

Получена: 12 декабря 2017 / Принята: 21 декабря 2017 / Опубликовано online: 31 декабря 2017

УДК 616.24-002.5-615.015.8-071

## **К ВОПРОСУ О МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКЕ ТУБЕРКУЛЕЗА И ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.**

<sup>1</sup> **Дина Д. Чункаева**, <https://orcid.org/0000-0003-2466-9860>

<sup>1</sup> **Анаркуль А. Мансурова**, <https://orcid.org/0000-0003-0017-2921>

<sup>1</sup> Кафедра детских инфекционных болезней и фтизиатрии, Государственный медицинский университет города Семей, г. Семей, Республика Казахстан

**Введение:** Основной доказательной базой диагностики туберкулеза и лекарственной устойчивости является микробиологическая диагностика. В условиях растущей угрозы туберкулеза с множественной / широкой лекарственной устойчивостью одним из ключевых аспектов противотуберкулезной работы является правильный выбор быстрых и надежных методов диагностики.

**Цель исследования:** анализ литературы о текущем состоянии микробиологической диагностики туберкулеза, в том числе с лекарственной устойчивостью в Казахстане и некоторых зарубежных странах.

**Стратегия поиска:** проведен поиск научных публикаций в базах данных доказательной медицины (PubMed, Cochrane Library, ResearchGate) и в электронных научных библиотеках (CyberLeninka). Глубина поиска 10 лет (2007-2017). Критерии включения: отчеты о рандомизированных и когортных исследованиях, проведенных на больших популяциях; мета-анализы и систематические обзоры. Критерии исключения: резюме докладов, газетные публикации и личные сообщения. Были найдены 149 публикаций по данной теме, из них 55 отвечали цели нашего исследования.

**Результаты:** В последние годы в диагностике туберкулеза были совершены важные прорывы. Современные методы, имеющиеся сегодня в распоряжении лабораторий, позволяют с большой вероятностью подтвердить туберкулезную этиологию заболевания и определить лекарственную устойчивость возбудителя. Вместе с тем, в настоящее время ни один диагностический тест не удовлетворяет всем требованиям «быстрого», «недорогого» и «простого» исследования.

**Выводы:** Необходимо дальнейшее внедрение молекулярно-генетических методов и исследование рынка новых технологий по диагностике туберкулеза и лекарственной устойчивости, опираясь на качество, доступность и экономическую эффективность затрат.

**Ключевые слова:** *диагностические тесты на туберкулез, туберкулез с множественной / широкой лекарственной устойчивостью.*

### Summary

## **TO THE QUESTION OF MICROBIOLOGICAL DIAGNOSIS OF TUBERCULOSIS AND DRUG RESISTANCE. LITERATURE REVIEW.**

<sup>1</sup> **Dina D. Chunkayeva**, <https://orcid.org/0000-0003-2466-9860>

<sup>1</sup> **Anargul A. Mansurova**, <https://orcid.org/0000-0003-0017-2921>

<sup>1</sup> The Department of children's infectious diseases and phtysiatry, State Medical University, Semey city, Semey, Kazakhstan

**Introduction:** The main evidential base of diagnosis of tuberculosis and drug resistance is microbiological diagnostics. In the conditions of the growing threat of tuberculosis with multiple/wide drug resistance one of key aspects of anti-tuberculosis work is the right choice of fast and reliable diagnostic methods.

**Research aim:** the analysis of literature on current state of microbiological diagnosis of tuberculosis, including with drug resistance in Kazakhstan and some foreign countries

**Research strategy:** it was carried out the search of scientific publications in databases of evidential medicine (PubMed, Cochrane Library, ResearchGate) and in the electronic scientific libraries (CyberLeninka). The depth of search is 10 years (2007-2017). The inclusion criteria were: reports on randomized and cohort studies conducted on large populations; Meta-analyzes and systematic reviews. The summary of reports, newspaper publications and personal messages became criteria of an exception. 149 publications on this subject have been found, 55 of them answered to the purposes of our research.

**Results:** In recent years in diagnosis of tuberculosis important breaks have been made. The modern methods which are available today at laboratories allow to confirm a tuberculosis etiology of a disease with high probability and to define drug resistance of the microorganism. At the same time, nowadays there is no diagnostic test that meets all requirements of a "fast", "inexpensive" and "simple".

**Conclusions:** Further introduction of molecular-genetic methods and a research of the new technologies market for diagnosis of tuberculosis and drug resistance is necessary, relying on quality, availability and economic efficiency of expenses.

**Keywords:** *diagnostic tests on tuberculosis, tuberculosis with multiple/wide drug resistance.*

Түйіндеме

## **ТУБЕРКУЛЕЗ ЖӘНЕ ДӘРІГЕ ТӨЗІМДІЛІКТІҢ МИКРОБИОЛОГИЯЛЫҚ ДИАГНОСТИКАСЫ БОЙЫНША СҰРАҚТАР. ӘДЕБИЕТТЕРДІ ШОЛУ.**

<sup>1</sup> **Дина Д. Чункаева**, <https://orcid.org/0000-0003-2466-9860>

<sup>1</sup> **Анаркуль А. Мансурова**, <https://orcid.org/0000-0003-0017-2921>

<sup>1</sup> Балалардың инфекциялық аурулары және фтизиатрия кафедрасы,

<sup>1</sup> Акушерия және гинекология бойынша интернатура кафедрасы,

Семей қаласының Мемлекеттік медицина университеті,

**Кіріспе:** туберкулез бен дәрілік төзімділіктің негізгі дәлелденген диагностикалық базасы микробиологиялық диагностика болып табылады. Туберкулездің көптеген/көң дәрілік төзімді түрлерінің көбею қаупі жоғары болғандықтан, туберкулезге қарсы жұмыстың маңызды аспектілерінің бірі, тез және сенімді диагностикалық әдістерді дұрыс таңдау.

**Зерттеу мақсаты:** Қазақстанда және кейбір шетелдерінде туберкулездің микробиологиялық диагностикасының ағымдағы жағдайы сонымен қатар дәрілік төзімділік жайлы әдебиеттердің анализін жүргізу.

**Іздеу стратегиясы:** Дәлелді медицина деректер базасында (PubMed, Cochrane Library, ResearchGate) және электрондық ғылыми кітапханаларда (CyberLeninka) ғылыми басылымдарды іздестіру жүргізілді. Іздеу тереңдігі 10 жыл (2007-2017). Әдебиетті қосу критерийлері: үлкен популяцияларда жүргізілген, рандомизирленген мен когортты зерттеулер туралы есептер; жүйелі шолулар мен мета-анализдері кіргізілді. Шығару критерилері болып, есеп беру резюмесі, газет басылымдары және жеке хабарламалар жиынтығы болды. Осы тақырып бойынша 149 басылым табылды, оның ішінде 55 біздің зерттеулеріміздің мақсаты болды.

**Нәтижелер:** Соңғы жылдары туберкулезді диагностикалауда елеулі серпілістер болды. Зертханалардың иелігіндегі заманауи әдістер жоғары ықтималдықпен туберкулез қоздырғышын растауға және қоздырғыштың дәріге төзімділігін анықтауға мүмкіндік береді.

Сонмен қатар қазіргі кезде ешқандай диагностикалық тест “тез”, “арзан” және “қарапайым” зерттеудің барлық талаптарын қанағаттандыра алмайды.

**Қорытынды:** Шығындардың экономикалық эффективтілігіне, қол жетімділігіне, сапасына сүйене отырып, бұдан әрі молекулярлы-генетикалық әдістер мен зерттеулердің жаңа технологияларды енгізу арқылы туберкулезді және дәріге төзімділікті анықтау.

**Негізгі сөздер:** туберкулезге диагностикалық тесттер, көптеген/кең дәріге төзімділік.

#### **Библиографическая ссылка:**

Чункаева Д.Д., Мансурова А.А. К вопросу о микробиологической диагностике туберкулеза и лекарственной устойчивости. Обзор литературы // Наука и Здравоохранение. 2017. №6. С. 116-130.

