

ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ И СПЕЦИФИЧНОСТЬ МЕТОДОВ ГЕНОТИПИРОВАНИЯ ПРИ ДИАГНОСТИКЕ ТУБЕРКУЛЕЗА С МНОЖЕСТВЕННОЙ И ШИРОКОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТЬЮ ВОЗБУДИТЕЛЯ И МИКОБАКТЕРИОЗОВ

О.А. Марьяндышев, П.И. Елисеев

ГБОУ ВПО «Северный государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Архангельск

SENSITIVITY AND SPECIFY OF GENOTYPING METHODS IN DIAGNOSIS OF MULTI- AND EXTENDED-DRUG RESISTANT TUBERCULOSIS AND NON-TUBERCULOSIS MYCOBACTERIAL DISEASES

O.A. Maryandyshv, P.I. Eliseev

В обзоре литературы представлена роль тест-систем GenoType® при диагностике множественной (МЛУ) и широкой (ШЛУ) лекарственной устойчивости микобактерий туберкулеза (МБТ), а также микобактериозов. Многие исследования подтвердили высокую специфичность и чувствительность тест-системы GenoType® MTBDRplus для диагностики лекарственной устойчивости к изониазиду и рифампицину. С 2009 г. ВОЗ рекомендует данный метод для диагностики туберкулеза. Высокие показатели чувствительности и специфичности обнаружены в исследованиях методом GenoType® MTBDRsl при диагностике лекарственной устойчивости к офлоксацину. Тем не менее, ВОЗ из-за недостаточной чувствительности и специфичности к инъекционным препаратам и этамбутолу не рекомендует данный метод, как основной для диагностики ШЛУ МБТ. Использование методов GenoType® Mycobacterium CM/AS позволяют диагностировать нетуберкулезные микобактерии с высокой степенью чувствительности и специфичности. Методы GenoType® могут одновременно использоваться в противотуберкулезных учреждениях для диагностики туберкулеза с МЛУ/ШЛУ МБТ и микобактериозов.

Ключевые слова: туберкулез, микобактериоз, лекарственная устойчивость, диагностика, молекулярно-генетические методы.

In review, the test-systems GenoType® practical importance in diagnosis of multi- and extended-drug resistant TB and non-tuberculosis mycobacterial diseases is considered. Plenty of studies confirmed the high diagnostic specificity and sensitivity of GenoType® MTBDRplus in isoniazid and rifampin drug resistance detection. From 2009 г. this test is recommended for TB detection by WHO. The high rates of diagnostic specificity and sensitivity of GenoType® MTBDRsl in ofloxacin drug resistance were also obtained, but, due to the insufficient specificity and sensitivity in detection of resistance to injectable TB drugs and ethambutol, this test isn't recommended for XDR-TB detection by WHO. The GenoType® Mycobacterium CM/AS implementation provide for non-tuberculosis mycobacteria detection with high-level diagnostic specificity and sensitivity. The GenoType® test-systems can be used in routine practice of TB facilities for diagnosis of multi- and extended-drug resistant TB and non-tuberculosis mycobacterial diseases.

Keywords: tuberculosis, non-tuberculosis mycobacterial diseases, drug resistance, diagnostic, molecular genetic methods.

В последние годы в Российской Федерации неуклонно растет число регистрируемых случаев туберкулеза (ТБ) с множественной и широкой лекарственной устойчивостью микобактерий (МЛУ и ШЛУ МБТ) [5]. Для лечения ТБ с МЛУ МБТ используют противотуберкулезные препараты (ПТП) резерва, менее эффективные, более токсичные и дорогие, чем ПТП основного ряда, а стратегия лечения больных ТБ с ШЛУ МБТ пока еще окончательно не разработана и многие пациенты умирают от заболевания, вызванного возбудителем с таким спектром ЛУ [24]. Поэтому все более значимой становится задача уменьшения сроков определения лекарственной чувствительности (ЛЧ) МБТ, что обеспечит раннюю госпитализацию больных в специализированные отделения и своевременное начало адекватного лечения [12, 13].

Все более актуальными в мировом масштабе становятся также проблемы, связанные с диагностикой и лечением заболеваний, вызванных нетуберкулезными микобактериями (НТМБ) – микобактериозов (МБ), особенно у ВИЧ-инфицированных лиц. Трудности диагностики МБ обусловлены их клиническим сходством с ТБ, а классические бактериологические методы видовой идентификации микобактерий требуют много времени и не обладают достаточной специфичностью [4].

