

А. И. Барбова

**НОВЫЕ ПОДХОДЫ К ОРГАНИЗАЦИИ И ПРОВЕДЕНИЮ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ ТУБЕРКУЛЕЗА В СООТВЕТСТВИИ С НОВЫМ ДИАГНОСТИЧЕСКИМ АЛГОРИТМОМ ВОЗ 2017 «АЛГОРИТМ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ ТУБЕРКУЛЕЗА И МОНИТОРИНГА ЛЕЧЕНИЯ ЛЕГОЧНОГО ТУБЕРКУЛЕЗА И ЛЕКАРСТВЕННО-УСТОЙЧИВОГО ТУБЕРКУЛЕЗА, С УЧЕТОМ БЫСТРЫХ МОЛЕКУЛЯРНЫХ ТЕСТОВ»**

*ГУ «Национальный институт фтизиатрии и пульмонологии им. Ф. Г. Яновского НАМН Украины»*

В новом алгоритме ВОЗ представлен алгоритм комплексного применения фено-генотипических методов диагностики и мониторинга лечения туберкулеза легких, в том числе мультирезистентного туберкулеза и туберкулеза с широкой лекарственной устойчивостью, что является необходимым для внедрения лечения новыми противотуберкулезными препаратами (рис.1) [3].

Большая часть этих методов в той или иной мере в разных сочетаниях уже внедрена в практику микробиологического исследования на туберкулез в большинстве стран Европейского региона ВОЗ, особенно с высоким бременем мультирезистентного туберкулеза. Однако до сегодняшнего дня не существовало четких рекомендаций по комплексному применению данных методов.

Этот технический документ разработан с целью проведения более своевременного и точного выявления туберкулеза, в том числе мультирезистентного и с широкой лекарственной устойчивостью, в Европейском регионе ВОЗ путем расширения масштабов применения быстрых молекулярных методов диагностики, рекомендованных ВОЗ [3].

В условиях внедрения новых противотуберкулезных препаратов особое значение отводится широкому охвату тестированием лекарственной чувствительности к препаратам 2-го ряда гарантированного качества среди случаев мультирезистентного туберкулеза.

Быстрые диагностические тесты, одобренные и рекомендованные ВОЗ, должны быть ключевыми в диагностическом обследовании всех лиц с предполагаемым туберкулезом, а именно:

– ПЦР в режиме реального времени (GeneXpert, Cepheid, США);

– линейный зонд-анализ (Hain Lifescience, Германия).

В алгоритме ВОЗ в качестве начального теста для выявления устойчивости к фторхинолонам и аминогликозидам для больных с позитивным результатом устойчивости к рифампицину рекомендуется использовать линейный зонд-анализ [3].

Метод GeneXpert MTB/RIF выявляет ДНК микобактерий туберкулезного комплекса и определяет устойчивость к рифампицину на основе ПЦР в реальном времени. Продолжительность исследования — 2 часа [2]. Следует отметить, что GeneXpert MTB/RIF простой в использовании, не требует дополнительных помещений, уровень ошибок низкий (< 3,0 %), используется в качестве первичного диагностического туберкулезного теста для взрослых и детей, позволяет исследовать образцы для диагностики туберкулеза легких и внелегочного туберкулеза (менее чувствительный).

Ограничениями GeneXpert MTB/RIF являются наличие жизнеспособных микобактерий, тест не предназначен для мониторинга лечения, наличие в пробе крови, гноя, примесей пищи, талька приводят к ингибированию результатов теста, определение устойчивости возбудителя только к рифампицину ограничивает его широкое применение для определения мультирезистентности, невозможно исследовать любые образцы, высокая стоимость исследования вне фонда Find.

Метод линейного зонд-анализа определяет мутации в генах, ассоциированных с медикаментозной резистентностью [1]. Может быть установлен только в лабораториях III уровня.

Наборы GenoType MTBDRplus и GenoType MTBDRsl позволяют исследовать образцы мокроты или культуры.

GenoType MTBDRplus обеспечивает детекцию микобактерий туберкулеза и определяет резистентность к рифампицину и изониазиду.

GenoType MTBDRsl дает возможность провести детекцию микобактерий туберкулеза и определить резистентность к фторхинолонам и инъекционным препаратам 2-го ряда.

Длительность исследования составляет 1-3 дня.

Для пациентов с подтвержденным рифампицинрезистентным туберкулезом в качестве первостепенного теста для выявления устойчивости к фторхинолонам и инъекционным препаратам 2-го ряда рекомендуется проводить линейный зонд анализ [3].

