

Научные обзоры

е ОГАРКОВ О.Б., МЕДВЕДЕВА Т.В. -

ДИАГНОСТИКА ТУБЕРКУЛЕЗА: КЛИНИЧЕСКОЕ И ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ СОВРЕМЕННЫХ ЛАБОРАТОРНЫХ МЕТОДОВ

О.Б. Огарков, Т.В. Медведева.

(ГУЗ Иркутский областной диагностический центр, гл. врач - к.м.н. И.В. Ушаков)

Резюме. В обзоре рассматриваются современные лабораторные методы диагностики туберкулеза. Дана сравнительная характеристика бактериоскопического, бактериологического, биологического и молекулярных методов выявления *M. tuberculosis* (МБТ).

Ключевые слова: туберкулез, лабораторные методы диагностики, научный обзор.

Начиная с 1991 года, в России отмечается резкий рост заболеваемости туберкулезом. Уровень заболеваемости достиг 87 случаев на 100 тысяч населения, что является самым высоким показателем для стран Европы. По информации Министерства здравоохранения РФ, в стране более 2,5 млн. человек больны туберкулезом, а смертность от него достигла самого высокого уровня (50% всех летальных исходов, вызываемых инфекционными болезнями). Основными источниками распространения туберкулеза являются учреждения российской пенитенциарной системы. В местах лишения свободы заболеваемость туберкулезом значительно выше, чем среди остального населения (по информации из различных источников - от 60 до 80 раз) [39]. Все это требует комплексного решения проблемы, одной из частей, решения которой является эффективная лабораторная диагностика туберкулеза.

Бактериоскопия. При бактериоскопии мазка, окрашенного по Цилю-Нильсену, МБТ могут быть обнаружены при наличии не менее 100.000-1.000.000 микобактерий туберкулеза в 1 мл патологического материала. Методы накопления (флотация) повышают выявляемость МБТ по сравнению с обычной микроскопией на 10%.

Люминесцентная микроскопия при туберкулезе в настоящее время является эффективным бактериоскопическим методом лабораторной диагностики, чувствительность метода люминесцентной микроскопии 10.000-100.000 МБТ в 1 мл материала [7]. Современные методы обогащения клинических образцов с помощью иммуно-магнитных сорбентов различной аффинности предполагают специфическую сорбцию микобактерий посредством антител [2,3,21] или слабоочищенной ДНК с помощью специального зонда [20]. В первом случае мишенью служат живые микобактерии, которые после обогащения засеваются в культуральную среду или проводят их индикацию другим способом, во втором случае собранная ДНК используется для определения возбудителя туберкулеза молекулярными методами.

Культуральный метод выявления МБТ дает положительные результаты при наличии в исследуемом

материале от 20 до 100 жизнеспособных микробных клеток в 1 мл. Однако он трудоемок и длителен в связи с тем, что МБТ являются медленно растущими микроорганизмами, и рост их колоний нужно отслеживать в течение 2-3 месяцев. Для увеличения результативности культурального метода рекомендуется применять посев материала одновременно на несколько (две-три) различных питательных среды. В настоящее время доказано преимущество одновременного посева клинического материала на три питательные среды: основная - Левенштейна-Йенсена, дополнительные - среды Фин-И и среда В.А. Аникина [1,6]. Продолжительность роста МБТ ограничивает диагностические возможности клиницистов. МБТ выявляются лишь в 52-65% случаев активного туберкулеза легких, а в клинике внелегочного туберкулеза удельный вес их выявления еще ниже. При туберкулезных менингитах лишь в 3% случаев обнаруживается рост микобактерий на питательных средах. Незначительным является удельный вес высеваемости у больных туберкулезом мочеполовой системы. Частота высеивания микобактерий туберкулеза при нефротуберкулезе варьирует от 26,7% до 73% случаев [1]. Значительные трудности представляет обнаружение микобактерий у лиц со скудным их выделением. Среди впервые выявленных больных у одной трети бактериовыделение является однократным. Комплексная методика исследования мочи на МБТ: предполагает одновременное выполнение люминесцентной микроскопии осадка, окрашенного аурамино и посева материала не менее чем на две питательные среды. Микобактерии, потерявшие кислотоустойчивость, но сохранившие жизнеспособность, лучше выявляются посевом, а потерявшие жизнеспособность, но сохранившие кислотоустойчивость - бактериоскопией [1]. Все более широкое распространение получают системы автоматических микробиологических анализаторов типа ВАСТЕС. производства фирмы Vестон Dickinson, для быстрого обнаружения живых МБТ в жидкой питательной среде. При культивировании в жидкой ВАСТЕС среде, в качестве источника углерода используется радиоактивно меченая

