

УДК 616.24-002.5-079.3:577.21

РАННЯЯ ДИАГНОСТИКА ТУБЕРКУЛЕЗА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ТЕСТА XPERT MTB/RIF ULTRA

Е.Ю. Носова, М.А. Свириденко, А.А. Хахалина, К.Ю. Галкина, Ю.Д. Михайлова, С.Г. Сафонова

ГБУЗ города Москвы «Московский городской научно-практический центр борьбы с туберкулезом Департамента здравоохранения города Москвы», г. Москва

Цель. Оценить диагностическую эффективность молекулярно-генетического теста Xpert MTB/RIF Ultra в отношении выявления возбудителя туберкулеза и определения его чувствительности к рифампицину в различном диагностическом материале.

Материалы и методы. Исследованы 427 образцов респираторного и внелегочного диагностического материала, полученного от 378 пациентов, нуждающихся в ускоренной диагностике туберкулеза (ТБ), в том числе больных ВИЧ-инфекцией. Исследование проводили из одной порции осадка обработанного диагностического материала с помощью люминесцентной микроскопии, бактериологического метода (посевов в жидкой среде Middlebrook 7H9 в системе Bactec MGIT 960, на плотной питательной среде Левенштейна – Йенсена) и теста Xpert MTB/RIF Ultra.

Результаты. Продemonстрирована высокая эффективность тест-системы Xpert MTB/RIF Ultra при верификации ТБ у пациентов с различным ВИЧ-статусом с подозрением на заболевание или рецидив. Показана высокая выявляемость ДНК *M. tuberculosis* (39,2%, 95%ДИ 32,6–46,2%) из разного диагностического материала, в том числе при отрицательных результатах микроскопии и посева на питательных средах у больных с подтвержденным диагнозом ТБ. Использование для тестирования лекарственной чувствительности *M. tuberculosis* к рифампицину критической концентрации 0,5 мкг/мл, рекомендованной ВОЗ, позволило бы повысить установленное значение совпадений результатов тестирования в системе Bactec MGIT 960 с Xpert MTB/Rif Ultra до 97,4% (95% ДИ 86,8–99,5).

Ключевые слова: микобактерии туберкулеза, диагностика, Xpert MTB/Rif Ultra, лекарственная чувствительность, рифампицин

Для цитирования: Носова Е.Ю., Свириденко М.А., Хахалина А.А., Галкина К.Ю., Михайлова Ю.Д., Сафонова С.Г. Ранняя диагностика туберкулеза с использованием теста Xpert MTB/Rif Ultra// Туберкулез и социально значимые заболевания. – 2025. – Т.13, № 1. – С. 22-29. <https://doi.org/10.54921/2413-0346-2025-13-1-22-29>

RAPID DIAGNOSTICS OF TUBERCULOSIS USING THE XPERT MTB/RIF ULTRA TEST

E.Yu. Nosova, M.A. Sviridenko, A.A. Khakhalina, K.Yu. Galkina, Yu.D. Mikhailova, S.G. Safonova

Moscow Research and Clinical Center for Tuberculosis Control of the Moscow City Health Department, Moscow, Russia

The aim of the study was evaluation of the diagnostic efficiency of the Xpert MTB/RIF Ultra test for detection of *M. tuberculosis* DNA and determination of drug susceptibility to rifampicin in various diagnostic samples of patients examined for disease verification.

Materials and methods. We analyzed 427 respiratory and extrapulmonary diagnostic samples obtained from 378 patients (including HIV-infected ones) requiring rapid TB diagnostics. The study was conducted from one portion of the sediment of the diagnostic sample using bacteriological methods (luminescent microscopy, cultivation on Middlebrook 7H9 medium in the Bactec MGIT 960 system and on a Lowenstein-Jensen medium) and Xpert MTB/RIF Ultra test.

Results. High efficiency of the Xpert MTB/RIF Ultra test-system was demonstrated in verifying of TB in HIV-positive and HIV-negative patients with suspected disease or relapse. Xpert MTB/RIF Ultra demonstrated high efficiency of *M. tuberculosis* DNA detection (39.2%, 95%CI 32.6–46.2%) in various diagnostic samples that were smear-negative and had no growth on nutrient media and obtained from TB patients. The use of the WHO-recommended QC of 0.5 µg/ml for *M. tuberculosis* drug susceptibility testing to rifampicin in the Bactec MGIT 960 system would improve the estimated concordance of 97.4% (95% CI: 86.8 – 99.5) with Xpert MTB/Rif Ultra.