Chunkayeva D.D., Mansurova A.A. To the question of microbiological diagnosis of tuberculosis and drug resistance. Literature review. *Nauka i Zdravookhranenie* [Science & Healthcare]. 2017, 6, pp. 116-130.

Чункаева Д.Д., Мансурова А.А. Туберкулез және дәріге төзімділіктің микробиологиялық диагностикасы бойынша сұрақтар. Әдебиеттерді шолу // Ғылым және Денсаулық сақтау. 2017. №6. Б. 116-130.

**Введение.** Лекарственно-устойчивый туберкулез (ЛУТБ) продолжает оставаться одной из актуальных проблем практического здравоохранения во всем мире [21;29;49]. Ежегодно в мире регистрируется полмиллиона новых случаев туберкулеза с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУТБ) [38]. По официальным данным, средняя предполагаемая распространенность первичного МЛУТБ в мире составляет 3,7% (колебания от 2,1% до 5,2%), а в 27 странах, в том числе странах бывшего Советского Союза, данный показатель превышает 6,5% - крайнюю пороговую величину. Среди ранее леченных больных предполагаемая распространенность МЛУТБ составляет в среднем 20% (колебания от 13% до 26%). В действительности же число таких больных может быть выше указанных величин в два или три раза. В Казахстане, за последние 10 лет, показатель первичной МЛУ увеличился почти в 2 раза и в 2015 г. составил 24,6%. Уровень МЛУ среди ранее леченных больных возрос на 7,2% и в 2015 г. составил 41,9% [39].

Настоящий период также характеризуется ростом числа больных туберкулезом с широкой лекарственной устойчивостью (ШЛУТБ). На сегодня 100 стран сообщили о взятии на учет случаев ШЛУТБ, являющегося наиболее тяжелой и приводящей к летальному исходу формой заболевания [10]. Последние данные свидетельствуют о высокой распространенности ШЛУТБ среди больных с МЛУТБ в Грузии (20,0%), Казахстане (22,7%),

Латвии (21,7%), Литве (24,8%) и Таджикистане (21,0%), при средних значениях 9,6% [44; 45].

У данного контингента больных современная противотуберкулезная химиотерапия является малоэффективной и нередко бесперспективной из-за лекарственной устойчивости [51]. Так, показатель успешного лечения больных когорты 2013г. составил 52% среди МЛУТБ и 28% среди ШЛУТБ [55].

Вместе с тем, по данным Глобального отчета ВОЗ в 2012г. немногим более 50% стран сообщили результаты теста лекарственной чувствительности (ТЛЧ) к препаратам первого ряда, и охват тестированием оставался низким. В мире только 5% новых больных туберкулезом с бактериовыделением и 9% больных, взятых на повторное лечение, были обследованы с целью выявления МЛУТБ. Среди пациентов с подтвержденным диагнозом МЛУТБ определение лекарственной чувствительности к фторхинолонам и инъекционным препаратам проводилось в 23% случаев. В 2015г. из 3,4 млн. бактериологически подтвержденных новых и ранее пролеченных больных туберкулезом, которые были заявлены во всем мире, тестированию на чувствительность к рифампицину подверглись 30%, причем охват новых больных составил 24%, а ранее пролеченных - 53% [40]. В Казахстане из-за низкого показателя всеваемости (49,1%) охват ТЛЧ от общего количества случаев легочного туберкулеза составил среди новых случаев 42,7%, среди ранее леченых случаев - 58,6%.

В сложившейся ситуации особую актуальность приобретает лабораторная диагностика туберкулеза и лекарственной устойчивости как один из важнейших факторов, определяющих успешность противотуберкулезной программы.

**Цель:** анализ литературы о текущем состоянии микробиологической диагностики туберкулеза, в том числе с лекарственной устойчивостью в Казахстане и некоторых зарубежных странах.

**Стратегия поиска:** проведен поиск научных публикаций в базах данных доказательной медицины (PubMed, Cochrane Library, ResearchGate) и в электронных научных библиотеках (CyberLeninka). Глубина поиска 10 лет (2007-2017). Критерии включения: отчеты о рандомизированных и когортных исследованиях, проведенных на больших популяциях; мета-анализы и систематические обзоры. Критериями исключения стали резюме докладов, газетные публикации и личные сообщения. Были найдены 149 публикаций по данной теме, из них 55 отвечали цели нашего исследования.

**Результаты.** Этиологическая диагностика туберкулеза с позиций доказательной медицины основывается на методах лабораторной диагностики, направленных на подтверждение наличия возбудителя в диагностическом материале (*Mycobacterium tuberculosis*, МБТ) и определение его характеристики (в первую очередь исключение/подтверждение лекарственной устойчивости). Для этой цели существуют десятки диагностических тестов, которые соответствуют концепции «увидеть микроорганизм, вырастить микроорганизм, размножить микроорганизм» [6]. В зарубежных публикациях перечень исследований сгруппирован по «статусу» следующим образом:

1 - технологии на начальном этапе разработки;

2 - прошли оценку ВОЗ, но не получили одобрения из-за недостаточной доказательной базы;

3 - имеются на рынке, но доказательства эффективной работы еще не представлены в ВОЗ для оценки;

4 - прошли оценку ВОЗ, но не рекомендованы к применению;

5 - технологии, рекомендованные ВОЗ [13; 52].

В Казахстане для диагностики туберкулеза применяются как классические методы, которые непрерывно совершенствуются, так и последние достижения на основе генодиагностики МБТ. Это стало возможным с июля 2011г. после подписания меморандума о договоренности между МЗ РК, ВОЗ и партнерами для участия в проекте по внедрению лабораторных методов быстрой диагностики туберкулеза в пилотных учреждениях с последующим расширением доступа в регионах.

#### **Микроскопическое исследование препаратов патологического материала**

Методика микроскопии для обнаружения кислотоустойчивых микобактерий (КУМ) остается одинаковой как при выявлении лекарственно-устойчивых, так и лекарственно-чувствительных *M.tuberculosis*. Основное предназначение микроскопии при лекарственно-устойчивом туберкулезе ограничивается определением степени инфекционной опасности пациента, ориентированием на использование различных методов посева и тестированием лекарственной чувствительности (ТЛЧ), а также подтверждением того обстоятельства, что микробы, выросшие на питательной среде, являются действительно микобактериями, а не контаминантами [11].

Исследование осуществляется с помощью световой микроскопии мазков, окрашенных по методике Циля-Нельсена (ЦН), или люминесцентной микроскопии с окраской флюорохромными красителями. Клеточная стенка возбудителя туберкулеза характеризуется высоким содержанием липидов, и для визуализации данного микроорганизма под микроскопом выполняется окрашивание. Немецкий бактериолог Франц Циль создал в 1882г. карболфуксиновый краситель, а в 1883г. совместно с патологом Фридрихом Нельсеном разработал метод окраски, который используется для идентификации КУМ.

В 1930-х годах была впервые использована люминесцентная микроскопия, основанная на проникновении в микробную клетку красителя аурамина или родамина. Метод не получил

широкого распространения из-за высокой стоимости люминесцентных микроскопов, значительного энергопотребления, необходимости использования оборудования только в темном помещении [12].

В 2010г. ВОЗ рекомендовала более совершенный метод люминесцентной микроскопии мокроты с использованием LED (light emission diode) нанотехнологий. Замена обычных ксеноновых и ртутных ламп светодиодами в корне изменили ее технические возможности и позволили снизить затраты энергии и стоимость оборудования, применять микроскопы без стационарного источника питания [41].

Следует отметить, что диагностическая чувствительность микроскопии с окраской люминесцентными красителями в среднем на 10% выше, чем микроскопии с окраской по ЦН. При люминесцентной микроскопии в сравнении с традиционной за рабочий день можно исследовать в 3 раза больше мазков (60-80 против 20-25), что особенно актуально в условиях высокой нагрузки на лабораторию. Комфортность исследования выше из-за резкости и контрастности микроскопической картины. Для глаза исследователя сложнее обнаружить красные микобактерии на ярко-голубом фоне клеточного детрита при окраске по ЦН. При люминесцентной микроскопии значительно легче выявить флуоресцирующие ярко-желтые микобактерии на темном фоне. Это достоинство метода делает его особенно ценным при исследовании материала с скудным содержанием микобактерий туберкулеза [28].