14С пальмитиновая кислота. При положительных данных бактериоскопического исследования рост МБТ обнаруживают радиометрически на 7-10-й день и на 14-21-й дни при отрицательных данных [1]. К недостаткам этого метода, ограничивающим возможность его широкого применения, относятся: высокая себестоимость исследования; необходимость применения радиоактивных изотопов и специального радиометрического оборудования, сложность работы с изотопной технологией; необходимость дополнительного посева на плотную питательную среду при возникновении проблем с идентификацией или интерпретацией результатов. Появившиеся в последнее время версии ВАСТЕС основаны на флуоресцентной детекции роста микроорганизмов, лишены недостатков связанных с использованием радиоактивной метки [18,30]. Для идентификации микобактерий используется среда Миддлбрук с напыленным на стенку пробирки флуоресцентным индикатором. Более того, она позволяет в течение 10-25 дней определить наличие устойчивости к основным антитуберкулезным препаратам [30]. Основным недостатком продолжает оставаться высокая себестоимость анализов.

Биологический метод применяется для выявления не только типичных, но и разнообразных, биологически измененных, форм возбудителя, в частности L-трансформированных и фильтрующихся форм. Самым восприимчивым к МБТ лабораторным животным является морская свинка. Считается, что ее заражение позволяет диагностировать туберкулез при наличии в материале, использованном для заражения. 1-5 микробных клеток. Серьезными недостатками биологического метода являются его высокая стоимость, необходимость специальных условий, длительность проведения анализа и зависимость результатов от чувствительности МБТ к противотуберкулезным препаратам. Под их влиянием многие штаммы снижают или теряют свою вирулентность [1].

Иммуноферментный анализ (ИФА) получил широкое распространение в диагностике различных инфекционных заболеваний в связи с высокой чувствительностью и специфичностью метода, производительностью, простотой проведения анализа и регистрации результатов, возможностью использования микроколичества диагностического материала и автоматизации процесса. ИФА используют для определения, как антител, так и антигенов в биологических жидкостях. Впервые для диагностики МБТ ИФА применен в 1976 г [27]. При использовании ИФА специфические антитела выявляются у 80% больных активным туберкулезом, в том числе и костно-суставным. Однако образование антител меняется в зависимости от активности туберкулезного процесса, распространенности и давности заболевания. Число ложноположительных реакций среди здоровых или лиц с нетуберкулезными заболеваниями колеблется от 3 до 14%. Недостаточная специфичность анализа связана с наличием общих

антигенов между МБТ и другими непатогенными микобактериями. Другими словами, соотношение относительно высокой стоимости и недостаточной специфичности для *M. tuberculosis*, как результат массовой вакцинации БЦЖ привело к ограниченному использованию ИФА при лабораторной диагностике туберкулеза.

Полимеразная цепная реакция (ПЦР), как метод при диагностике туберкулеза основана на ферментативной амплификации выбранных специфических участков генома МБТ их дальнейшей детекции и идентификации. Впервые для индикации МБТ она была применена в 1989 году [13] и, с тех пор, получила широкое применение в клинических лабораториях мира. На эффективность ПЦР-анализа существенным образом влияет метод обработки клинического материала и присутствие в выделенной ДНК ингибиторов [8,9,25,41]. В ПЦР-диагностике туберкулеза для исследований обычно используют мокроту, промывные воды бронхов и желудочное содержимое, бронхиальные аспираты, плевральную жидкость, мочу, спинномозговую жидкость, кровь, биоптаты лимфоузлов и других тканей [24]. Особенно ярко преимущества ПЦР проявляются при внелегочных формах инфекции. когда туберкулезную этиологию заболевания удавалось установить в 26,5% при помощи ПЦР и в 14,5% - при культивировании [1].