Молекулярно-генетические методы, в основе которых лежит полимеразная цепная реакция, позволяют значительно сократить время диагностики ТБ, определения ЛЧ и вида микобактерии [8, 23, 27].

На рынке медицинских услуг представлено небольшое количество методов молекулярной диагностики, которые одновременно определяют ЛУ МБТ и вид НТМБ. Использование метода, который позволит диагностировать ТБ с МЛУ или ШЛУ МБТ и определять вид микобактерии, значительно ускорит процесс диагностики и позволит повысить эффективность лечения.

Всемирная Организация Здравоохранения (ВОЗ) на основе данных, полученных в результате мета-анализа [20], рекомендовала национальным противотуберкулезным программам тест-системы GenoType® (Hain Lifescience) для диагностики ТБ с МЛУ МБТ. Данным производителем также разработаны аналогичные методы для диагностики ЛУ к ПТП резерва и выявления НТМБ.

Целью настоящего обзора литературы явилось исследование возможности использования тест-систем GenoType® как универсального метода для диагностики ТБ с МЛУ/ШЛУ МБТ и микобактериозов.

Использование тест-системы GenoType® MTBDRplus для диагностики ТБ с МЛУ МБТ

Согласно мета-анализу D.I. Ling и соавт. [20], чувствительность и специфичность этой системы при определении ЛУ к рифампицину составили 98,1% и 98,7%, к изониазиду – 84,3% и 99,5%, соответственно. В исследованиях, проведенных

на территории Российской Федерации и бывшего СССР, чувствительность и специфичность для рифампицина составили порядка 96% и 90%, соответственно, для изониазида чувствительность в двух исследованиях составила 95,4% и 97,4%, специфичность – 83,3% и 89,1% [22]. В Архангельской обл. Российской Федерации результаты, полученные с помощью GenoType® MTBDRplus в качестве метода быстрой диагностики ЛЧ МБТ, сравнивали с результатами, полученными при использовании системы автоматического определения роста BACTEC MGIT 960 [1]. Чувствительность и специфичность для изониазида составили 96,6% и 100%, соответственно, для рифампицина – 100% и 98,1%, для двух препаратов одновременно (далее – «МЛУ») – 100 % и 98,1%, что совпадает с ранее опубликованными данными зарубежных и российских исследователей [8, 20, 22].

В исследовании, проведенном в Таиланде R. Anek-vorapong и соавт. [6], изучено 214 культур МБТ и образцов мокроты с положительным результатом микроскопии. Результаты GenoType® MTBDRplus сравнивали с результатами BACTEC MGIT 960. Чувствительность GenoType® MTBDRplus в данном исследовании составила 95,3%, 100% и 94,4% для изониазида, рифампицина и «МЛУ», соответственно, специфичность составила 100% для обоих препаратов. При обсуждении результатов авторы предполагают наличие мутаций, не включенных в использованную версию MTBDRplus, что могло стать причиной расхождений данных двух тестов при определении ЛУ к изониазиду.

М. Нуен и соавт. [16] во Вьетнаме провели исследование 111 образцов культур, полученных от больных ТБ. Результаты определения ЛУ методом MTBDRplus сравнивали с результатами исследования ЛЧ, полученными методом пропорций. Чувствительность для рифампицина в данном исследовании составила 93,1%, для изониазида – 88,9%, специфичность определения ЛУ составила 100% для обоих препаратов. Мутация S531L гена *rpoB* выявлена в 50% случаев ЛУ к рифампицину, мутации в гене *katG* определены в 86% случаев ЛУ к изониазиду. В 12,7% случаев отмечено отсутствие полосы в зоне WT2 гена *rpoB*, что может указывать на возможное присутствие мутации L511P. Все данные штаммы МБТ были определены как устойчивые к рифампицину методом пропорций. Расхождения в результатах двух методов были обнаружены в шести образцах, которые методом пропорций были определены как имеющие МЛУ, что не было подтверждено методом MTBDRplus. Для четырех штаммов, у которых отмечено расхождение при определении ЛУ к рифампицину, было проведено ДНК-секвенирование, выявившее в одном случае мутацию S526L, в трех оставшихся случаях мутаций в участке гена *rpoB*, ответственного за ЛУ, обнаружено не было. Смесь устойчивых и чувствительных штаммов выявлена в трех случаях.