Таким образом, микроскопия методом ЦН является одним из базисных методов, подтверждающих диагноз, и успешно применяется уже более 100 лет из-за сравнительной простоты, доступности, дешевизны, оставаясь самым широко-доступным методом во всем мире. Обладает высокой специфичностью (89-100%), около 97% положительных результатов однозначно подтверждаются результатами посева [15]. □

Вместе с тем, метод характеризуется большим количеством ограничений. По определению, для этого исследования требуется мокрота, сбор которой является сложной процедурой у детей и не подходит в

качестве образца для диагностики внелегочного туберкулеза [2]. На практике возможность положительных ответов микроскопии мазка имеется при содержании около 10000 КУМ в 1 мл мокроты. Для повышения чувствительности метода необходимо дополнительно использовать методики обогащения материала - флотация, седиментация [27]. Микроскопия не позволяет дифференцировать видовую принадлежность МБТ, а также лекарственно-чувствительный туберкулез от лекарственно-устойчивого [33].

#### **Культуральное исследование биоматериала**

Культуральные методы исследования, или методы посева, основываются на выращивании микобактерий, содержащихся в диагностическом материале, на искусственных средах. В случае МБТ эти методы нашли применение еще в первой половине XX века. Для культивирования МБТ из диагностического материала используют 3 основных вида питательных сред: плотные питательные среды на яичной основе, среды на основе агара, а также жидкие питательные среды.

Классической стандартной средой для первичного выделения возбудителя туберкулёза по рекомендации ВОЗ является яичная среда Левенштейна-Йенсена (ЛЙ). Она была разработана австрийским бактериологом E. Lowenstein, в последующем модифицирована датским бактериологом K. Jensen. Микобактерии туберкулеза очень требовательны к составу питательной среды и для нормального развития нуждаются в глутаминовой и особенно аспарагиновой кислоте, глицерине (источнике углеводов), микроэлементах. Стимулятором роста является лецитин, содержащийся в больших количествах в яичном желтке. Посевы выдерживают в термостате при 37°C в течение 10-12 недель при регулярном еженедельном просмотре. Вирулентные культуры МБТ растут на плотных питательных средах в виде R-колоний (шероховатых) различной величины. Колонии чаще сухие, морщинистые, цвета слоновой кости, иногда с розоватым или желтоватым оттенком. Гладкие колонии (S-формы) характерны для микобактерий бычьего типа, которые в последние годы встречаются крайне редко.

С целью запуска иных путей синтеза аминокислот возбудителя применяют один вариант яичной среды - Финн-II. В отличие от среды ЛИ для ускорения роста микобактерий L-аспарагин заменяют глутаматом натрия. При этом несколько повышается не только скорость культивирования, но и на 6-8% частота выделения микобактерий [22].

Многочисленными исследованиями доказано, что для получения положительных результатов бактериологическим методом достаточно содержание в 1 мл исследуемого материала от 20 до 100 жизнеспособных микробных клеток. По сравнению с микроскопией посева выявляют на 30-50% больше случаев и позволяют непосредственно получить изоляты для ТЛЧ. Серьезным недостатком является длительность культивирования МБТ, которая в среднем составляет почти два месяца. Это создает значительные сложности для своевременного подтверждения диагноза и начала адекватной химиотерапии [3]. Кроме того, продолжительность роста ограничивает диагностические возможности клиницистов, МБТ выявляются лишь в 52-65% случаев туберкулеза легких, а в клинике внелегочного туберкулеза удельный вес их выявления еще ниже [8;19].

В последние годы предложены питательные среды на агаровой основе с различными ростовыми добавками и применением специальной газовой смеси. Для получения роста на этих средах при культивировании создают атмосферу с повышенным содержанием углекислого газа (4-7%). С этой целью используют специальные CO<sub>2</sub>-инкубаторы [18]. Однако наибольшее развитие получили автоматизированные системы культивирования МБТ, основанные на применении жидких питательных сред: BACTEC MGIT-960 (Becton Dickinson Microbiology Systems, Sparks, MD), VersaTREK Myco (Trek Diagnostic Systems, Westlake, OH), BacT/Alert 3D (bioMérieux, Durham, NC) [9; 53].

Прибор BACTEC MGIT-960 - это лабораторный анализатор из трех секций вместимостью 960 пробирок. В течение года объем возможных исследований составляет 8 тыс. образцов диагностического материала. Вес прибора 351 кг, габариты относительно небольшие (92\*135\*85 см). Для выделения

возбудителя осуществляется постоянный компьютерный мониторинг состояния бактериальной популяции. Пробирка MGIT (Mycobacterial Growth Indicator Tube) с обогащенной жидкой питательной средой Middlebrook 7H9 является основным компонентом системы. На дне пробирки под силиконом имеется флюоресцентный индикатор роста, который реагирует на концентрацию кислорода. При высоком содержании кислорода свечение флюоресцентного компонента отсутствует, но появляется при поглощении кислорода из среды растущими и активно дышащими микроорганизмами. Технология MGIT предполагает ультрафиолетовое тестирование индикаторных пробирок с диагностическим материалом при помощи встроенного компьютера каждые 60 минут. На жидко-кристаллическом дисплее специальные индикаторы высвечивают информацию о наличии положительных и отрицательных посевов. Если количество живых микробов достигло 100 тыс. на 1 мл среды, то прибор BACTEC MGIT-960 оценивает пробирку как позитивную. Результат фиксируется в специальных единицах роста GU (Growth Unit).

Авторы публикаций по изучению эффективности данной системы отмечают значительную минимизацию влияния «человеческого фактора» в технологический процесс и повышение скорости диагностики от 28-42 до 10-21 дней [20]. Благодаря использованию автоматизированной системы BACTEC-960 удалось чаще выделять культуру МБТ по сравнению с плотными средами ЛИ в среднем на 16% из положительных и на 4,5% из отрицательных по мазку образцов диагностического материала [47]. Но, так как реагенты и расходные материалы для исследования изготавливаются и поставляются единственным производителем в мире, себестоимость анализов остается высокой. А также при проведении посевов на жидкие среды по сравнению с плотными контаминация выше (7-8% и 3-5% соответственно) [7].

В целом большой опыт применения культуральных исследований в Казахстане и за рубежом показал, что метод является трудоемким, требует значительных капиталовложений, наличия высококвалифицирован-

ного персонала, помещений и материально-технической базы для приготовления питательных сред, обработки образцов и культивирования микроорганизмов, специализированного лабораторного оборудования и надлежащих условий, обеспечивающих биологическую безопасность [25]. Несмотря на перечисленные недостатки, этот метод считается наиболее стандартизированным из всех применяемых сегодня микробиологических методов.

#### **Тестирование на лекарственную чувствительность**

Диагноз ЛУТБ не может быть установлен без исследования по определению лекарственной чувствительности выделенного возбудителя к ПТП [1]. Культуральные, или фенотипические методы определяют чувствительность или устойчивость выделенной культуры (штамма) МБТ по их росту на стандартной питательной среде в присутствии ПТП в его критической концентрации. Критические концентрации ПТП (мкг/мл) зависят от используемого метода и питательной среды [24].

При тестировании лекарственной чувствительности нельзя использовать те лекарственные формы, которые назначают пациентам в клинике. Для исследования необходимо применять химические чистые субстанции, которые можно получить только от самих производителей. Точность результатов ТЛЧ варьируется в зависимости от лекарственных препаратов. Наиболее достоверные результаты отмечаются при тестировании чувствительности к изониазиду и рифампицину, и менее надежные - к стрептомицину и этамбутолу.

Основными тестами для определения лекарственной чувствительности МБТ к ПТП являются: метод пропорций и метод абсолютных концентраций [5].