Успешное лечение больных туберкулезом невозможно без контроля за эффективностью химиотерапии [6]. Заболевания, вызванные нетуберкулезными микобактериями (микобактериозы) часто имеют сходную с туберкулезом клинико-рентгенологическую картину. Вследствие этого больные микобактериозами получают не показанные им химиопрепараты, к которым потенциально патогенные микобактерии имеют резистентность. Ранняя же диагностика микобактериозов и этиотропное лечение, как правило, обуславливают благоприятный исход. Метод ПЦР позволяет дифференцировать виды микобактерий [32]. При сравнении чувствительности ПЦР с культуральным исследованием она в различных исследованиях варьирует от 70 до 95% [1]. Чувствительность ПЦР может быть повышена использованием "гнездового ПЦР", исследованием на несколько генов и других известных подходов [11,19,28,29]. Комбинированное применение молекулярно-биологических и культуральных методов значительно повышает эффективность выявления МБТ по сравнению с изолированным применением бактериоскопии и посева на плотные питательные среды. Выявление методом ПЦР МБТ в моче при туберкулезе легких, внутригрудных лимфоузлов, туберкулезном увеите и тубинфицированности детей объясняется гематогенным заносом возбудителя из других, пораженных активным процессом органов. Наличие микобактерий в моче на фоне неспецифических воспалительных заболеваний мочеполовой системы свидетельствует о невыявленном инфицировании или неактивном туберкулезном процессе [1]. Считается экономиче-

ски целесообразным проведение ПЦР в диагностических целях при расхождении результатов микроскопии и ПЦР исследования более чем в 5% случаев [6]. При положительном ПЦР-анализе и отрицательном - микроскопическом рекомендуют начинать противотуберкулезную химиотерапию, не проводя культурального посева [1,6]. Однако следует иметь в виду, что ДНК микобактерий могут сохраняться в организме клинически излеченного или инфицированного туберкулезом в течение длительного периода времени. Их выявление не может являться единственным подтверждением активности туберкулеза и служит лишь основанием для проведения общепринятых дифференциально-диагностических исследований и дальнейшего наблюдения за больным. Использование ПЦР в диагностике туберкулеза рекомендовано Минздравом РФ (приказ от 21.02.2000 №64 "Об утверждении номенклатуры клинических лабораторных исследований", п.п. 9.1.5, 9.2.4 приложения).

Возрастающее число мультирезистентных штаммов *Mycobacterium tuberculosis* представляет собой серьезную проблему для современного здравоохранения. Лечение больных, инфицированных мультирезистентными штаммами, требует применения более токсичных и дорогостоящих химиопрепаратов, длительной госпитализации и, тем не менее, часто остается неэффективным, обуславливая высокий удельный вес инвалидизации и смертности [39]. Основным в решении этой проблемы является своевременная детекция мультирезистентных штаммов на ранних стадиях заболевания, которая позволит контролировать дальнейшее распространение конкретного выявленного штамма и подобрать оптимальную схему химиотерапии. Тем не менее, определение спектра лекарственной резистентности классическими методами на селекционных средах занимает от 3-х недель до 3-х месяцев, что делает полученный результат ретроспективным [1.7].