А. Somoskovi и соавт. [28] исследовали 143 образца мокроты с положительным результатом микроскопии с помощью

тест-системы GenoType® MTBDRplus и системы BACTEC 460 TB, которую использовали в качестве «золотого стандарта». Результаты GenoType® MTBDRplus удалось получить для 135 образцов (94,4%). Чувствительность метода при определении ЛУ к рифампицину и изониазиду составила 96,2% и 84,2%, соответственно. А. Somoskovi и соавт., так же как и авторы других исследований, предполагают наличие у штаммов МБТ, устойчивых к рифампицину и изониазиду, в случаях расхождения результатов фенотипических и молекулярно-генетических методов, наличие менее распространенных мутаций, которые нельзя обнаружить методом GenoType® MTBDRplus.

В исследовании В.В. Николаевского и соавт. [3, 22] на территории Самарской обл., тест GenoType® MTBDRplus использовали в качестве метода ускоренной диагностики ЛУ МБТ у пациентов с положительным результатом микроскопии мазка мокроты. Всего протестировано 168 образцов мокроты, среди которых положительный результат GenoType® MTBDRplus удалось получить в 91,7% (154 образца), в 14 случаях результаты GenoType® MTBDRplus были не интерпретируемы в связи с полным или частичным отсутствием полос, соответствующих ДНК-зондам. В трех случаях в последующем было установлено присутствие *M.kansasii*. Также во всех образцах определяли ЛУ МБТ к рифампицину и изониазиду в системе BACTEC MGIT 960.

В результате, в 107 образцах были выявлены мутации, ассоциированные с ЛУ к рифампицину, и в 117 образцах – ассоциированные с ЛУ к изониазиду. У подавляющего большинства штаммов ЛУ к рифампицину была обусловлена мутациями в кодоне 531 гена *rpoB* (101 из 107, 94,5%). При ЛУ к изониазиду чаще всего встречалась мутация в кодоне 315 гена *katG* (80 из 117, 68,4%). Также В.В. Николаевским и соавт. было выявлено 39 образцов (25,3% от общего числа), у которых выявлено одновременное присутствие как диких, так и мутантных аллелей генов *katG* и *inhA*. Расхождения двух методов при определении ЛУ, отмеченные в 12 случаях (7,4%), по мнению авторов, связаны либо с наличием менее распространенных мутаций, в случаях, когда результаты определения ЛУ были ложноотрицательными по методу MTBDRplus, либо с присутствием смеси чувствительных и устойчивых штаммов в образце при получении ложноположительного результата. Чувствительность и специфичность GenoType® MTBDRplus при определении ЛУ к рифампицину составили 96,2% и 90,7%, для изониазида – 97,4% и 83,3%.

С. Mironova и соавт. в многоцентровом исследовании провели анализ результатов использования GenoType® MTBDRplus в 1351 образцах, включая мокроту и выделенные культуры, полученные от больных ТБ, которые были зарегистрированы на территории Латвии, Литвы, Эстонии и Российской Федерации [21]. Полученные результаты определения ЛУ сопоставлены с результатами, полученными фенотипическими методами, включая метод пропорций на среде Левенштейна-Йенсена и

в системе BACTEC MGIT 960. Доля интерпретируемых результатов в исследовании равна 92,2%. Чувствительность и специфичность составили для рифампицина 95,8% и 89,5%, для изониазида – 95,4% и 89,1%, соответственно. Расхождения результатов молекулярно-генетического и фенотипических методов С. Mironova и соавт. объясняют как наличием редких мутаций, в случае ложноотрицательного результата GenoType® MTBDRplus, так и возможными ошибками при постановке фенотипических тестов определения ЛУ и «гетерорезистентностью» при ложноположительных результатах молекулярно-генетического теста.

В исследовании, проведенном на территории Турции, С. Cavusoglu и соавт. [9], применена тест-система GenoType® MTBDRplus для определения ЛУ штаммов МБТ. В исследование включен 41 штамм с ЛУ к рифампицину. Результаты сравнивали с методом пропорций на плотной среде, а также ДНК-секвенированием. Совпадением результатов определения ЛУ к рифампицину молекулярно-генетическим и фенотипическим методом составило 95,1%. Расхождения отмечены в двух случаях, в которых методом ДНК-секвенирования были обнаружены мутации, не предусмотренные использованной версией GenoType® MTBDR. Также авторами было показано, что присутствие различных мутаций гена *rpoB* приводит к разным уровням ЛУ. Так, например, продемонстрировано, что при наличии мутаций A516V или A516T минимальная ингибирующая концентрация препарата составляла менее 4 мкг/мл, а при мутациях S531L, H526T или H526A – более 32 мкг/мл. При сравнении результатов определения ЛУ к изониазиду, совпадение данных GenoType® MTBDR и метода пропорций составило 73%. В 10 случаях метод показал ложноотрицательный результат (сохранение ЛЧ), по предположению авторов, это объясняется наличием мутаций, определение которых не предусмотрено использованной версией теста.