Наиболее точным является метод пропорций. В Казахстане он внедрен с 2009г [17]. Данный метод является более достоверным и позволяет исследовать диагностический материал, содержащий любое количество МБТ, поскольку для определения лекарственной устойчивости используются штаммы, предварительно выделенные на питательных средах.

Полученную чистую культуру МБТ пересевают на плотные питательные среды, содержащие субстанции ПТП. Затем проводится сравнение числа колоний МБТ, выросших на среде без антибиотика, и на среде, содержащей ПТП в критической концентрации. Если количество КОЕ на среде с препаратом составляет более 1% от числа колоний, выросших в контрольной пробирке, то культура считается устойчивой к данному антибиотику.

В Российской Федерации наиболее распространенным является метод абсолютных концентраций [16]. Суть метода заключается в дозированном посеве полученной из выросшей культуры микобактериальной суспензии в пробирки с питательной средой ЛИ, содержащей ПТП в критической концентрации, а также в пробирки со средой без антибиотиков. Оценка результатов осуществляется на 21-й день после посева по наличию роста МБТ на средах, содержащих ПТП. Культура считается чувствительной, если число колоний МБТ, выросших в пробирке с антибиотиком, не превышает 20, и при условии обильного роста в контрольной пробирке. При наличии 20 и более колоний в пробирке с препаратом и обильном росте в контрольной пробирке культура расценивается как устойчивая.

В системе BACTEC MGIT-960 для определения лекарственной чувствительности МБТ к ПТП используется набор индикаторных пробирок, содержащих препараты, которые крепятся на специальном носителе со штрих-кодом для непрерывного мониторинга скорости размножения культуры и определения ее статуса: R (Resistant) - устойчивый и S (Susceptible) - чувствительный.

Учитывая, что наличие сведений о спектре лекарственной устойчивости имеет стратегическое значение для лечения туберкулеза, преимущество системы BACTEC MGIT-960 для определения ТЛЧ неоспоримо, особенно в странах с неблагоприятной ситуацией по лекарственно-устойчивому туберкулезу [4]. После получения положительного посева определение ТЛЧ на жидких питательных средах занимает 1-3 недели. На плотных средах возможность определения ТЛЧ составляет 4-6 недель, что делает результат ретроспективным. Кроме

того, бактериологический анализатор ВАСТЕС MGIT-960 имеет специальный набор реактивов для проведения ТЛЧ МБТ к пиразинамиду, для которого не существует способа оценки чувствительности на плотных средах [34].

#### **Современные ускоренные молекулярно-генетические методы диагностики**

Метод амплификации нуклеиновых кислот (МАНК) - метод, применяемый для обнаружения МБТ и других патогенов. Тесты МАНК отыскивают генетический материал или молекулы микроорганизма (т.е. ДНК или РНК) в пробах [32]. На сегодняшний день доступны три разных тест-системы, основанные на МАНК и рекомендуемые ВОЗ: GeneXpert MTB/RIF, метод молекулярной гибридизации с типоспецифичными зондами (LPA) и петлевая изотермическая амплификация (LAMP).

В 2010г. ВОЗ одобрила метод полимеразной цепной реакции (ПЦР) с использованием платформы Gene-Xpert (компания Саннивейл, Калифорния, США). Xpert MTB/RIF представляет собой однократный тест, который позволяет выявить наличие комплекса *M. tuberculosis* и устойчивости к рифампицину в течение 2 часов с момента начала теста по присутствию мутаций в гене *rpoB* [23]. В отличие от традиционных тестов амплификации нуклеиновых кислот (НААТ) тест Xpert MTB/RIF позволяет проводить процессы подготовки образцов, ПЦР-амплификации и получения результата в рамках одного замкнутого тестового модуля, которым является картридж Xpert MTB/RIF. После загрузки образцов все этапы анализа проходят автоматически и внутри картриджа. Может применяться для исследования других материалов (плевральной жидкости, пунктата лимфатических узлов, мочи, ликвора) в целях диагностики внелегочного туберкулеза [42]. Договорная цена прибора GeneXpert на четыре картриджа для отвечающих требованиям стран составляет примерно 17 000 долл. США, стоимость одного картриджа равна примерно 10 долл. США.

По результатам мета-анализа диагностическая чувствительность этой тест-системы для диагностики туберкулеза легких составляет 88% (84-92%), специфичность - 99% в сравнении с результатами посева на плотные и жидкие среды. Средняя

чувствительность для образцов с положительным результатом микроскопии составила 98% (97-99%), для образцов с отрицательным результатом микроскопии - 68% (61-74%). Данные клинических испытаний GeneXpert для выявления возбудителя во внелегочных материалах дают среднюю чувствительность, варьирующую от 43,7% для плевральной жидкости до 84,9% для лимфатических узлов [43].

Выявлено 12 научных публикаций, в которых сравнивалась стоимость использования Xpert MTB/RIF со стоимостью используемых на данный момент диагностических алгоритмов. Большинство анализов было проведено в ЮАР (10 исследований); два из них также включали в себя другие страны Африки к югу от Сахары (Ботсвана, Лесото, Намибия, Свазиленд и Уганда); одно исследование было проведено в странах бывшего СССР; был также проведен один глобальный анализ. Обзор фактических данных указывает на экономическую эффективность Xpert MTB/RIF для диагностики МЛУТБ по сравнению с текущими методами. Использование Xpert MTB/RIF может обходиться в 0,09 млрд. долл. США в год, что меньше стоимости традиционной диагностики, используемой во всем мире и во всех странах с высокой туберкулезной нагрузкой [54].

Множеством исследований, выполненных в различных лабораториях мира, установлено, что Xpert MTB/RIF обладает значительно большей чувствительностью, чем метод микроскопии, имея сравнимую с ней диагностическую специфичность. Он несколько уступает в чувствительности методу посева, но позволяет получить результат в течение нескольких часов и дает возможность с большой вероятностью подтвердить наличие у больного МЛУТБ [14; 35].

Следующая тест-система GenoType MTBDRplus производится компанией Hain's Lifescience (Германия). После амплификации региона генетического материала, ассоциированного с устойчивостью к конкретному препарату, мутации выявляются по наличию или отсутствию связывания с зондами, которые проявляются в виде цветных участков на полоске (стрип). Результаты теста визуально считывают по цвету участков на стрипе. В зависимости от

того, к каким препаратам LPA (line probe assay) позволяет выявить устойчивость, т.е. к препаратам первой или второй линии (изониазид и рифампицин или некоторые фторхинолоны и инъекционные препараты соответственно), он называется LPA первой или второй линии [50]. LPA первой линии позволяет выявить резистентность к рифампицину и изониазиду менее чем за два часа. Детекция антибиотикорезистентности осуществляется путем идентификации наиболее распространенных сопряженных с ЛУ мутаций в геноме МБТ: в гене *groV* (устойчивость к рифампицину), в генах *katG* и *inhA* (устойчивость к изониазиду). ВОЗ рекомендовала LPA первой линии в 2008г. Договорная цена FIND за тест, в случае LPA первой линии, составляет примерно 7,95 долл. США, а стоимость набора (96 тестов) - 795 долл. США. Расчетная стоимость всех компонентов прибора, необходимых для проведения теста, равна 46 580 долл. США. Тест-система для LPA второй линии под названием MTBDRsl была рекомендована к применению ВОЗ в 2016г. и позволяет выявить устойчивость к некоторым фторхинолонам (офлоксацину и левофлоксацину), всем инъекционным препаратам (канамицину, амикацину и капреомицину) и этамбутолу за один рабочий день (детекция мутаций в генах *gyrA*, *rrs*, *embB*) [30].

По данным мета-анализа публикаций группы экспертов ВОЗ чувствительность и специфичность GenoType MTBDRplus для рифампицина составили 98,1% и 98,7%, для изониазида 84,3% и 99,5% соответственно. Для ПТП второго ряда чувствительность при определении устойчивости к фторхинолонам составила 83,1%, а суммарная чувствительность определения ШЛУ - 70,9%. Специфичность для этих препаратов составила 97,7% и 98,8% соответственно [36].