Однако, несмотря на рекомендации ВОЗ, существует условная рекомендация по использованию данного теста в связи с тем, что для фторхинолонов существует умеренно-доказательная база, а для инъекционных препаратов 2 ряда — низкая доказательная база.

Там, где ограничены ресурсы и/или возможности проведения молекулярной диагностики, можно использовать другие алгоритмы для различных групп пациентов, основываясь на тщательной оценке риска и отдавая приоритет посевам на жидких средах для пациентов, у которых предполагается наличие легочного мультирезистентного туберкулеза [1].

Автоматизированные системы на жидких средах являются «золотым стандартом» для теста лекарственной чувствительности к препаратам 1го и 2-го ряда. Проведение ТЛЧ требует соблюдения рекомендаций ВОЗ и применения обязательных методов обеспечения качества. При проведении ТЛЧ к препаратам 2-го ряда следует стремиться к включению тестирования чувствительности к аминогликозидам, полипептидам и фторхинолонам, применяемым в стране. Результаты ТЛЧ к этим

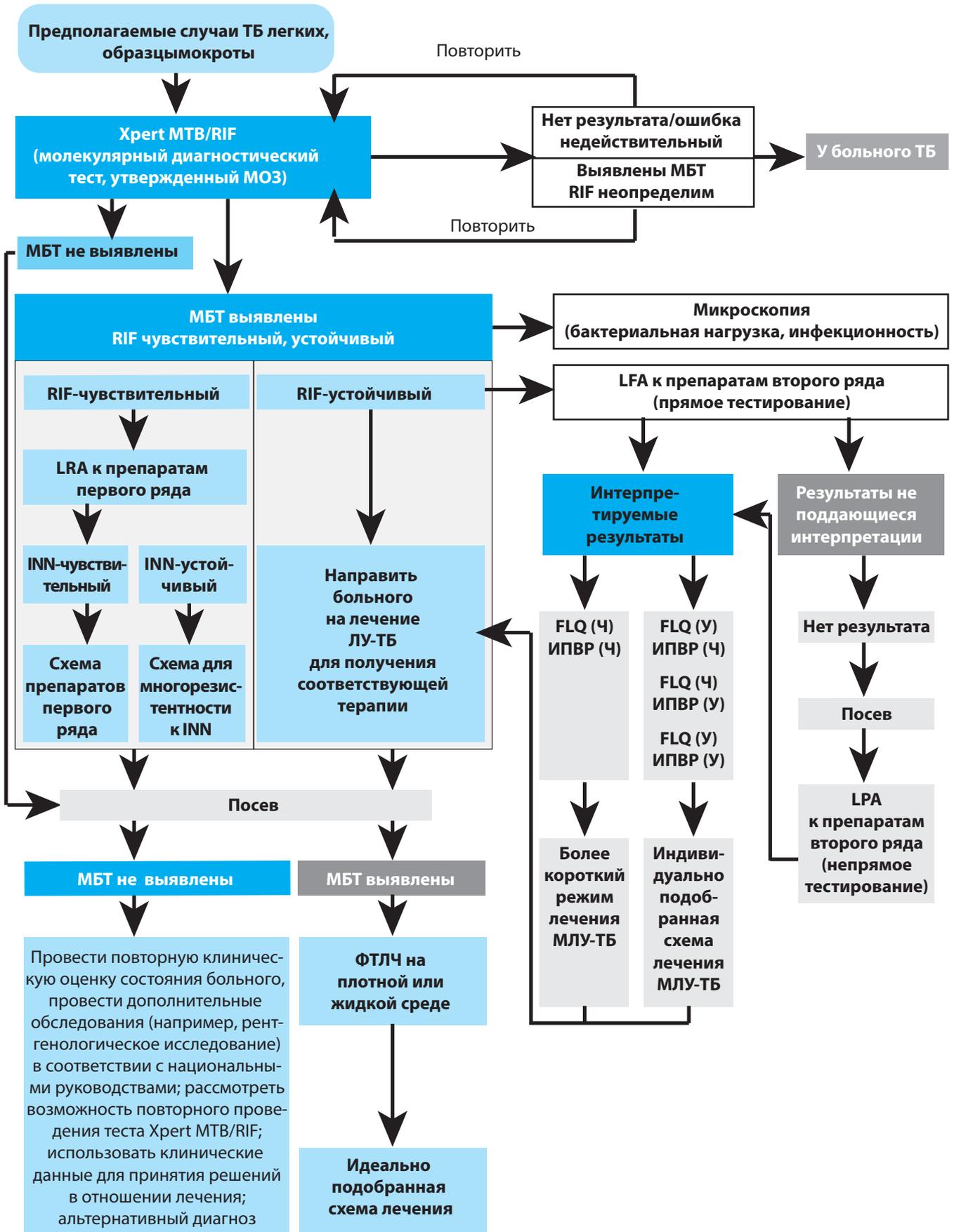


Рис.1. Алгоритм для первичной лабораторной диагностики у лиц с симптомами, указывающими на туберкулез легких

