) важливий як у разі невиявленої R-стійкості, так і за умови, коли R-стійкість виявлено. У першому випадку це важливо для встановлення можливої гетерорезистентності до R, а також низьких рівнів резистентності до H за наявності мутацій у генах *inhA* та *katG*. У другому випадку це важливо для виявлення можливої стійкості до H та EtO за наявності мутацій у генах *inhA* й *katG*. Доцільно отримати результат тестів LPA (GenoType MTBsl) або GeneXpert MTB/XDR до АМБП II ряду (фторхінолонів [Q] й Am) із метою швидкої оцінки можливості застосування короткого режиму лікування ТБ за множинної стійкості *M. tuberculosis*.

Тести Xpert MTB/XDR і LPA до АМБП II ряду не можуть визначати стійкість до окремих Q. Мутації, що асоціюються з резистентністю *M. tuberculosis* до АМБП II ряду, які виявляє Xpert MTB/XDR і LPA, з високою ймовірністю корелюють із фенотиповою резистентністю *M. tuberculosis* до офлоксацину (Ofx) і Lfx. Кореляція цих мутацій із фенотиповою резистентністю *M. tuberculosis* до Mfx і гатифлоксацину (Gfx) не доведена, тому рішення про включення Mfx або Gfx у режим лікування МЛС-ТБ найкраще приймати за результатами фТМЧ.

Алгоритм 3 спостереження за хворими на лікарсько-чутливий ТБ наведено на рисунку 3. Як зазначалося

вище, важливим методом моніторингу лікування з метою своєчасного визначення конверсії/реверсії мокротиння є мікроскопічне дослідження. Обов'язковими є щомісячна мікроскопія й культуральне дослідження зразків мокротиння під час інтенсивної фази лікування та безпосередньо після її завершення. У хворих на лікарсько-чутливий ТБ легень із бактеріовиділенням, встановленим після завершення інтенсивної фази лікування, треба проводити дослідження GeneXpert Ultra чи GeneXpert MTB/RIF і фТМЧ *M. tuberculosis* до АМБП I та II ряду, а також, якщо можливо, й гТМЧ, насамперед GeneXpert MTB/XDR.

Якщо молекулярно-генетичний тест указує на стійкість *M. tuberculosis* до R із або без H, варто проводити GeneXpert MTB/XDR або LPA до АМБП II ряду. Якщо результати молекулярно-генетичного тесту вказують на чутливість до Q й ін'єкційних препаратів, це означає можливість використання короткого режиму лікування МЛС-ТБ. Щойно буде встановлено зростання культури *M. tuberculosis* і визначено резистентність до R (за даними молекулярно-генетичного тесту), потрібно буде виконати фТМЧ *M. tuberculosis* до АМБП I та II ряду одночасно.

Алгоритм 4 спостереження за хворими на МЛС-ТБ із R-резистентністю наведено на рисунку 4. Мікроскопія та посів зразка мокротиння мають виконуватися щомісяця до завершення інтенсивної фази лікування. Після двох послідовних негативних посівів протягом 30-денного періоду посів мокротиння може проводитися що 3 місяці, а мікроскопія мазка – щомісяця. Якщо мікроскопія стає позитивною й після того, як культура стає позитивною, варто провести молекулярно-генетичні дослідження в системі GeneXpert MTB/XDR або LPA до АМБП II ряду та фТМЧ для призначення додаткових АМБП.

Насамкінець слід зазначити, що основні принципи та підходи до діагностичного процесу, на яких базуються вітчизняні нормативні документи, відповідають тим, що рекомендовані експертами ВООЗ для країн Європейського регіону. Під час обстеження з метою діагностики ТБ обов'язково має бути проведений молекулярно-генетичний тест, що дає змогу дуже швидко виявити наявність у діагностичному зразку ДНК *M. tuberculosis*. Потім (залежно від можливостей лабораторії) використовується та чи інша технологія виявлення мутацій, асоційованих зі стійкістю *M. tuberculosis* до максимально можливого спектра АМБП I та II ряду. Надалі, після отримання результатів посіву в автоматизованій системі BACTEC MGIT, що є наразі золотим стандартом для дослідження медикаментозної чутливості *M. tuberculosis* до АМБП I та II ряду, схема лікування за потреби корегується відповідно до отриманих даних фТМЧ.