Производителем тест-систем TB LAMP является Eiken Chemical Company Ltd (Токио, Япония). TB LAMP (loop-mediated isothermal amplification) не обладает большим количеством сравнительных преимуществ [46]. Тест менее специфичен, чем микроскопия мокроты и менее чувствителен, чем GeneXpert. Не может применяться для мониторинга терапии, поскольку не различает живые и мертвые

бактерии. Особенно учитывая тот факт, что LAMP не позволяет выявить устойчивость к рифампицину, данный тест пока не нашел широкого применения [37].

Разработку и применение молекулярно-генетических методов можно рассматривать как наиболее перспективное направление в развитии микробиологической диагностики туберкулеза [48]. При этом алгоритм диагностики наряду с новейшими технологиями включает обязательное параллельное использование «золотого» стандарта – культуральных методов с последующим определением ТЛЧ [26]. В связи с этим, перед научным сообществом стоят задачи дальнейшего поиска новых высокоинформативных экспресс-методов диагностики туберкулеза [31].

**Заключение.** Несмотря на значительный прогресс в диагностике туберкулеза, обзор публикаций в отечественных и зарубежных источниках, подтверждает, что в настоящее время ни один диагностический тест не удовлетворяет всем требованиям «быстрого», «недорогого» и «простого» исследования. Имеющиеся в арсенале традиционные методы культуральных исследований и определения ТЛЧ требуют длительного времени и обременительны. За это время пациенты могут проходить неадекватный курс лечения, может продолжаться циркуляция лекарственно-устойчивых штаммов и может иметь место расширение спектра резистентности МБТ. Внедрение высокотехнологичных методов диагностики туберкулеза (BACTEC MGIT-960, Hain-тест, Gene-Xpert) способствовало своевременной диагностике туберкулеза с лекарственной устойчивостью. Основным достоинством всех молекулярно-генетических методов является быстрое и достоверное выявление лекарственной устойчивости к рифампицину, что является надежным маркером МЛУТБ. Но вследствие высокой стоимости тестов, а также в связи с необходимостью наличия сложной лабораторной инфраструктуры и подготовленного персонала имеются определенные ограничения для их использования. Необходимо дальнейшее исследование рынка новых технологий по диагностике ЛУТБ, опираясь на качество, доступность и экономическую эффективность затрат.

**Литература:**

1. Альварес Фигероа М.В., Леви Д.Т. Этиологическая диагностика заболеваний, вызываемых микобактериями // Инфекционные болезни. 2014. №2. С. 95-99.
2. Аксенова В.А., Барышникова Л.А., Довгалак И.Ф. Федеральные клинические рекомендации по диагностике и лечению туберкулеза органов дыхания у детей // Медицинский альянс. 2015. №3. С. 10-23.
3. Алексеева Г.И. Оптимизация микробиологической диагностики туберкулеза. Особенности эпидемического процесса туберкулеза в Республике Саха (Якутия): дис. ... д-ра мед.наук. Москва, 2010. 32 с.
4. Балабанова Я.М., Федорин Н.А., Маломанова Н.А. Использование автоматизированной системы Bactec MGIT-960 в диагностике лекарственной устойчивости к резервным противотуберкулезным препаратам в г.Самаре // Туберкулез и болезни легких. 2009. №10. С. 63-70.
5. Васильева И. А., Эргешов А.Э. Федеральные клинические рекомендации по диагностике и лечению туберкулеза органов дыхания с множественной и широкой лекарственной устойчивостью возбудителя. Москва. Тверь: Триада, 2014. 11 с.
6. Вахрушева Д.В. Еремеева Н.И. К вопросу о выборе методов этиологической диагностики туберкулез // Медицинский альянс. 2014. №1. С. 86-90.
7. Вахрушева Д.В., Скорняков С.Н. Расчет клинической и экономической эффективности алгоритмов этиологической диагностики туберкулеза // Туберкулез и болезни легких. 2017. №5. С. 65-71.
8. Вишневецкий Б.И. Лекарственная устойчивость микобактерий туберкулеза // Медицинский альянс. 2017. №1. С. 29-35.
9. Возякова Т.Р., Стебловская О.Е., Максимова В.Н. Метод ускоренной диагностики туберкулеза // Здравоохранение Чувашии. 2010. №2. С.21-26.
10. Гайда А.И. Неотложные мероприятия по предупреждению распространения туберкулеза легких с широкой лекарственной устойчивостью микобактерий в Архангельской области: дис. ... к-та мед.наук. Архангельск, 2015. 25 с.
11. Гуревич Г.Л., Скрягина Е.М., Залуцкая О.М. Диагностика и дифференциальная диагностика туберкулеза легких на различных уровнях оказания медицинской помощи в Республике Беларусь // Туберкулез и болезни легких. 2014. №1. С. 14-20.
12. Гольшевская В.И., Егорова О.В. Люминесцентная микроскопия. Москва. Тверь: Триада, 2008. 15 с.
13. Доклад о глобальной борьбе с туберкулезом. ВОЗ. Женева. 2016.
14. Елисеев П.И. Роль молекулярно-генетических методов Genotype в повышении эффективности диагностики туберкулеза с лекарственной устойчивостью микобактерий и микобактериозов: дис. ... к-та мед.наук. Санкт-Петербург, 2013. 19 с.
15. Ерохин В.В., Гольшевская В.И., Севастьянова Э.В., Шульгина М.В. Микробиологические методы диагностики туберкулеза. Москва. Тверь: Триада, 2008. 31 с.
16. Игнатьева О.А. Лекарственная устойчивость штаммов *Mycobacterium tuberculosis* и оптимизация диагностических алгоритмов на примере Самарской области: дис. ... к-та биол.наук. Самара, 2015. 29 с.
17. Исмаилов Ш.Ш., Назирова Н.И. Руководство по контролю над туберкулезом в Республике Казахстан. Алматы, 2008. 33 с.
18. Ким Т.М., Артыкбаева А.К., Ишенова Г.И. Методы выявления микобактерий туберкулеза // Наука, новые технологии и инновации. 2015. №3. С.68-69.
19. Котович Д.С. Совершенствование диагностики туберкулезного плеврита на основе комплексного обследования с применением молекулярно-генетических методов: дис. ... к-та мед.наук. Гродно, 2017. 16 с.
20. Маркелов Ю.М., Айзиков Д.Л. Клиническая и экономическая эффективность использования MGIT-960 для определения спектра лекарственной устойчивости микобактерий туберкулеза // Туберкулез и болезни легких. 2012. № 8. С. 50-55.
21. Новый отчет ВОЗ по туберкулезу о глобальной угрозе устойчивости к лекарствам. ВОЗ. Женева. 2016.
22. Перельман М.И. Фтизиатрия. Национальное руководство. Москва. ГЭОТАР-Медиа, 2017. 158 с.