Исследование, проведенное в Швеции, стране с относительно низкими показателями заболеваемости ТБ и распространенности штаммов МБТ с МЛУ, Е. Chryssanthou и соавт. [11], показало высокую чувствительность GenoType® MTBDRplus при определении ЛУ: 87,5%, 100% и 95,2% для изониазида, рифампицина и «МЛУ», соответственно. Специфичность в исследовании составила 100% для обоих препаратов. Также было продемонстрировано преобладание мутаций в кодонах 531 гена *rpoB* и 315 гена *katG* при выявлении ЛУ к рифампицину и изониазиду.

Таким образом, исследования с использованием GenoType® MTBDRplus для изучения чувствительности и специфичности определения ЛУ МБТ к изониазиду и МЛУ МБТ показали, что данные показатели составили, соответственно, от 73% до 99,5% и от 84% до 100%. Данный метод быстрой диагностики МЛУ и ЛУ к изониазиду может быть рекомендован для использования в противотуберкулезных учреждениях.

Использование GenoType® MTBDRs/ для диагностики ТБ с ШЛУ МБТ

Для диагностики ШЛУ МБТ используют молекулярно-генетическую тест-систему GenoType® MTBDRs/, в основе которой лежит выявление мутаций ДНК МБТ, приводящих к ЛУ к этамбутолу (ген *embB*), фторхинолонам (ген *gyrA*) и инъекционным ПТП (ген *rrs*) [7, 10, 15, 18, 26].

Однако GenoType® MTBDRs/ не обеспечивает такой высокой достоверности, как тест-системы, используемые для оценки ЛЧ к изониазиду и рифампицину. В исследованиях, проведенных ранее, получены различные данные о чувствительности и специфичности метода GenoType® MTBDRs/ [7, 10, 15, 26]. Основываясь на этих данных, экспертная группа ВОЗ сделала вывод, что метод GenoType® MTBDRs/ обладает высокой специфичностью при определении ЛУ к фторхинолонам и инъекционным препаратам, однако чувствительность теста является ниже требуемой. Тем самым, несмотря на возможность дополнительного выявления ЛУ МБТ, в том числе ШЛУ, в короткие сроки с помощью GenoType® MTBDRs/ тест не может быть рекомендован как замена стандартных методов с использованием питательных сред. Также экспертами было отмечено, что данных по перекрестной ЛУ к инъекционным препаратам недостаточно и метод не позволяет определить ЛУ к отдельным препаратам этой группы [29].

В Российской Федерации проведено сопоставление результатов оценки ЛУ, полученной двумя методами – GenoType® MTBDRs/, использованного в качестве метода ускоренной диагностики ЛУ, и метода абсолютных концентраций на среде Левенштейна-Йенсена (который применяли в качестве метода сравнения) среди всех пациентов с впервые выявленным ТБ с МЛУ МБТ в Архангельской обл. [2].

В результате установлено, что более, чем у половины больных ТБ с МЛУ МБТ (57,7 и 80,5% по результатам двух методов) МБТ устойчивы также и к этамбутолу. Это свидетельствует о том, что у значительного числа больных ТБ с МЛУ МБТ применение этамбутола будет нецелесообразным из-за наличия ЛУ к этому ПТП. Устойчивость к канамицину составила 7,3% и 14,6%, к капреомицину 7,3% и 10,6% и к офлоксацину 5,7% и 5,7%, по результатам GenoType® MTBDRs/ и абсолютных концентраций, соответственно. При определении ЛУ к этамбутолу расхождения результатов двух методов отмечены в 34,1% случаев. Расхождения результатов двух методов отмечены в 17 случаях определения ЛУ к канамицину, у 13 фенотипически устойчивых к канамицину штаммов МБТ GenoType® MTBDRs/ не выявил мутаций. При определении ЛУ к капреомицину расхождения результатов двух методов отмечены в восьми случаях, у шести фенотипически устойчивых к капреомицину штаммов МБТ GenoType® MTBDRs/ не выявил мутаций.

Тест-система GenoType® MTBDRs/ позволяет определить мутации в определенных локусах гена *rrs*, ответственных за

устойчивость одновременно к канамицину и капреомицину [18]. Однако наличие штаммов МБТ, устойчивых к канамицину с сохраненной ЛЧ к капреомицину, без мутаций в данном гене, отмечено в этом исследовании у восьми пациентов, что может говорить о наличии мутаций в других участках, ответственных за «моноустойчивость» к канамицину, например, гене *eis* [7, 10, 15, 26] или об ошибках при использовании метода абсолютных концентраций.