Отже, згідно з останніми міжнародними рекомендаціями щодо діагностики ТБ перевага має віддаватися молекулярно-генетичним діагностичним тестам і культуральним дослідженням у рідких живильних середовищах. Мікроскопічне та культуральне дослідження важливі й залишаються потрібними для моніторингу лікування.

Література

1. Барбова А.І., Жемкова Г.А., Журило О.А. та ін. Застосування автоматизованої системи MGIT для діагностики туберкульозу легень і визначення медикаментозної стійкості мікобактерій. *Методичні рекомендації*. – К., 2007. – 24 с.
2. Журило О.А., Барбова А.І., Глушкевич Т.Г. та ін. Система забезпечення якості бактеріологічних досліджень у закладах, що здійснюють мікробіологічну діагностику туберкульозу на різних рівнях надання медичної допомоги. – Кіровоград, 2013. – 71 с.
3. Журило О.А., Барбова А.І., Жеребко Н.М. та ін. Використання альтернативних зразків у картриджах GeneXpert MTB/RIF і GeneXpert MTB/RIF Ultra для діагностики легеневого і позалегового туберкульозу та туберкульозу в дорослих і дітей в Україні. *Методичні рекомендації*. – К., 2021. – 19 с.
4. Наказ МОЗ України від 27.06.2019 № 1462 «Інструкція з мікробіологічної діагностики туберкульозної інфекції».
5. Наказ МОЗ України від 06.10.2021 № 2161 «Стандарти охорони здоров'я при туберкульозі».
6. Фещенко Ю.І., Журило О.А., Барбова А.І. та ін. Стратегічні напрями розвитку лабораторної діагностики туберкульозу в Україні. – К., 2017. – 120 с.
7. Фещенко Ю.І., Журило О.А., Барбова А.І. Лабораторна діагностика туберкульозної інфекції. – К., 2019. – 304 с.
8. Ciftci I.H., Karakece E. Comparative evaluation of TK SLC-L, a rapid liquid mycobacterial culture medium, with the MGIT system. *BMC Infect. Dis.* 2014; 14: 130. doi: 10.1186/1471-2334-14-130.
9. Cruciani M., Scarpato C., Malena M., et al. Meta-analysis of BACTEC MGIT 960 and BACTEC 460 TB, with or without solid media, for detection of mycobacteria. *J. Clin. Microbiol.* 2004; 42 (5): 2321-2325. doi: 10.1128/jcm.42.5.2321-2325.2004.
10. Dara M., Ehsani S., Drobniowski F., et al. Алгоритм лабораторной диагностики и мониторинга лечения туберкулеза легких и туберкулеза с лекарственной устойчивостью на основе применения современных быстрых молекулярных методов [Электронный ресурс]. – Режим доступа: http://www.euro.who.int/_data/assets/pdf_file/0004/336118/ELI-TBLaboratory_diag_algorithm_RUS.pdf?ua=1.
11. Kovalenko O.P., Volynets G.P., Rybak M.Y., et al. Dual-target inhibitors of mycobacterial aminoacyl-tRNA synthetases among N-benzylidene-N'-thiazol-2-yl-hydrazines. *Medchemcomm.* 2019; 10 (12): 2161-2169. doi: 10.1039/c9md00347a.
12. Pfyffer G.E., Wittwer F. Incubation time of mycobacterial cultures: how long is long enough to issue a final negative report to the clinician? *J. Clin. Microbiol.* 2012; 50 (12): 4188-4189. doi: 10.1128/JCM.02283-12.
13. Said H.M., Ismail N., Osman C., Hoosen A.A. Evaluation of TBc identification Immunochromatographic assay for rapid identification of Mycobacterium tuberculosis complex in samples from broth cultures. *J. Clin. Microbiol.* 2011; 49 (5): 1939-1942. doi: 10.1128/JCM.01906-10.
14. Yang S., Wang F., Yang D., et al. Case report of false rifampin resistance with Xpert® MTB/RIF from an HIV Infected Patient. *Clin. Lab.* 2020; 66 (11). doi: 10.7754/Clin.Lab.2020.200409.
15. Werngren J., Klintz L., Hoffner S.E. Evaluation of a novel kit for use with the BacT/ALERT 3D system for drug susceptibility testing of Mycobacterium tuberculosis. *J. Clin. Microbiol.* 2006; 44 (6): 2130-2132. doi: 10.1128/JCM.02218-05.
16. World Health Organization. WHO sets up an Advisory Group on TB Diagnostics and Laboratory Strengthening (2021) [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <https://www.who.int/news/item/27-09-2021-who-sets-up-an-advisory-group-on-tb-diagnostics-and-laboratory-strengthening>.
17. World Health Organization. Implementing tuberculosis diagnostics: policy framework (2015) [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/162712>.
18. World Health Organization. Catalogue of mutations in Mycobacterium tuberculosis complex and their association with drug resistance. 2021. – Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.