Альтернативным и более перспективным вариантом решения этой проблемы является использование генотипических методов анализа, основанных на выявлении точечных мутаций или других генетических детерминант, обеспечивающих резистентность к антибиотикам. Этот подход стал возможным благодаря успехам в исследовании молекулярных основ резистентности *Mycobacterium tuberculosis* к таким противотуберкулезным препаратам, как рифампицин [36,37], изониазид [10,31,42], фторхинолоны [35], стрептомицин [17] и канамицин [34]. Отличительной чертой является небольшой срок выполнения таких анализов, составляющий 2-3 дня. Рифампицин является одним из основных туберкулостатиков, что обуславливает высокий удельный вес резистентных к нему штаммов. Актуальность выявления резистентности к рифампицину обусловлена тем, что до 80-90% рифампицин-резистентных клинических штаммов *Mycobacterium tuberculosis* устойчивы и к изониазиду, что позволяет считать рифампицин-резистентные штаммы своеобразным

косвенным "маркером" мультирезистентности [15, 3Д]. Современные методы генодиагностики резистентности к рифампицину основаны на детекции мутаций, большая часть которых компактно локализована в высоко консервативной области *groV* гена [37]. Кроме секвенирования, для детекции мутаций в *groV* гене наиболее часто применяют методы конформационного полиморфизма одноцепочечных фрагментов ДНК (SSCP) [37], гибридизации с линейными зондами (LiPA) [15,16] и РНК/РНК гетеродуплексного анализа (RNA/RNA mismatch assay) [26]. Два последних в настоящее время коммерчески реализованы в виде наборов INNO-LiPA Rif.TB ("Innogenetics") и MisMatch Detect II ("Ambion"), успешно применяющихся для детекции стандартных мутаций как при работе с микобактериальной культурой, так и непосредственно с клиническими образцами [40]. Тем не менее, за исключением четырех основных мутаций, точно идентифицируемых набором LiPA Rif.TB, положение и тип остальных замен при помощи перечисленных методов можно определить достаточно условно. В этом отношении прямое секвенирование *groV* гена выглядит наиболее информативным методом. Российскими авторами [2, 3,4] успешно апробированы системы выделения микобактерий, основанных на принципе иммуно-сепарации. Специфичность амплификации *groV* гена была подтверждена в ходе прямого секвенирования соответствующих ПЦР-фрагментов. В шести из 12-ти образцов были выявлены специфические мутации в *groV* гене, ассоциированные с резистентностью к рифампицину. В целом, с учетом изложенного, прямое секвенирование ПЦР фрагментов *groV* гена выглядит наиболее универсальным генотипическим методом детекции резистентности к рифампицину. Наибольшая информативность такого подхода позволяет максимально полно охарактеризовать весь спектр возможных мутаций и правильно оценить резистентность исследуемых штаммов, а в ряде случаев и их эпидемиологические особенности. Немаловажно, что при большей информативности по сравнению с другими методами себестоимость одного анализа путем прямого секвенирования, сравнима со стоимостью набора INNO-LiPA Rif.TB. С технической точки зрения, анализы такого типа можно проводить в специально оборудованных лабораториях республиканского, краевого и областного подчинения.

Большое будущее ожидает метод микрочипов, разрабатываемый в США и в России (в Институте молекулярной биологии). Метод позволяет определять лекарственную резистентность микобактерии туберкулеза к рифампицину, обнаружить 30 мутантных вариантов ДНК микобактерии туберкулеза [22,23,33,38].

Для эпидемиологического мониторинга широко применяются методы молекулярного типирования штаммов туберкулеза, в настоящее время показано глобальное доминирование Beijing - типа туберкулезных штаммов [12], распространенного, в том числе и в Сибири.

DIAGNOSIS OF TUBERCULOSIS: CLINICAL AND EPIDEMIOLOGICAL SIGNIFICANCE
OF THE MODERN LABORATORY METHODS

O.B. Ogarkov, T.V. Medvedeva
(Irkutsk Regional Diagnostic Center)

The review considers modern laboratory methods of the diagnosis of tuberculosis. Bacterioscopy, bacteriological and animal models and molecular methods of laboratory indication of *M. tuberculosis* have been described.