D. Hilleman и соавт. [14] отобрали 106 выделенных культур МБТ, 63 из которых – от больных ТБ с МЛУ МБТ, и 64 образца нативного материала и сравнили результаты GenoType® MTBDRs/ с данными, полученными фенотипическими методами определения ЛУ к ПТП резервного ряда (BACTEC MGIT 960 и метод пропорций на среде Левенштейна-Йенсена), а также результатами ДНК-секвенирования. Расхождений в результатах ДНК-секвенирования и GenoType® MTBDRs/ авторами обнаружено не было. Чувствительность и специфичность GenoType® MTBDRs/ для фторхинолонов составили 90,2% и 100%, соответственно. При определении устойчивости к фторхинолонам чаще всего (40,6%) встречалась мутация D94G гена *gyrA*. Чувствительность GenoType® MTBDRs/ для амикацина и капреомицина составили 83,3% и 86,8%, соответственно, специфичность – 100% и 99,1%. При регистрации устойчивости к инъекционным препаратам в 77,8% случаев выявлена мутация A1401G. Чувствительность и специфичность для ЛУ к этамбутолу составили 59,0% и 100%.

В гене *embB* преобладали мутации M306V (50%) и M306I (13,5%). Также D. Hilleman и соавт. обращают внимание на значительное число случаев, когда при использовании GenoType® MTBDRs/ обнаруживали одновременно сохранившие ЛЧ штаммы дикого типа и мутантные штаммы с ЛУ.

F. Brossier и соавт. [7] определяли ЛУ к фторхинолонам, этамбутолу и инъекционным ПТП резервного ряда с помощью GenoType® MTBDRs/ и сравнили полученные результаты с данными, полученными методом пропорций на среде Левенштейна-Йенсена, а также ДНК-секвенированием. В исследование включен 41 штамм МБТ с МЛУ, восемь штаммов с ШЛУ, а также три штамма МБТ без МЛУ, у которых фенотипически была подтверждена ЛУ к ПТП резервного ряда с сохраненной ЛЧ к ПТП основного ряда. Чувствительность и специфичность GenoType® MTBDRs/ составили, по результатам исследования, 87% и 96% для фторхинолонов, 100% для амикацина, 77% и 100% для канамицина, 80% и 98% для капреомицина, 57% и 92% для этамбутола, что соответствовало показателям ДНК-секвенирования.

По данным литературы [2, 7, 14, 15, 29], существуют некоторые различия в фенотипических и генотипических характеристиках штаммов МБТ, устойчивых к этамбутолу. С одной стороны, некоторые авторы обнаружили тесную связь между ЛУ к этамбутолу и наличием мутации в кодоне M306 гена *embB*, что

позволило им охарактеризовать данные мутации как маркер ЛУ. С другой стороны, некоторые исследования показали, что мутации в кодоне 306 гена *embB* могут также быть обнаружены у штаммов МБТ с ЛЧ к этамбутолу и присутствуют только у 30-68% всех штаммов с ЛУ к этамбутолу. Учитывая эти данные, можно предположить, что молекулярные механизмы возникновения ЛУ МБТ к этому препарату недостаточно изучены, что не позволяет полностью полагаться только на результаты, полученные молекулярно-генетическими методами.

J. Ingen и соавт. [17] сопоставили результаты определения ЛУ МБТ с МЛУ к ПТП резервного ряда по BACTEC MGIT 960 и GenoType® MTBDRs/ и данные, полученные методом пропорций на плотной агаровой среде. Результаты молекулярных исследований полностью совпали с полученными фенотипическими методами при выявлении ЛУ к фторхинолонам и инъекционным ПТП.

Чувствительность и специфичность GenoType® MTBDRs/ ниже, чем у GenoType® MTBDRplus, что можно объяснить как наличием у МБТ не определяемых данным методом мутаций, так и недостатками метода абсолютных концентраций на среде Левенштейна-Йенсена или метода BACTEC MGIT 960 при определении ЛУ к этамбутолу и ПТП резервного ряда.

Несмотря на рекомендации ВОЗ о необходимости дополнительного исследования ЛЧ к ПТП резервного ряда фенотипическими методами, данные литературы показывают, что в исследованиях авторов из разных стран мира метод GenoType® MTBDRs/ продемонстрировал высокую чувствительность и специфичность при определении ЛУ к офлоксацину и инъекционным ПТП. В то же время, подтверждена его недостаточная чувствительность и специфичность при определении ЛУ к этамбутолу.

