

мей. Действует программа материальной помощи для повышения мотивации больных ТБ к лечению. Кроме того, План действий предусматривает укрепление связей между гражданскими и пенитенциарными учреждениями и «равноправный доступ к качественному лечению и континууму медицинской помощи для всех больных туберкулезом после освобождения из исправительных учреждений и перехода в гражданский сектор».

О роли и высокой политической приверженности государства делу борьбы с ТБ свидетельствует объем финансирования противотуберкулезных мероприятий и лекарственного обеспечения, а также принятые в последнее время документы. Это Национальная программа по контролю ТБ на 2016-2020 гг., утвержденная Постановлением Правительства Республики Молдова № 1160 от 20 октября 2016 г.,

Стратегия адвокации, коммуникации и социальной мобилизации в области контроля туберкулеза (2018-2020 гг.), «дорожная карта» по модернизации фтизиопульмонологической службы, утвержденная приказом Министерства здравоохранения № 305 от 14 апреля 2017 г., и др. Использование телемедицины и цифровых технологий в медицине (“Digital Health”) для ускорения ликвидации ТБ привело к повышению возможностей диагностики и доступности высококвалифицированной медицинской помощи для всех жителей страны, внесло коррективы в научные исследования и подготовку кадров для фтизиопульмонологии.

*Яворский Константин Михайлович  
(Konstantin M. Yavorskiy)  
E-mail: ciavorschi@gmail.com*



DOI 10.21292/2075-1230-2019-97-11-65-66

## СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ РЕЗУЛЬТАТОВ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ И КУЛЬТУРАЛЬНЫХ МЕТОДОВ В ОПРЕДЕЛЕНИИ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ МИКОБАКТЕРИЙ ТУБЕРКУЛЕЗА

Кушнир Н. П., Ложкин В. С., Ковалевич Н. Л., Коломеец А. Н.

БУЗОО «Клинический противотуберкулезный диспансер», г. Омск, РФ

## COMPARATIVE ANALYSIS OF THE RESULTS OF MOLECULAR GENETIC TESTS AND CULTURE FOR DRUG SUSCEPTIBILITY TESTING OF MYCOBACTERIA TUBERCULOSIS

Kushnir N. P., Lozhkin V. S., Kovalevich N. L., Kolomeets A. N.

Clinical TB Dispensary, Omsk, Russia

**Цель исследования:** выявить расхождения между результатами молекулярно-генетических и культуральных методов исследования в определении чувствительности микобактерии туберкулеза (МБТ) к рифампицину и изониазиду и определить частоту встречаемости мутаций, ассоциированных с развитием устойчивости к рифампицину и изониазиду на территории Омской области.

**Материалы и методы.** Для анализа отобраны данные 398 пациентов (впервые выявленные случаи и рецидивы), для которых в 2018 г. был получен успешный результат при исследовании лекарственной устойчивости фенотипическим методом (метод абсолютных концентраций на плотной питательной среде Левенштейна – Йенсена или метод пропорций в жидкой питательной среде с использованием Bactec MGIT 960), а также с использованием полимеразной цепной реакции (ПЦР). Для одной

части пациентов (245 человек) ПЦР проводилась с использованием набора «Амплитуб-РВ» (производство «Синтол», Россия) и амплификатора “CFX96”; для другой (153 человека) – с применением одноразовых тест-систем типа картриджей “Xpert® MTB/RIF” (производство Cepheid, США) и системы “GeneXpert® IV”. В первом случае лекарственная устойчивость в ПЦР определена к рифампицину и изониазиду (с детекцией конкретных мутаций, ассоциированных с развитием устойчивости к данным препаратам), для пациентов второй – к рифампицину. Превалирующим материалом являлась мокрота (93,4 и 83,2% проб соответственно).

**Результаты.** Множественная лекарственная устойчивость фенотипическими методами выявлена в 166 (41,7%) случаях из 398, в ПЦР («Амплитуб-РВ») – в 103 (42,0%) случаях из 245. Из 398 случаев устойчивость к рифампицину с ис-

пользованием «Амплитуб-РВ» и «Хpert® МТВ/РИФ» обнаружена у 172 (43,2%), с использованием фенотипических методов – у 169 (42,5%).

Мутации, ассоциированные с устойчивостью к рифампицину, детектированы в 104 (42,4%) из 245 образцов, исследованных с использованием набора «Амплитуб-РВ». С наибольшей частотой встречалась мутация в гене *rpoB*: Ser531Leu (100 случаев). По одному случаю встретились мутации His526Asn и Leu533Pro. В одном случае определено наличие сразу двух мутаций: His526Leu и кодоне Ser531Leu.