Литература

1. Бочкарев Е.Г., Денисова Т.С., Генерозов Э.В. и др. Методические рекомендации "Генодиагностика во фтизиатрии". - Москва, 2000. ([http://www.lytech.ru/Basic/publish, htm](http://www.lytech.ru/Basic/publish.htm)).
2. Владимирский М.А., Шипина Л.К., Филиппов В.И. и др. Эффективность системы пробоподготовки мокроты на основе иммуномагнитной сепарации для выявления микобактерий туберкулеза методом ПЦР // В сб.: Генодиагностика в современной медицине. Материалы 3-ей Всероссийской конференции. - М., 2000. - С.283-284.
3. Генерозов Э.В., Акопиан Т.А., Говорун В.М. и др. Молекулярная характеристика полирезистентных клинических штаммов *M. tuberculosis* из России // В сб.: Генодиагностика в современной медицине. Материалы 3-ей Всероссийской конференции. - М., 2000. - С.273-274.
4. Генерозов Э.В., Акопиан Т.А., Владимирский М.А. и др. Прямой генетический анализ резистентности к рифампицину изолятов *M. tuberculosis* в образцах мокроты // В сб.: Генодиагностика в современной медицине. Материалы 3-ей Всероссийской конференции. - М., 2000. - С.274-276.
5. Дзадзиева М.Ф., Жербутович Н.В. Диагностическая ценность ПЦР при туберкулезе // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. - 1997. - №5. - С.10-13.
6. Калюк А.Н. Комплексные бактериологические исследования в диагностике туберкулеза // Туберкулез и экология. - 1995. - №3. - С.28-31.
7. Козулицына Т.И. Микробиологические исследования. / В руководстве для врачей: Туберкулез органов дыхания. - М., 1981. - С.136-149.
8. Al-Soud W.A., Jonsson L.J., Radstrom P. Capacity of nine thermostable DNA polymerase to mediate DNA amplification in the presence of PCR-inhibiting samples // Appl. Environ. Microbiol. - 1998. - Vol.64. - P.3748-3753.
9. Al-Soud W.A., Jonsson L.J., Radstrom P. Identification and characterization of immunoglobulin G in blood as major inhibitor of diagnostic PCR // J. Clin. Microbiol. - 2000. - Vol.38. - P.345-350.
10. Banerjee A., Dubnau E., Quemard A. et al. InhA, a gene encoding a target for isoniazid and ethionamide in *Mycobacterium tuberculosis* // Science. - 1994. - Vol.263. - P.227-230.
11. Beige J., Lokies J., Schaberg T. Et al. Clinical evaluation of *Mycobacterium tuberculosis* PCR assay. // J. Clin. Microbiol. - 1995. - Vol.33. - P.90-95.
12. Bifani P., Mathema B., Kurepina N.E., Kreiswirth B.N. Global dissemination of the *Mycobacterium tuberculosis* W-Beijing family strains // Trends in Microbiol. - 2002. - Vol.10. - P.45-52.
13. Brisson-Noel A., Gicquel B., Lecossier D. et al. Rapid diagnosis of tuberculosis by amplification of mycobacterial DNA in clinical samples // Lancet. - 1989. - Vol.4. - P.1069-1071.
14. Cole S.T., Telenti A. Drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis* // Eur. Respir. J. Suppl. - 1995. - Vol.20. - P.701-713.
15. Cooksey R.C., Morlock G.P., Glickman S., Crawford J.T. Evaluation of a line probe assay kit for characterization of *rpoB* mutations in rifampin-resistant *Mycobacterium tuberculosis* isolates from New York City // J. Clin. Microbiol. - 1997. - Vol.35. - P. 1281-1283.
16. De Beenhouwer H., Lhiang Z., Jannes G. Rapid detection of rifampicin resistance in sputum and biopsy specimens from tuberculosis patients by PCR and line probe assay // Tuberc. Lung. Dis. - 1995. - Vol.76 - P.425-430.
17. Heym B., Honore H., Truffot-Pemot C. Implications of multidrug resistance for the future of short-course chemotherapy of tuberculosis: a molecular study // Lancet. - 1994. - Vol.344. - P.293-298.
18. Jordan A., Durso M.B. Comparison of 16S rRNA gene PCR and BACTEC 9240 for detection of neonatal bacteremia // J. Clin. Microbiol. - 2000. - Vol.38. - P.2574-2578.
19. Klemen H., Bogiatzis A., Ghalibafin M. et al. Multiplex polymerase chain reaction for rapid detection of atypical *Mycobacteria* and *Mycobacterium tuberculosis* complex // Diagn. Mol. Pathol. - 1998. - Vol.7. - P.310-316.
20. Mangiapan G., Vokurka M., Schouls L., et al. Sequence capture-PCR improves detection of *Mycobacterial* DNA in clinical specimens // J. Clin. Microbiol. - 1996. - Vol.34. - P.1209-1215.
21. Mazurek G.D., Reddy V., Murphy D., Ansary T. Detection of *Mycobacterium tuberculosis* in cerebrospinal fluid following immunomagnetic enrichment // J. Clin. Microbiol. - 1996. - Vol.34. - P.450-453.
22. Mikhailovich V., Lapa S., Gryadunov D. et al. Identification of rifampin-resistant *Mycobacterium tuberculosis* strains by hybridization, PCR, and ligase detection reaction on oligonucleotide microchips // J. Clin. Microbiol. - 2001. - Vol.39. - P.2531-2540.
23. Mikhailovich V.M., Lapa S.A., Gryadunov D.A. Detection of rifampicin-resistant *Mycobacterium tuberculosis* strains by hybridization and polymerase chain reaction on a specialized TB-microchip // Bull. Exp. Biol. Med. - 2001. - Vol.131 - P.94-98.
24. Mitarai S., Oishi K., Fukasawa M. Et al. Clinical evaluation of polymerase chain reaction DNA amplification method for the diagnosis of pulmonary tuberculosis in patients with negative acid-fast bacilli smear. Tohoku. J. Exp. Med. - 1995. - Vol.177. - P. 13-23.
25. Monterio L., Bonnemaision D., Vekris A. Et al. Complex polysaccharides as PCR inhibitors in feces: *Helicobacter pylori* model. // Al-Soud W.A., Jonsson L.J., Radstrom P. Identification and characterization of immunoglobulin G in blood as major inhibitor of diagnostic PCR // J. Clin. Microbiol. - 1997. - Vol.35. - P.995-998.