Key words: *M. tuberculosis*, diagnostics, Xpert MTB/Rif Ultra, drug susceptibility, rifampicin

For citations: Nosova E.Yu., Sviridenko M.A., Khakhalina A.A., Galkina K.Yu., Mikhailova Yu.D., Safonova S.G. (2025) Rapid diagnostics of tuberculosis using the Xpert MTB/Rif Ultra test. *Tuberculosis and socially significant diseases*, Vol. 13, No 1, pp. 22-29. (In Russ.) <https://doi.org/10.54921/2413-0346-2025-13-1-22-29>

Туберкулез (ТБ), согласно данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), в 2023 году был диагностирован у 7,5 млн человек во всем мире; заболевание остается серьезной глобальной проблемой здравоохранения и одним из основных факторов смертности [19]. В настоящее время основные эпидемиологические показатели по ТБ в городе Москве существенно ниже, чем в целом по Российской Федерации (смертность – в 3,1 раза; заболеваемость – в 1,6 раза, распространенность – в 5,6 раза, по данным 2022 года [4]); тем не менее достижение и поддержание эпидемиологического благополучия требует более интенсивных комплексных усилий по борьбе с заболеванием.

Туберкулез является мультисистемным инфекционным заболеванием, вызываемым микобактериями, входящими в комплекс *Mycobacterium tuberculosis* (МБТ), верификация которого основана на обнаружении возбудителя в диагностическом материале. Одной из ключевых задач борьбы с ТБ является усовершенствование диагностических инструментов для быстрого подтверждения диагноза и своевременного назначения адекватного противотуберкулезного лечения. Экспресс-тест Xpert MTB/RIF (Cepheid, США), рекомендованный ВОЗ в 2010 году для молекулярно-генетического тестирования диагностического материала пациентов с подозрением на ТБ с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ) или ВИЧ-ассоциированным ТБ, стал настоящим прорывом среди молекулярных технологий. Уникальность теста состоит в полной автоматизации всех этапов молекулярного исследования в формате картриджа, в котором осуществляется выделение ДНК МБТ из клинического материала пациента, мультиплексная ПЦР-РВ с детекцией ДНК и мутаций в гене *groV* (соответствующих устойчивости к рифампицину), автоматическая интерпретация результатов реакции в молекулярном анализаторе «GeneXpert». Полный цикл занимает 2,5 часа [6, 11].

Однако чувствительность Xpert MTB/RIF ограничена у олигобациллярных пациентов (в случаях ТБ с отрицательным мазком мокроты, у детей раннего возраста, внелегочного ТБ). Возможно получение ложноположительных результатов при определении резистентности к рифампицину за счет распознавания нефункциональных (синонимичных) мутаций [9;14;15;19].

В 2017 году ВОЗ рекомендовала новый тест следующего поколения Xpert MTB/RIF Ultra. Модификация тест-системы включала: а) изменение параметров термоциклирования и самой ПЦР, а именно амплификацию двух разных генов, мультикопийного IS6110 и однокопийного IS1081, для увеличения чувствительности при обнаружении МБТ; б) увеличение объема реакционной камеры (картриджа), которая удваивает количество ДНК в образце, с этой же целью; в) преобразование набора *groV* зондов, один из которых модифицирован для специфического отличия молчащих мутаций от других, связанных

с устойчивостью. В результате чувствительность теста повысилась с 131 до 15,6 КОЕ/мл, а время анализа уменьшилось до 65-87 минут по сравнению с 112 минутами для Xpert MTB/RIF. При оценке результатов исследования к имеющимся категориям количества ДНК (высокое, среднее, низкое и очень низкое у Xpert MTB/RIF) добавилась категория «следы» (TRACE), соответствующая наименьшей бактериальной нагрузке при выявлении МБТ. Возможность обнаруживать «следы» ДНК МБТ повышает выявление пациентов с ТБ, но не дает информации о чувствительности к рифампицину [2, 6, 7].

Новая тест-система направлена на значительное улучшение диагностики ТБ, особенно у пациентов с малобациллярными формами заболевания, и обеспечение более надежного определения лекарственной чувствительности (ЛЧ) возбудителя к рифампицину [1, 5, 17].

Цель исследования

Оценить диагностическую эффективность молекулярно-генетического теста Xpert MTB/RIF Ultra по выявлению ДНК *M. tuberculosis* и определению лекарственной чувствительности к рифампицину в различном диагностическом материале пациентов, обследуемых для верификации заболевания.

Материалы и методы

Пациенты и образцы

В период с 1 марта по 31 августа 2023 года в Централизованной бактериологической лаборатории ГБУЗ «МНПЦ борьбы с туберкулезом» ДЗМ были исследованы 427 образцов диагностического материала, полученного от 378 пациентов с различным ВИЧ-статусом.

Категории пациентов

1. Лица, обследуемые в диагностических целях для верификации заболевания, в том числе после оперативного вмешательства;
2. Лица с впервые установленным диагнозом ТБ;
3. Лица с ТБ в анамнезе и клиническими признаками рецидива заболевания;
4. Лица из контакта с больными ТБ.