Мутации, ассоциированные с устойчивостью к изониазиду, выявлены в 140 (57,1%) из 245 образцов. Чаще всего (122 случая) встречалась мутация в гене *katG*: Ser315Thr1. В 16 случаях данная мутация обнаружена в комплексе с мутациями в гене *inhA* (С(-15)Т и Т(-8)А/С). По одному случаю встретились мутации Ser315Thr2 и в гене *inhA*: С(-15)Т.

Монорезистентность к рифампицину фенотипическими методами выявлена в 3 (0,7%) случаях из 398, в ПЦР («Амплитуб-РВ») – в 1 (0,4%) случае из 245; монорезистентность к изониазиду фенотипическими методами обнаружена в 52 (13,1%) случаях из 398, в ПЦР («Амплитуб-РВ») – в 38 (15,5%).

В случае использования набора «Амплитуб-РВ» различные варианты расхождения с результатами фенотипических методов наблюдались у 19 (7,6%) пациентов. Расхождения по чувствительности к рифампицину отмечены в 13 (5,3%) случаях. В 6 случаях с помощью ПЦР детектированы мутации, ассоциированные с устойчивостью, тогда как культуры МБТ были чувствительны, причем в 2 случаях обнаружены мутации His526Asn и Leu533Pro, связанные со снижением фитнеса у микобактерий. Лишь в 2 случаях расхождений и посев, и ПЦР были выполнены из одного образца материала, в остальных случаях это были разные пробы одного и того же материала, взятые у пациента с разным промежуток времени: от нескольких дней до 2 мес. Обратная ситуация наблюдалась, соответственно, в 7 пробах (культуры были устойчивыми, тогда как ПЦР не показала наличия мутаций, ассоциированных с устойчивостью). При этом в двух случаях и ПЦР, и посев были выполнены из одного образца.

Расхождения по чувствительности к изониазиду наблюдали в 9 (3,7%) случаях: в 6 – при ПЦР детектированы мутации, ассоциированные с устойчивостью, тогда как культура МБТ была чувствительна (лишь в 1 случае и посев, и ПЦР выполнены из одного образца); в 3 случаях культу-

ры были устойчивыми, тогда как ПЦР не показала наличия мутаций, ассоциированных с устойчивостью (в 2 случаях ПЦР и посев были выполнены из одного образца).

Расхождение по чувствительности к изониазиду и рифампицину наблюдались в 4 случаях: в 2 – в ПЦР определены мутации, ассоциированные с устойчивостью и к рифампицину, и к изониазиду, тогда как при посеве культура была чувствительной к обоим препаратам; в 2 случаях в ПЦР не найдено соответствующих мутаций, а при посеве к обоим препаратам культура была устойчивой (только в одном случае из четырех и посев, и ПЦР выполнялись из одного образца).

В случае с использованием картриджей «Хpert® МТВ/РИФ» расхождения в результатах с посевом наблюдались у 4 (2,6%) пациентов. Во всех случаях ПЦР была детектирована устойчивость к рифампицину, тогда как культуры МБТ были к нему чувствительны (в 3 случаях посев и ПЦР выполнены из одного образца).

#### Выводы

1. Наиболее распространенными мутациями, ассоциированными с устойчивостью, оказались: Ser531Leu (40,8%) и Ser315Thr1 (49,8%) в генах *rpoB* и *katG* соответственно.

2. Монорезистентность к изониазиду выявлялась чаще, чем к рифампицину.

3. Расхождения между фенотипическими и молекулярно-генетическими методами по чувствительности к рифампицину наблюдались в 2,6-5,3% случаев, к изониазиду – в 3,7%.

4. Случаи устойчивости культур МБТ при одновременном отсутствии детекции мутаций в ПЦР могут быть обусловлены ограниченным набором мутаций, определяемых с помощью набора «Амплитуб-РВ», а также наличием так называемой гетерорезистентности, когда в одной пробе содержатся устойчивые и чувствительные штаммы МБТ в разных пропорциях, что может затруднять детекцию мутаций в устойчивых штаммах. Случаи, когда культура чувствительна, а в ПЦР найдены мутации, возможно, связаны с тем, что некоторые мутации влияют на способность роста МБТ на питательных средах. В таких случаях требуется дальнейшее наблюдение за пациентом со взятием проб на чувствительность к противотуберкулезным препаратам.

Коломеец Анна Николаевна  
(Anna N. Kolomeets)  
E-mail: arbitasfoc2@gmail.com