Использование тест-системы

GenoType® Mycobacterium CM/AS

для диагностики микобактериозов

Методы высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) и ДНК-секвенирование, которые некоторые авторы считают «стандартами» при видовой идентификации НТМБ, являются недоступными для повседневного обследования пациентов в противотуберкулезных учреждениях Российской Федерации, а результаты культуральных методик не позволяют достоверно идентифицировать вид микобактерии.

Исследования различных авторов продемонстрировали совпадение результатов GenoType® Mycobacterium CM/AS с принятыми за «золотые стандарты» культуральными методами более чем в 90% случаев. Так, например, A. Safianowska и соавт. [27] сравнили результаты ВЭЖХ и GenoType® Mycobacterium CM/AS при выявлении НТМБ, при этом результаты ВЭЖХ использовали в качестве «золотого стандарта». Всего обследовано 127 пациентов, среди которых достоверные результаты удалось получить у 113. Совпадение данных двух методов отмечено

в 93% случаев, что, по мнению авторов, наряду с относительной простотой исполнения и быстрым получением результата, позволяет использовать метод GenoType® Mycobacterium CM/AS для выявления НТМБ. Расхождения ВЭЖХ и GenoType® Mycobacterium CM/AS при идентификации НТМБ, по мнению авторов, можно объяснить присутствием микроорганизмов, не относящихся к роду *Mycobacterium*, например *Nocardia*, а также одновременным присутствием несколько видов микобактерий в выделенной культуре. В случаях получения разных результатов двумя методами идентификации микобактерий, A. Safianowska и соавт. [27] предлагают использовать дополнительные тесты, например ДНК-секвенирование.

E. Richter и соавт. [25] проанализировали методами GenoType® 156 штаммов, относящихся к 83 различным видам и подвидам микроорганизмов. Авторы использовали GenoType® Mycobacterium CM для идентификации наиболее часто встречающихся микобактерий, а также GenoType® Mycobacterium AS дополнительно для идентификации более редких видов. Интерпретируемые результаты GenoType® Mycobacterium CM/AS были получены для 96,8% штаммов. Среди 151 образца три микроорганизма не относились к микобактериям (*Corynebacterium amycolatum*, *Nocardia nova*, *Rhodococcus equi*). Авторами были получены высокие уровни совпадения результатов идентификации микобактерий методами GenoType® и ДНК-секвенированием: 92,6% (137 из 148 штаммов) для GenoType® Mycobacterium CM и 89,9% (133 из 148) для GenoType® Mycobacterium AS, соответственно. По мнению авторов, GenoType® Mycobacterium CM позволит идентифицировать 96,4% всех выделенных микобактерий, а GenoType® Mycobacterium AS позволит дополнительно идентифицировать еще 0,9% микобактерий. К преимуществам метода авторы также отнесли надежность, относительную простоту исполнения и интерпретации результатов по сравнению с классическими фенотипическими методиками или другими молекулярными тестами. При этом внедрение GenoType® Mycobacterium CM/AS в работу лабораторий, использующих другие молекулярно-генетические методы, например, для определения лекарственной чувствительности *M. tuberculosis*, не будет представлять трудностей.

В исследовании, проведенном в Австралии A.S. Lee и соавт. [19], изучен 131 клинический изолят, а также 19 контрольных штаммов, включавших 14 микобактерий и пять других микроорганизмов. Авторы использовали тест-систему GenoType® Mycobacterium CM/AS для изучения всех образцов и сравнили результаты с результатами идентификации микроорганизмов методами ВЭЖХ и ДНК-секвенированием. В 90,8% образцов результаты метода GenoType® совпали с данными, полученными классическими методами идентификации. По мнению авторов, полученные более низкие уровни совпадения результатов могут быть объяснены наличием в образцах редко встречающихся

в клинической практике видов микобактерий, а также возможным географическим полиморфизмом штаммов. Исследователи делают вывод, что тест-системы GenoType® являются относительно простыми в применении и позволяют идентифицировать вид микобактерий в короткие сроки. Однако некоторые виды микобактерий данный метод не позволяет корректно идентифицировать, в частности *M. lentiflavum* и *M. abscessus*. По мнению авторов, данную проблему можно решить, используя комбинацию методик.

Основываясь на этих результатах, тест-система GenoType® Mycobacterium CM использована П.И. Елисеевым для идентификации НТМБ на территории Архангельской обл. Российской Федерации. Всего за три года на территории области выявлено 17 человек, при обследовании которых были обнаружены

НТМБ (пациенты находились как в гражданском секторе, так и в пенитенциарной системе). У двух из 17 пациентов выделение было расценено как контаминация пробы сапрофитной флорой. Наиболее часто встречались представители *Mycobacterium avium complex*, что также может говорить об эффективном использовании метода.