ВІДОМОСТІ ПРО АВТОРІВ / INFORMATION ABOUT AUTHORS

Журило Олександр Анатолійович

Завідувач лабораторії мікробіології і біохімії туберкульозу

ДУ «Національний інститут фізіатрії і пульмонології

ім. Ф.Г. Яновського НАМН України».

Д-р мед. наук, професор.

10, вул. М. Амосова, м. Київ, 03038, Україна.

ORCID ID: orcid.org/0000-0003-3253-6013

Барбова Анна Іванівна

Старший науковий співробітник лабораторії мікробіології і біохімії

туберкульозу ДУ «Національний інститут фізіатрії і пульмонології

ім. Ф.Г. Яновського НАМН України», керівник Референс-лабораторії

з мікробіологічної діагностики туберкульозу НАМН і МОЗ України.

Канд. мед. наук.

10, вул. М. Амосова, м. Київ, 03038, Україна.

ORCID ID: orcid.org/0000-0002-8684-1219

КОНТАКТНА ІНФОРМАЦІЯ / CORRESPONDENCE TO

Журило Олександр Анатолійович

10, вул. М. Амосова, м. Київ, 03038, Україна.

Тел: +38 (044) 275 54 30.

E-mail: microbio@ifp.kiev.ua

References

1. Barbova A.I., Gemkova G.A., Zhurylo O.A. et al. Zastosuvannya avtomatyzovanoi systemy MGIT dlya diagnostyky tuberculosu legen i vyznachennya medykamentoznoi stiykosti mycobacteriy. *Metodychni rekomendacii*. Kyiv, 2007. 24 p.
2. Zhurylo O.A., Barbova A.I., Glushkevych T.G. et al. Systema zabezpechennya yakosti bakteriologichnykh doslidgen u zakladach, sho zdysnuut microbiologichnu diagnostyku tuberculosu na riznykh rinvnakh nadannya medychnoi dopomogy. Kirovograd, 2013. 71 p.
3. Zhurylo O.A., Barbova A.I., Gerebko N.M. et al. Vykorystannya alternatyvnykh zrazkiv u kartrydgach GeneXpert MTB/RIF i GeneXpert MTB/RIF Ultra dlya diagnostyky legenevogo i pozalegenevogo tuberculosu ta tuberculosu v drosolykh i ditey Ukraini. *Metodychni rekomendacii*. Kyiv, 2021. 19 p.
4. Nakaz MOZ Ukrainy vid 27.06.2019 № 1462 "Instruktiya z mikrobiologichnoi diagnostyky tuberculoznoi infekcii".
5. Nakaz MOZ Ukrainy vid 06.10.2021 № 2161 "Standarty okhorony zdorovya pry tuberculosi".
6. Feschenko Yu.I., Zhurylo O.A., Barbova A.I. et al. Strategichni napryamy rozvytku laboratornoi diagnostyky tuberculosu v Ukraini. Kyiv, 2017. 120 p.
7. Feschenko Yu.I., Zhurylo O.A., Barbova A.I. Laboratorna diagnostyka tuberculosnoi infekcii. Kyiv, 2019. 304 p.
8. Ciftci I.H., Karakece E. Comparative evaluation of TK SLC-L, a rapid liquid mycobacterial culture medium, with the MGIT system. *BMC Infect. Dis.* 2014; 14: 130. doi: 10.1186/1471-2334-14-130.
9. Cruciani M., Scarpato C., Malena M., et al. Meta-analysis of BACTEC MGIT 960 and BACTEC 460 TB, with or without solid media, for detection of mycobacteria. *J. Clin. Microbiol.* 2004; 42 (5): 2321-2325. doi: 10.1128/jcm.42.5.2321-2325.2004.