препаратам имеют хорошую достоверность и воспроизводимость, позволяют проводить диагностику туберкулеза с широкой лекарственной устойчивостью гарантированного качества.

Интерпретируя результаты, следует помнить, что LPA-анализ для препаратов 2-го ряда не может определить устойчивость к отдельным фторхинолонам. Ведущие к устойчивости мутации, выявленные при помощи LPA-анализа для препаратов 2-го ряда в высокой степени коррелируют с фенотипической устойчивостью к офлоксацину и левофлоксацину. Однако остается неясной корреляция этих мутаций с фенотипической устойчивостью к моксифлоксацину, поэтому для включения моксифлоксацина в схему лечения туберкулеза с широкой лекарственной устойчивостью лучше всего руководствоваться результатами фенотипического ТЛЧ. Мутации в некоторых регионах генома микобактерий туберкулезного комплекса комплекса (таких как промоторная область *eis*) могут быть ответственны за появление устойчивости к одному препарату группы аминогликозидов больше, чем к другим препаратам внутри той же группы, например, к канамицину [1].

Ситуация в Украине для внедрения нового алгоритма сложилась следующая:

- создана и функционирует сеть лабораторий по бактериологической диагностике туберкулеза;
- внедрены стандартные методики по диагностике туберкулеза;
- с 2011 г. в микробиологической диагностике туберкулеза, в том числе МЛУ/ШЛУ ТБ, применяется комплекс фено-генотипических исследований;
- комплексное исследование на туберкулез проводится из единой пробы диагностического материала с целью получения полной и всесторонней лабораторной информации и возможности осуществления внутреннего контроля качества применяемых методов диагности-

ки для каждого отдельно взятого образца материала;

- увеличивается из года в год количество бактериологически подтвержденных новых случаев туберкулеза;
- охвачено тестированием на медикаментозную резистентность 99,0 % с бактериологически подтвержденными случаями среди зарегистрированных больных туберкулезом;
- внедрены молекулярно-генетические методы диагностики туберкулеза во всех лаборатория 3-го уровня;
- внедрена система контроля качества микробиологических исследований в ТБ-лабораториях 1-3 уровней.

Трудности внедрения метода LPA.

Для эффективной работы и действенных результатов исследований с использованием молекулярно-генетических LPA методов необходимо использовать устойчивые финансовые и кадровые ресурсы в интересах развития возможностей проведения лабораторных исследований, оптимизации транспортировки лабораторных образцов и передачи данных. Следует учитывать финансы, помещения, кадры и их обучение, техническое обслуживание системы, нагрузку на систему в процессе работы, стоимость исследований, помощь в ходе интерпретации результатов, трудоемкость методики.

Поскольку на сегодняшний день LPA анализ требует сложной лабораторной инфраструктуры и оборудования, Hain Lifescience разрабатывает новые тесты анализа FluoroType MTBDR обнаружения устойчивости к изониазиду и рифампицину, а также к инъекционным препаратам второй линии и фторхинолонам в режиме реального времени, используя новую платформу Fluorotype [4].

Serfeid планирует разработать картридж XDR-TB для обнаружения устойчивости к изониазиду, инъекционным препаратам и фторхинолонам в качестве альтернативы LPA (2 квартал 2019 г.) [4].

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Молекулярные методы (гибридизация с ДНК зондами) для ускоренного скрининга пациентов с повышенным риском развития мультирезистентного туберкулеза / ВООЗ. Женева: ВООЗ, 2015, 87 с.
2. Руководство по внедрению диагностического теста XpertMTB/Rif. Технические и операционные рекомендации; вопросы практического применения / ВООЗ. Женева: ВООЗ, 2014, 48 с.
3. Algorithm for laboratory diagnosis and treatment-monitoring of pulmonary tuberculosis and drug-resistant tuberculosis using state-of-the-art rapid molecular diagnostic technologies / WHO. Geneva : WHO, 2017, 29 p
4. Global tuberculosis report / WHO. Geneva : WHO, 2017, 249 p