Представленные в настоящем обзоре литературы данные позволяют высказаться в пользу внедрения трех молекулярно-генетических тест-систем (GenoType® MTBDRplus, GenoType® MTBDRsl, GenoType® Mycobacterium CM/AS) в повседневную российскую практику с целью выявления МБТ, определения их ЛЧ к препаратам основного и резервного ряда, а также для диагностики микобактериозов в территориях с высокой распространенностью ТБ с МЛУ МБТ и ВИЧ-инфекции.

Литература

1. Елисеев П.И., Никишова Е.И., Горина Г.П., Марьяндышев А.О. Результаты применения методов GenoType MTBDRplus и BACTEC MGIT для определения лекарственной чувствительности возбудителя туберкулеза // Туберкулез и болезни легких. – 2012. – № 6. – С. 31-34.
2. Елисеев П.И., Тарасова И.В., Никишова Е.И., Марьяндышев А.О. Результаты применения метода GenoType MTBDRsl для определения лекарственной чувствительности возбудителя туберкулеза к этамбутолу, офлоксацину, канамицину и капреомоцину в Архангельской области // Туберкулез и болезни легких. – 2013. – № 1. – С. 32-36.
3. Николаевский В.В., Балабанова Я.М., Миронова С.А. и др. Чувствительность и специфичность молекулярно-генетической тест-системы HAIN MTBDRplus для экспресс-диагностики лекарственной чувствительности микобактерий туберкулеза на материале мокроты // Туберкулез и болезни легких. – 2010. – № 4. – С. 28-34.
4. Макарова М.В. Нетуберкулезные микобактерии: Классификация, эпидемиология, патология у людей и животных, лабораторная диагностика (обзор литературы) // Туберкулез и болезни легких. – 2007. – № 10. – С. 7-17.
5. Туберкулез в Российской Федерации 2010 г. Аналитический обзор статистических показателей, используемых в Российской Федерации. – М., 2011. – 280 с.
6. Anek-vorapong R., Sinthuwattanawibool C., Podewils L. et al. Validation of the GenoType® MTBDRplus assay for detection of MDR-TB in a public health laboratory in Thailand // BMC Inf. Dis. – 2010. – Vol. 10. – Article 123. – doi: 10.1186/1471-2334-10-1233.
7. Brossier F., Veziris N., Aubry F. et al. Detection by Genotype MTBDRsl test of complex mechanisms of resistance to second-line drugs and ethambutol in multidrug-resistant Mycobacterium tuberculosis complex isolates // J. Clin. Microbiol. – 2010. – Vol. 48. – P. 1683-1689.
8. Bwanga F., Hoffner S., Haile M., Joloba M. Direct susceptibility testing for multidrug resistant tuberculosis: A meta-analysis // BMC Infect. Dis. – 2009. – Vol. 9. – Article 67. – doi:10.1186/1471-2334-9-67.
9. Cavusoglu C., Turhan A., Akinci P., Soyler I. Evaluation of the Genotype MTBDR assay for rapid detection of rifampin and isoniazid resistance in Mycobacterium tuberculosis isolates // J. Clin. Microbiol. – 2006. – Vol. 44. – N. 7. – P. 2338-2342.
10. Campbell P., Morlock G., Sikes R. et al. Molecular detection of mutations associated with first- and second-line drug resistance compared with conventional drug susceptibility testing of Mycobacterium tuberculosis // Antimicrob. Agents Chemother. – 2011. – Vol. 55. – N. 5. – P. 2032-2041.
11. Chryssanthou E., Angeby K. The GenoType® MTBDRplus assay for detection of drug resistance in Mycobacterium tuberculosis in Sweden // APMIS. – 2012. – Vol. 120. – N. 5. – P. 405-409.
12. Global tuberculosis report 2010. – World Health Organization, Geneva, 2010.
13. Guidelines for the programmatic management of drug-resistant tuberculosis. WHO 2011 update. – World Health Organization, Geneva, 2006.
14. Hillemann D., Rusch-Gerdes S., Richter E. Feasibility of the Genotype MTBDRsl assay for fluoroquinolone, amikacin-capreomycin, and ethambutol resistance testing of Mycobacterium tuberculosis strains and clinical specimens // J. Clin. Microbiol. – 2009. – Vol. 47. – N. 6. – P. 1767-1772.
15. Huang W., Chi T., Wu M., Jou R. Performance assessment of the GenoType MTBDRsl test and DNA sequencing for detection of second-line and ethambutol drug resistance among patients infected with multidrug-resistant Mycobacterium tuberculosis // J. Clin. Microbiol. – 2011. – Vol. 49. – N. 7. – P. 2502-2508.
16. Huyen M., Tiemersma E., Lan N. Et al. Validation of the GenoType® MTBDRplus assay for diagnosis of multidrug resistant tuberculosis in South Vietnam // BMC Infect. Dis. – 2010. – Vol. 10. – Article 149. – doi: 10.1186/1471-2334-10-1499.
17. Ingen J., Simons S., Zwaan R. Comparative study on genotypic and phenotypic second-line drug resistance testing of Mycobacterium tuberculosis complex isolates // J. Clin. Microbiol. – 2010. – Vol. 48. – P. 2749-2753.
18. Instructions for use – Genotype MTBDRsl, Ver. 1.0. – Hain Lifescience, 2009.