10. Dara M., Ehsani S., Drobniowski F., et al. Algoritm laboratornoi diagnostiki i monitoringa lecheniya tuberculosu legkikh i tuberculosu s lekarstvennoi ustoichivostu na osnove primeneniya sovremennich bistrichy molekularnykh metodov. Available at: http://www.euro.who.int/_data/assets/pdf_file/0004/336118/ELI-TBLaboratory_diag_algorithm_RUS.pdf?ua=1.
11. Kovalenko O.P., Volynets G.P., Rybak M.Y., et al. Dual-target inhibitors of mycobacterial aminoacyl-tRNA synthetases among N-benzylidene-N'-thiazol-2-yl-hydrazines. *Medchemcomm.* 2019; 10 (12): 2161-2169. doi: 10.1039/c9md00347a.
12. Pfyffer G.E., Wittwer F. Incubation time of mycobacterial cultures: how long is long enough to issue a final negative report to the clinician? *J. Clin. Microbiol.* 2012; 50 (12): 4188-4189. doi: 10.1128/JCM.02283-12.
13. Said H.M., Ismail N., Osman C., Hoosen A.A. Evaluation of TBc identification Immunochromatographic assay for rapid identification of Mycobacterium tuberculosis complex in samples from broth cultures. *J. Clin. Microbiol.* 2011; 49 (5): 1939-1942. doi: 10.1128/JCM.01906-10.
14. Yang S., Wang F., Yang D., et al. Case report of false rifampin resistance with Xpert® MTB/RIF from an HIV infected patient. *Clin. Lab.* 2020; 66 (11). doi: 10.7754/Clin.Lab.2020.200409.
15. Werngren J., Klintz L., Hoffner S.E. Evaluation of a novel kit for use with the BacT/ALERT 3D system for drug susceptibility testing of Mycobacterium tuberculosis. *J. Clin. Microbiol.* 2006; 44 (6): 2130-2132. doi: 10.1128/JCM.02218-05.
16. World Health Organization. WHO sets up an Advisory Group on TB Diagnostics and Laboratory Strengthening. 2021. Available at: <https://www.who.int/news/item/27-09-2021-who-sets-up-an-advisory-group-on-tb-diagnostics-and-laboratory-strengthening>.
17. World Health Organization. Implementing tuberculosis diagnostics: policy framework. 2015. Available at: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/162712>.
18. World Health Organization. Catalogue of mutations in Mycobacterium tuberculosis complex and their association with drug resistance. 2021. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.

Zhurylo Oleksandr Anatoliiovych

Chief of the laboratory of microbiology and biochemistry of tuberculosis, SI "National

institute of phthysiology and pulmonology named after F.G. Yanovsky of the NAMS

of Ukraine".

MD, professor.

10, M. Amosova st., Kyiv, 03038, Ukraine.

ORCID ID: orcid.org/0000-0003-3253-6013

Barbova Anna Ivanivna

S.R. of the laboratory of microbiology and biochemistry of tuberculosis,

SI "National institute of phthysiology and pulmonology named after F.G. Yanovsky

of the NAMS of Ukraine", head of the Reference laboratory for microbiological

diagnosis of tuberculosis of the NAMS and the Ministry of Health of Ukraine.

PhD.

10, M. Amosova st., Kyiv, 03038, Ukraine.

ORCID ID: orcid.org/0000-0002-8684-1219