23. Попов С.А., Сабгайда Т.П. Основные направления развития лабораторной диагностики туберкулеза // Туберкулез и болезни легких. 2012. №6. С. 3-13.
24. Приказ МЗСР РК №19 от 22 августа 2014г. «Об утверждении Инструкции по организации и осуществлению профилактических мероприятий по туберкулезу».
25. Севастьянова Э.В. Совершенствование микробиологической диагностики туберкулеза в учреждениях противо-туберкулезной службы и общей лечебной сети: дис. ... д-ра биол. наук. Москва, 2009. 17 с.
26. Севастьянова Э.В., Пузанов В.А., Смирнова Т.Г., Ларионова Е.Е., Черноусова Л.Н. Оценка комплекса микробиологических и молекулярно-генетических методов исследований для диагностики туберкулеза // Туберкулез и болезни легких. 2015. №1. С. 35-41.
27. Серегина В.А., Будрицкий А.М. Современные возможности диагностики туберкулеза легких // Вестник ВГМУ. 2016. №4. С. 7-17.
28. Скорняков С.Н., Шутьгина М.В., Ариэль Б.М., Баласанянц Г.С. Клинические рекомендации по этиологической диагностике туберкулеза // Медицинский альянс. 2014. №3. С. 39-58.
29. Arias F., Scappaticcio A., Herrera T. Primary resistance to antituberculosis drugs in Chile 2011-2012. // *Revista Chilena Infectologia*. 2015. №4. P. 382-386.
30. Avalos E., Catanzaro D., Catanzaro A., Ganiats T., Brodine S., Alcaraz J., Rodwell T. Frequency and geographic distribution of *gyrA* and *gyrB* mutations associated with fluoroquinolone resistance in clinical *Mycobacterium tuberculosis* isolates: a Systematic Review. *PLoS One*. 2015. 10(3): e0120470.
31. Boritsch E.C., Brosch R. Evolution of *Mycobacterium tuberculosis*: New Insights into Pathogenicity and Drug Resistance // *Microbiology Spectrum*. 2016. №4. P. 1-2.
32. Bwanga F., Hoffner S., Haile M., Joloba M.L. Direct susceptibility testing for multi drug resistant tuberculosis: a meta-analysis // *BMC Infectious Diseases*. 2009. №9. P. 67.
33. Davis J.L., Cattamanchi A., Cuevas L.E., Hopewell P.C., Steingart K.R. Diagnostic accuracy of same-day microscopy versus standard microscopy for pulmonary tuberculosis: a systematic review and meta-analysis // *Lancet Infectious Diseases*. 2013. №2. P. 147-154.
34. Demers A.M., Venter A., Friedrich S.O., Rojas-Ponce G., Mapamba D. Direct Susceptibility Testing of *Mycobacterium tuberculosis* for Pyrazinamide by Use of the Bactec MGIT 960 System // *Clinical Microbiology*. 2016. №5. P. 81.
35. Drobniowski F., Cooke M., Jordan J., Casali N., Mugwagwa T. Systematic review, meta-analysis and economic modelling of molecular diagnostic tests for antibiotic resistance in tuberculosis // *Health Technology Assessment*. 2015. №19. P.181-188.
36. Feng Y., Liu S., Wang Q., Wang L., Tang S., Wang J., Lu W. Rapid diagnosis of drug resistance to fluoroquinolones, amikacin, capreomycin, kanamycin and ethambutol using genotype MTBDRsl assay: a meta-analysis. *PLoS One*. 2013. 8(2): e55292.
37. Gilpin C., Korobitsyn A. The Use of Loop-Mediated Isothermal Amplification (TB-LAMP) for the Diagnosis of Pulmonary Tuberculosis: Policy Guidance. WHO. Geneva. 2016.
38. Global tuberculosis report 2013. World Health Organization. Geneva. <http://apps.who.int/iris/handle/10665/91355>.
39. Global tuberculosis report 2015. World Health Organization. Geneva. [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/191102/1/9789241565059\\_eng.pdf](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/191102/1/9789241565059_eng.pdf).
40. Global tuberculosis report 2017. World Health Organization. Geneva. [http://www.who.int/tb/publications/global\\_report/en/](http://www.who.int/tb/publications/global_report/en/).
41. Implementing TB diagnostics. World Health Organization. Geneva: WHO policy framework. 2015.
42. Lawn S., Mwaba P., Bates M., Piatek A., Alexander H., Marais B., Cuevas L. Advances in tuberculosis diagnostics: The Xpert MTB/RIF assay and future prospects for a point-of-care test // *Lancet Infectious Diseases*. 2013. №4. P. 349-361.
43. Li S., Liu B., Peng M., Chen M., Yin W., Tang H., Luo Y., Hu P., Ren H. Diagnostic accuracy of Xpert MTB/RIF for tuberculosis detection in different regions with different endemic burden: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One*. 2017. 12(7): e0180725.

44. *Leimane V.* Treatment and management of MDR-TB in Latvia // *Bulletin of the World Health Organization*. 2013. Vol. 85, №5. P. 325-420.

45. *Musteikienė G., Miliauskas S., Sakalauskas R., Vitkauskienė A., Žemaitis M.* Multidrug-resistant tuberculosis in Lithuania - Still a long way ahead. *Medicina (Kaunas)*. 2016. №2. P. 69-78.

46. *Nliwasa M., MacPherson P., Chisala P., McEwen Khundi M.* The Sensitivity and Specificity of Loop-Mediated Isothermal Amplification (LAMP) Assay for Tuberculosis Diagnosis in Adults with Chronic Cough in Malawi. *PLoS One*. 2016. 11(5): e0155101.

47. *Ogwang S., Mubiri P., Bark C.M., Joloba M.L., Boom W.H., Johnson J.L.* Incubation time of Mycobacterium tuberculosis complex sputum cultures in BACTEC MGIT 960: 4 weeks of negative culture is enough for physicians to consider alternative diagnoses // *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. 2015. №2. P. 162-164.

48. *Pai M., Nicol M.P., Boehme C.C.* Tuberculosis Diagnostics: State of the Art and Future Directions // *Microbiology Spectrum*. 2016. №4. P. 17-19.

49. *Prasad R., Gupta N., Singh M.* Multidrug resistant tuberculosis: trends and control // *Indian Journal of Chest Diseases and Allied Sciences*. 2014. №4. P. 237-246.

50. *Theron G., Peter J., Richardson M., Barnard M., Donegan S., Warren R.* The diagnostic accuracy of the GenoType® MTBDRsl assay for the detection of resistance to second-line anti-tuberculosis drugs // *Cochrane Database of Systematic Reviews*. 2014. (10):CD010705.

51. *Tritar F., Daghfous H., Ben Saad S., Slim-Saidi L.* Management of multidrug-resistant tuberculosis. *Revue de Pneumologie Clinique*. 2015. №2. P. 130-139.

52. *Tuberculosis: Diagnostics Technology and Market Landscape*. Geneva, UNITAID/World Health Organization, 2013.

53. *Van Deun A., Martin A., Palomino J.C.* Диагностика лекарственно-устойчивого туберкулеза: достоверность и скорость выявления. // *Туберкулез и легочные заболевания*. 2011. №1. С. 20-44.

54. *Weyer K., Mirzayev F., Migliori G.B., Gemert W.V.* Rapid molecular TB diagnosis:

evidence, policy-making and global implementation of Xpert® TB/RIF // *European Respiratory Journal*. 2013. №42. P. 252-271.

55. *Zignol M., Dara M., Dean AS., Falzon D., Dadu A., Kremer K., Hoffmann H., Hoffner S., Floyd K.* Drug-resistant tuberculosis in the WHO European Region: an analysis of surveillance data // *Drug Resist Updat*. 2013. №6. P. 108-115.

#### References:

1. *Al'vares Figueroa M.V., Levi D.T.* Etiologicheskaya diagnostika zaboolevaniy, vyzyvaemykh mikobakteriyami [Causative diagnosis of the diseases caused by mycobacteria]. *Infektsionnye bolezni* [Infectious diseases]. 2014. №2. pp. 95-99. [in Russian]

2. *Aksenova V.A., Baryshnikova L.A., Dovgalyuk I.F.* Federal'nye klinicheskie rekomendatsii po diagnostike i lecheniyu tuberkuleza organov dykhaniya u detei [Federal clinical recommendations on diagnostics and treatment of tuberculosis of respiratory organs at children]. *Meditsinskii al'yans* [Medical alliance]. 2015. №3. pp. 10-23. [in Russian]

3. *Alekseeva G.I.* Optimizatsiya mikrobiologicheskoi diagnostiki tuberkuleza. Osobennosti epidemicheskogo protsessa tuberkuleza v Respublike Sakha (Yakutiya) [Optimization of microbiological diagnosis of tuberculosis. Features of epidemic process of tuberculosis in the Sakha (Yakutia) Republic]. Dis. ... d-ra med.nauk [Dr. of medical sciences dissertation]. Moskva, 2010. 32 p. [in Russian]