26. Nash K.A., Gaytan A., Inderlied C.B. Detection of rifampin resistance in *Mycobacterium tuberculosis* by use of a rapid, simple, and specific RNA/RNA mismatch assay // *J. Infect. Dis.* - 1997. - Vol.176. - P.533-536.
27. Nassau E., Parsons E.R., Johnson G.D. The detection of antibodies to *Mycobacterium tuberculosis* by microplate enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) // *Tubercle.* - 1976. - Vol.57. - P.67-70.
28. Portitulo P., Thomas M.C., Martinez E. Multiprimer et al. PCR system for differential identification of *Mycobacteria* in clinical samples // *J. Clin. Microbiol.* - 1996. - Vol.34. - P.324-328.
29. Ringuet H., Akoua-Koffi C., Honore S. et al. Hsp65 sequencing for identification of rapidly grow mycobacteria // *J. Clin. Microbiol.* - 1999. - Vol.37. - P.852-857.
30. Scarparo C., Piccoli P., Rigon A., et al. Evaluation of the BACTEC MGIT 960 in comparison with BACTEC 460 TB for detection and recovery of mycobacteria from clinical specimens // *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* - 2002. - Vol.44-P.157-161.
31. Sherman D.R., Mdluli K., Hickey M.J. Compensatory *ahpC* gene expression in isoniazid-resistant *Mycobacterium tuberculosis* // *Science.* - 1996. - Vol.272. - P.1641-1643.
32. Smole S.C., McAleese F., Ngampasutadol J. et al. Clinical and epidemiological correlates of genotypes within the *Mycobacterium avium* complex defined by restriction and sequence analysis of *hsp65* // *J. Clin. Microbiol.* - 2002. - Vol.40. - P.3374-3380.
33. Strizhkov B.N., Drobyshev A.L., Mikhailovich V.M., Mirzabekov A.D. PCR amplification on a microarray of gel-immobilized oligonucleotides: detection of bacterial toxin- and drug-resistant genes and their mutations // *Biotechniques.* - 2000. - Vol.29 - P.844-852.
34. Suzuki Y., Katsukawa C., Tamaru A. Detection of kanamycin-resistant *Mycobacterium tuberculosis* by identifying mutations in the 16S rRNA gene // *Clin. Microbiol.* - 1998. - Vol.36. - P.1220-1225.
35. Takiff H. E, Salazar L, Guerrero C, et al. Cloning and nucleotide sequence of *Mycobacterium tuberculosis gyrA* and *gyrB* genes and detection of quinolone resistance mutations // *Antimicrob. Agents. Chemother.* - 1994. - Vol.38. - P.773-780.
36. Telenti A., Imboden P., Marchesi F. et al. Direct, automated detection of rifampin-resistant *Mycobacterium tuberculosis* by polymerase chain reaction and single-strand conformation polymorphism analysis // *Antimicrob. Agents Chemother.* - 1993. - Vol.37. - P.2054-2058.
37. Telenti A., Imboden P., Marchesi F. et al. Detection of rifampicin-resistance mutations in *Mycobacterium tuberculosis* // *Lancet.* - 1993. - Vol.341. - P.647-650.
38. Tillib S.V., Strizhkov B.N., Mirzabekov A.D. Integration of multiple PCR amplifications and DNA mutation analyses by using oligonucleotide microchip // *Anal Biochem.* - 2001. - Vol.292. - P. 155-60.
39. Vachon M. Harvard Med. School Report Warns of World Health Threat. - NY., 2000. (<http://www.soros.org/tb/>).
40. Watterson S.A., Wilson S.M., Yates M.D., Drobniowski F.A. Comparison of three molecular assays for rapid detection of rifampin resistance in *Mycobacterium tuberculosis* // *J. Clin. Microbiol.* - 1998. - Vol.36. - P.1969-1973.
41. Wiedbrauk D.L., Werner J.C., Drevon A.M. Inhibition of PCR by aqueous and vitreous fluids // *J. Clin. Microbiol.* - 1995. - Vol.33. - P.2643-2646.
42. Zhang Y., Heym B., Allen B. The catalase-peroxidase gene and isoniazid resistance of *Mycobacterium tuberculosis* // *Nature.* - 1992. - Vol.358. - P.591-593.