19. Lee A.S., Jelfs P., Sintchenko V., Gilbert G. Identification of non-tuberculous mycobacteria: utility of the GenoType Mycobacterium CM/AS assay compared with HPLC and 16S rRNA genesequencing // *J. Medical Microb.* – 2009. – P. 900–904.
20. Ling D.I., Zwerling A., Pai M. GenoType MTBDR assays for the diagnosis of multidrug-resistant tuberculosis: a meta-analysis // *ERJ.* – 2008. – Vol. 32. – N. 5. – P. 1165–1174.
21. Mironova S., Pimkina E., Kontsevaya I. Performance of the GenoType® MTBDRPlus assay in routine settings: a multicenter study // *Eur. J. Clin. Microb. Infect. Dis.* – 2012 – Vol. 31. – N. 7. – P. 1381–1387.
22. Nikolayevskyy V., Balabanova Y., Simak T. Performance of the Genotype® MTBDRPlus assay in the diagnosis of tuberculosis and drug resistance in Samara, Russian Federation // *BMC Clin. Pathol.* – 2009. – Vol. 9. – Article 2. – doi:10.1186/1472-6890-9-2.
23. O'Donnell N., Corcoran D., Lucey B., Barrett A. Molecular-based mycobacterial identification in a clinical laboratory setting: a comparison of two methods // *Brit. J. Biomed. Science.* – 2012. – Vol. 69. – N. 4. – P. 164–168.
24. Phillips L. TB's revenge // *Nature.* – 2013 – Vol. 493. – N. 3. – P. 14–16.
25. Richter E., Rusch-Gerdes S., Hillemann D. Evaluation of the GenoType Mycobacterium assay for identification of Mycobacterial species from cultures // *J. Clin. Microbiol.* – 2006. – Vol. 44. – N. 5. – P. 1769–1775.
26. Said H., Kock M., Ismail N. et al. Evaluation of the GenoType® MTBDRsl assay for susceptibility testing of second-line anti-tuberculosis drugs // *Int. J. Tub. Lung Dis.* – 2012 – Vol. 16. – N. 1. – P. 104 – 109.
27. Safianowska A., Walkiewicz R., Nejman-Gryz P. The comparison between two methods for typing of nontuberculous mycobacteria: high pressure liquid chromatography and molecular assay GenoType Mycobacterium CM/AS // *Pneumonol. Alergol. Polska.* – 2010. – Vol. 78. – N. 5. – P. 363–368.
28. Somoskovi A., Dormandy J., Mitsani D. Use of smear-positive samples to assess the PCR-based GenoType MTBDR assay for rapid, direct detection of the Mycobacterium tuberculosis complex as well as its resistance to isoniazid and rifampin // *J. Clin. Microb.* – 2006. – Vol. 44. – N. 12. – P. 4459–4463.
29. WHO policy statement – the use of molecular line probe assay for the detection of resistance to second-line anti-tuberculosis drugs. – World Health Organization, Geneva., 2013.

Сведения об авторах

Марьяндышев Андрей Олегович – заведующий кафедрой фтизиопульмонологии ГБОУ ВПО «Северный государственный медицинский университет» Минздрава России, доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАМН

Адрес: 163002, г. Архангельск, просп. Новгородский, д. 28.

Тел. 8-952-306-02-38

e-mail: maryandyshv@mail.ru

Елисеев Платон Иванович – врач-бактериолог ГБУЗ Архангельской области «Архангельский клинический противотуберкулезный диспансер»

Адрес: 163002, г. Архангельск, просп. Новгородский, д. 28.

Тел. 8-952-303-31-12

e-mail: Platon Eliseev pediatrics@yandex.ru