4. *Balabanova Ya.M., Fedorin N.A., Malomanova N.A.* Ispol'zovanie avtomatizirovannoi sistemy Bactec MGIT-960 v diagnostike lekarstvennoi ustoichivosti k rezervnym protivotuberkuleznym preparatam v g.Samare [Use of the automated Bactec MGIT-960 system in diagnostics of drug resistance to reserve antituberculosis medicines in Samara]. *Tuberkulez i bolezni legkikh* [Tuberculosis and pulmonary diseases]. 2009. №10. pp. 63-70. [in Russian]

5. *Vasil'eva I. A., Ergeshov A.E.* Federal'nye klinicheskie rekomendatsii po diagnostike i lecheniyu tuberkuleza organov dykhaniya s mnozhestvennoi i shirokoi lekarstvennoi ustoichivost'yu vzbuditelya [Federal clinical recommendations on diagnostics and treatment of tuberculosis of respiratory organs with multiple

and wide drug resistance of the causative agent]. Moskva. Tver': Triada, 2014. 11 p. [in Russian]

6. Vakhrusheva D.V., Ereemeeva N.I. K voprosu o vybore metodov etiologicheskoi diagnostiki tuberkulez [To a question of the choice of methods of etiological diagnostics of tuberculosis]. *Meditsinskii al'yans* [Medical alliance]. 2014. №1. pp. 86-90. [in Russian]

7. Vakhrusheva D.V., Skornyakov S.N. Raschet klinicheskoi i ekonomicheskoi effektivnosti algoritmov etiologicheskoi diagnostiki tuberkuleza [Calculation of clinical and economic efficiency of algorithms of etiologic diagnosis of tuberculosis]. *Tuberkulez i bolezni legkikh* [Tuberculosis and pulmonary diseases]. 2017. №5. pp. 65-71. [in Russian]

8. Vishnevskii B.I. Lekarstvennaya ustoichivost' mikobakterii tuberkuleza [Drug resistance of tuberculosis mycobacteria]. *Meditsinskii al'yans* [Medical alliance]. 2017. №1. pp. 29-35. [in Russian]

9. Vozyakova T.R., Steblovskaya O.E., Maksimova V.N. Metod uskorennoi diagnostiki tuberkuleza [A method of the accelerated tuberculosis diagnosis]. *Zdravookhranenie Chuvashii* [Health care of Chuvashia]. 2010. №2. pp.21-26. [in Russian]

10. Gaida A.I. *Neotlozhnye meropriyatiya po preduprezhdeniyu rasprostraneniya tuberkuleza legkikh s shirokoi lekarstvennoi ustoichivost'yu mikobakterii v Arkhangel'skoi oblasti* [Urgent actions for prevention of spread of tuberculosis of lungs with wide drug resistance of mycobacteria in the Arkhangel'sk region]. Dis. ... k-ta med.nauk [dissertation of candidate to medical sciences]. Arkhangel'sk, 2015. 25 p. [in Russian]

11. Gurevich G.L., Skryagina E.M., Zalutskaya O.M. Diagnostika i differentsial'naya diagnostika tuberkuleza legkikh na razlichnykh urovnyakh okazaniya meditsinskoi pomoshchi v Respublike Belarus' [Diagnostics and differential diagnosis of lung tuberculosis at various levels of health care in Republic of Belarus]. *Tuberkulez i bolezni legkikh* [Tuberculosis and pulmonary diseases]. 2014. №1. pp. 14-20. [in Russian]

12. Golyshevskaya V.I., Egorova O.V. *Lyuminescentnaya mikroskopiya* [Luminescent microscopy]. Moskva. Tver': Triada, 2008. 15 p. [in Russian]

13. Doklad o global'noi bor'be s tuberkulezom [Report on global fight against tuberculosis.

WHO. Geneva. 2016]. VOZ. Zheneva. 2016. [in Russian]

14. Eliseev P.I. Rol' molekulyarno-geneticheskikh metodov Genotype v povyshenii effektivnosti diagnostiki tuberkuleza s lekarstvennoi ustoichivost'yu mikobakterii i mikobakteriozov [A role of the molecular and genetic Genotype methods in increase in efficiency of diagnosis of tuberculosis with drug resistance of mycobacteria and mycobacteriosis]. Dis. ... k-ta med.nauk [dissertation of candidate to medical sciences]. Sankt-Peterburg, 2013. 19 p. [in Russian]

15. Erokhin V.V., Golyshevskaya V.I., Sevast'yanova E.V., Shul'gina M.V. *Mikrobiologicheskie metody diagnostiki tuberkuleza* [Microbiological methods of diagnosis of tuberculosis]. Moskva. Tver': Triada, 2008. 31 p. [in Russian]

16. Ignat'eva O.A. *Lekarstvennaya ustoichivost' shtammov Mycobacterium tuberculosis i optimizatsiya diagnosticheskikh algoritmov na primere Samarskoi oblasti* [Medical resistance of Mycobacterium tuberculosis strains and optimization of diagnostic algorithms on the example of the Samara region]. Dis. ... k-ta biol.nauk [dissertation of candidate to biological sciences]. Samara, 2015. 29 p. [in Russian]

17. Ismailov Sh.Sh., Nazirova N.I. *Rukovodstvo po kontrolyu nad tuberkulezom v Respublike Kazakhstan* [The guide to control over tuberculosis in the Republic of Kazakhstan]. Almaty, 2008. 33 p. [in Russian]

18. Kim T.M., Artykbaeva A.K., Ishenova G.I. Metody vyyavleniya mikobakterii tuberkuleza [Methods of identification of mycobacteria of tuberculosis]. *Nauka, novye tekhnologii i innovatsii* [Science, new technologies and innovations]. 2015. №3. pp.68-69. [in Russian]

19. Kotovich D.S. *Sovershenstvovanie diagnostiki tuberkuleznogo plevrita na osnove kompleksnogo obsledovaniya s primeneniem molekulyarno-geneticheskikh metodov* [Improvement of diagnosis of tubercular pleuritis on the basis of comprehensive examination with application of molecular and genetic methods]. Dis. ... k-ta med.nauk [dissertation of candidate to medical sciences]. Grodno, 2017. 16 p. [in Russian]

20. Markelov Yu.M., Aizikov D.L. *Klinicheskaya i ekonomicheskaya effektivnost'*

ispol'zovaniya MGIT-960 dlya opredeleniya spektra lekarstvennoi ustoichivosti mikobakterii tuberkuleza [Clinical and economic efficiency of use of MGIT-960 for definition of a range of drug resistance of mycobacteria]. *Tuberkulez i bolezni legkikh* [Tuberculosis and pulmonary diseases]. 2012. № 8. pp. 50-55. [in Russian]

21. Novyi otchet VOZ po tuberkulezu o global'noi ugroze ustoichivosti k lekarstvam [New report of WHO on tuberculosis about global threat of resistance to drugs. WHO. Geneva. 2016]. VOZ. Zheneva. 2016. [in Russian]

22. Perel'man M.I. Ftiziatriya. *Natsional'noe rukovodstvo* [Phthysiatry. National recommendation]. Moskva. GEOTAR-Media, 2017. 158 p. [in Russian]

23. Popov S.A., Sabgaida T.P. Osnovnye napravleniya razvitiya laboratornoi diagnostiki tuberkuleza [Main directions of development of laboratory diagnosis of tuberculosis]. *Tuberkulez i bolezni legkikh* [Tuberculosis and pulmonary diseases]. 2012. №6. pp. 3-13. [in Russian]

24. Prikaz MZSR RK №19 ot 22 avgusta 2014g. «Ob utverzhenii Instruktsii po organizatsii i osushchestvleniyu profilakticheskikh meropriyatii po tuberkulezu» [Order of MHS of the RK №19 from August 22, 2014. "About the approval of the Instruction on the organization and implementation of preventive actions for tuberculosis"]. [in Russian]

25. Sevast'yanova E.V. *Sovershenstvovanie mikrobiologicheskoi diagnostiki tuberkuleza v uchrezhdeniyakh protivotuberkuleznoi sluzhby i obshchei lechebnoi seti* [Improvement of microbiological diagnosis of tuberculosis in institutions of antituberculosis service and the general medical institutes]. Dis. ... d-ra biol. nauk [Dr. Of biological sciences dissertation]. Moskva, 2009. 17 p. [in Russian]