© КОВАЛЕВА Л.П., СИЗЫХ Т.П. -

ЦЕЛЕБНЫЕ ПРИРОДНЫЕ ФАКТОРЫ В ЛЕЧЕНИИ ХРОНИЧЕСКОГО ХОЛЕЦИСТИТА

Л.П. Ковалева, Т.П. Сизых.

(Иркутский государственный медицинский университет, ректор - акад. МТА и АН ВШ д.м.н.. проф. А.А. Майборода. кафедра факультетской терапии, зав. - д.м.н. Ф.И. Белялов)

Резюме. В обзоре литературы рассматриваются современные данные о применении целебных природных факторов при лечении хронического холецистита и особенностей их механизмов действия.

Ключевые слова: хронический холецистит, санаторно-курортное лечение, механизм действия природных факторов, научный обзор.

Несмотря на долгую историю изучения холецистита, на сегодняшний день актуальной задачей остается поиск новых эффективных средств лечения. В связи с чем, значительно возрастает роль бальнеологического санаторно-курортного лечения, которое, по мнению ряда авторов, является более эффективным, чем при других заболеваниях [11,20,25,36,39,51]. Основным фактором на бальнеологическом курорте является минеральная вода (МВ), которая повышает резистентность организма к повреждающим факторам различного характера [54]. Это действие, прежде всего, связано с повышением активности гастроэнтеропанкреа-

тической системы, координирующей все виды деятельности и трофику органов пищеварения, т.к. выявлена прямая связь между степенью и скоростью заживления язв и уровнем в крови гастрина, глюкагона, инсулина, обеспечивающих питание и резистентность гастродуоденальной слизистой. Эффект МВ связан и с формированием адаптационных реакций в гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системе и системе эндогенных опиатов [32,34,50,56].

При лечении МВ значительно увеличивается бактерицидная активность сыворотки крови в 1,6 раза, возрастает титр комплимента - в 1,4, лизо-