26. Sevast'yanova E.V., Puzanov V.A., Smirnova T.G., Larionova E.E., Chernousova L.N. Otsenka kompleksa mikrobiologicheskikh i molekulyarno-geneticheskikh metodov issledovaniya dlya diagnostiki tuberkuleza [Assessment of a complex of microbiological and molecular-genetic research methods for diagnosis of tuberculosis]. *Tuberkulez i bolezni legkikh* [Tuberculosis and pulmonary diseases]. 2015. №1. pp. 35-41. [in Russian]

27. Seregina V.A., Budritskii A.M. Sovremennye vozmozhnosti diagnostiki

tuberkuleza legkikh [Modern opportunities of diagnosis of lung tuberculosis]. *Vestnik VGMU* [VGMU Bulletin]. 2016. №4. pp. 7-17. [in Russian]

28. Skorniyakov S.N., Shul'gina M.V., Ariel' B.M., Balasanyants G.S. Klinicheskie rekomendatsii po etiologicheskoi diagnostike tuberkuleza [Clinical recommendations about etiologic diagnosis of tuberculosis]. *Meditinskii al'yans* [Medical alliance]. 2014. №3. pp. 39-58. [in Russian]

29. Arias F., Scappaticcio A., Herrera T. Primary resistance to antituberculosis drugs in Chile 2011-2012. *Revista Chilena Infectologia*. 2015. №4. pp. 382-386.

30. Avalos E., Catanzaro D., Catanzaro A., Ganiats T., Brodine S., Alcaraz J., Rodwell T. Frequency and geographic distribution of gyrA and gyrB mutations associated with fluoroquinolone resistance in clinical Mycobacterium tuberculosis isolates: a Systematic Review. *PLoS One*. 2015. 10(3): e0120470.

31. Boritsch E.C., Brosch R. Evolution of Mycobacterium tuberculosis: New Insights into Pathogenicity and Drug Resistance. *Microbiology Spectrum*. 2016. №4. pp. 1-2.

32. Bwanga F., Hoffner S., Haile M., Joloba M.L. Direct susceptibility testing for multi drug resistant tuberculosis: a meta-analysis. *BMC Infectious Diseases*. 2009. №9. 67 p.

33. Davis J.L., Cattamanchi A., Cuevas L.E., Hopewell P.C., Steingart K.R. Diagnostic accuracy of same-day microscopy versus standard microscopy for pulmonary tuberculosis: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Infectious Diseases*. 2013. №2. pp. 147-154.

34. Demers A.M., Venter A., Friedrich S.O., Rojas-Ponce G., Mapamba D. Direct Susceptibility Testing of Mycobacterium tuberculosis for Pyrazinamide by Use of the Bactec MGIT 960 System. *Clinical Microbiology*. 2016. №5. 81 p.

35. Drobniowski F., Cooke M., Jordan J., Casali N., Mugwagwa T. Systematic review, meta-analysis and economic modelling of molecular diagnostic tests for antibiotic resistance in tuberculosis. *Health Technology Assessment*. 2015. №19. pp.181-188.

36. Feng Y., Liu S., Wang Q., Wang L., Tang S., Wang J., Lu W. Rapid diagnosis of drug resistance to fluoroquinolones, amikacin, capreomycin, kanamycin and ethambutol using

genotype MTBDRsl assay: a meta-analysis. *PLoS One*. 2013. 8(2): e55292.

37. Gilpin C., Korobitsyn A. The Use of Loop-Mediated Isothermal Amplification (TB-LAMP) for the Diagnosis of Pulmonary Tuberculosis: Policy Guidance. WHO. Geneva. 2016.

38. Global tuberculosis report 2013. World Health Organization. Geneva. <http://apps.who.int/iris/handle/10665/91355>.

39. Global tuberculosis report 2015. World Health Organization. Geneva. [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/191102/1/9789241565059\\_eng.pdf](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/191102/1/9789241565059_eng.pdf).

40. Global tuberculosis report 2017. World Health Organization. Geneva. [http://www.who.int/tb/publications/global\\_report/en/](http://www.who.int/tb/publications/global_report/en/).

41. Implementing TB diagnostics. World Health Organization. Geneva: WHO policy framework. 2015.

42. Lawn S., Mwaba P., Bates M., Piatek A., Alexander H., Marais B., Cuevas L. Advances in tuberculosis diagnostics: The Xpert MTB/RIF assay and future prospects for a point-of-care test. *Lancet Infectious Diseases*. 2013. №4. pp. 349-361.

43. Li S., Liu B., Peng M., Chen M., Yin W., Tang H., Luo Y., Hu P., Ren H. Diagnostic accuracy of Xpert MTB/RIF for tuberculosis detection in different regions with different endemic burden: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One*. 2017. 12(7): e0180725.

44. Leimane V. Treatment and management of MDR-TB in Latvia. *Bulletin of the World Health Organization*. 2013. Vol. 85, №5. pp. 325-420.

45. Musteikienė G., Miliauskas S., Sakalauskas R., Vitkauskienė A., Žemaitis M. Multidrug-resistant tuberculosis in Lithuania - Still a long way ahead. *Medicina (Kaunas)*. 2016. №2. pp. 69-78.

46. Nliwasa M., MacPherson P., Chisala P., McEwen Khundi M. The Sensitivity and Specificity of Loop-Mediated Isothermal Amplification (LAMP) Assay for Tuberculosis Diagnosis in Adults with Chronic Cough in Malawi. *PLoS One*. 2016. 11(5): e0155101.

47. Ogwang S., Mubiri P., Bark C.M., Joloba M.L., Boom W.H., Johnson J.L. Incubation time of Mycobacterium tuberculosis complex sputum cultures in BACTEC MGIT 960: 4 weeks of negative culture is enough for physicians to consider alternative diagnoses. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. 2015. №2. pp. 162-164.

48. Pai M., Nicol M.P., Boehme C.C. Tuberculosis Diagnostics: State of the Art and Future Directions. *Microbiology Spectrum*. 2016. №4. pp. 17-19.

49. Prasad R., Gupta N., Singh M. Multidrug resistant tuberculosis: trends and control. *Indian Journal of Chest Distases and Allied Sciences*. 2014. №4. pp. 237-246.

50. Theron G., Peter J., Richardson M., Barnard M., Donegan S., Warren R. The diagnostic accuracy of the GenoType® MTBDRsl assay for the detection of resistance to second-line anti-tuberculosis drugs. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. 2014. (10):CD010705.

51. Tritar F., Daghfous H., Ben Saad S., Slim-Saidi L. Management of multidrug-resistant tuberculosis. *Revue de Pneumologie Clinique*. 2015. №2. pp. 130-139.

52. Tuberculosis: Diagnostics Technology and Market Landscape. Geneva, UNITAID/World Health Organization, 2013.

53. Van Deun A., Martin A., Palomino J.C. Diagnostika lekarstvenno-ustoichivogo tuberkuleza: dostovernost' i skorost' vyyavleniya. *Tuberkulez i legochnye zabolevaniya*. 2011. №1. pp. 20-44.

54. Weyer K., Mirzayev F., Migliori G.B., Gemert W.V. Rapid molecular TB diagnosis: evidence, policy-making and global implementation of Xpert® TB/RIF. *European Respiratory Journal*. 2013. №42. pp. 252-271.

55. Zignol M., Dara M., Dean AS., Falzon D., Dadu A., Kremer K., Hoffmann H., Hoffner S., Floyd K. Drug-resistant tuberculosis in the WHO European Region: an analysis of surveillance data. *Drug Resist Updat*. 2013. №6. pp. 108-115.

#### Контактная информация:

**Чункаева Дина Дюсенбековна** - магистрант 2-го года обучения по специальности «Медицина» Государственного медицинского университета города Семей.

**Почтовый адрес:** Республика Казахстан, 071400 г. Семей, ул. Шакарима 38-44.

**E-mail:** dchunkayeva@mail.ru

**Телефон:** +77054440240