Диагностический материал был представлен мокротой (231 образец), материалами диагностической бронхоскопии – жидкостью бронхоальвеолярного лаважа (БАЛ), смывами с верхних дыхательных путей (СВДП), трахеобронхиальным аспиратом, бронхиальными смывами (137 образцов), биоптатами тканей легкого, плевры, лимфатического узла и других тканей (7 образцов), плевральным экссудатом (27 образцов), спинномозговой жидкостью (6 образцов), мазком из зева (14 образцов), отделяемым из раны (5 образцов).

Микроскопические, бактериологические и молекулярно-генетические исследования выполняли из одной порции осадка обработанного диагностического материала.

Обработка диагностического материала и микробиологическое исследование

Диагностический материал предварительно обрабатывали раствором N-ацетил-L-цистеин-натрия гидроксида (NALC-NaOH, набор BD BBL «MycosPrep») в соответствии с руководством фирмы-производителя Becton Dickinson [13], с последующим отмыванием и центрифугированием. Для люминесцентной микроскопии использовали 30 мкл полученного осадка. Результат подсчета кислотоустойчивых микобактерий (КУМ) в препарате с помощью микроскопии оценивали как отрицательный или положительный, согласно рекомендациям, изложенным в приказе Министерства здравоохранения РФ от 21 марта 2003 г. № 109 [2].

Осадок в объеме 0,5 мл засеивали в индикаторные пробирки MGIT с жидкой питательной средой *Middlebrook 7H9*, обогащенной ростовой (MGIT Growth Supplement) и деконтаминирующей (MGIT PANTA) добавками и культивировали в автоматизированной системе Bactec™MGIT™960 (Bactec MGIT 960, Becton Dickinson and Company, USA) в соответствии с руководством [13].

Осадок в объеме 0,3 мл инокулировали в пробирку с плотной яичной средой Левенштейна – Йенсена (Л-Й) (солевая основа HiMedia Laboratories, Индия). Пробирки размещали в термостате при 37 °C и инкубировали с еженедельным просмотром в течение 12 недель.

Видовую идентификацию микобактерий проводили на основе фенотипических признаков (интенсивности роста, пигментообразования, морфологии колоний, наличия кислотоустойчивости по микроскопии мазка, окрашенного по методу Циля – Нильсена), биохимических тестов (ниацинового, нитратредуктазного, каталазного, роста на среде с натрием салициловокислым) и иммунохроматографического анализа для определения антигена МБТ (MPT64).

Лекарственную чувствительность (ЛЧ) МБТ к рифампицину определяли в жидкой среде *Middlebrook 7H9* с использова-

нием системы Bactec MGIT 960 в критической концентрации 1,0 мкг/мл [13].

Молекулярно-генетические исследования с помощью Xpert MTB/Rif Ultra

Согласно инструкции производителя, 0,5 мл порции осадка разводили буфером, входящим в набор реагентов Xpert MTB/Rif Ultra в соотношении 1:3. Встряхивали пробу 10-20 раз, инкубировали 10 мин, затем опять встряхивали и инкубировали еще 5 мин. Готовую пробу переносили в картридж. Картридж помещали в прибор GeneXpert, обеспечивающий проведение всех стадий молекулярного исследования – от выделения препарата ДНК до получения результата о количественном содержании ДНК МБТ в образце и о наличии/отсутствии мутаций, ответственных за устойчивость к рифампицину.

Культуры МБТ, выделенные из проб диагностического материала, тестировались на ЛЧ с помощью «ТБ-ТЕСТ» (ООО «БИО-ЧИП», Россия).

Статистическая обработка результатов

Характеристику методов и доли совпадений результатов оценивали, вычисляя коэффициент согласованности каппа Коэна (Cohen's kappa) и 95%-ный доверительный интервал (ДИ). Межгрупповые различия качественных признаков оценивали с помощью критерия χ^2 , внутри одной группы – с помощью критерия Мак-Нимара. Различия считали значимыми при $p < 0,05$.

Результаты исследования и обсуждение

Микроскопическое, бактериологическое и молекулярно-генетическое исследование диагностического материала.

За анализируемый период исследовано 427 образцов диагностического материала от 378 пациентов: у 335 (88,6%) – по одному образцу (335 проб), у 39 (10,3%) – по два образца (78 проб), у 3 (0,8%) – по три (9 образцов) и у одного (0,3%) провели исследование пяти проб различного диагностического материала. Результаты исследований всеми методами представлены в таблице 1.

Таблица 1. Результаты микробиологических исследований диагностического материала

Table 1. Results of microbiological studies of diagnostic material

Метод Metod	Результаты • Results					Всего Total
	Положительный Positive	Отрицательный Negative	Выявлены НТМБ NTMB detected	Микробная контаминация Microbial contamination	Не делали Ne done	
Молекулярно-генетический Xpert MTB/Rif Ultra Molecular genetic analysis	87	340	–	–	–	427
Люминесцентная микроскопия Luminescent microscopy	4	423	–	–	–	427
Посев на жидкие среды (Bactec MGIT 960) Seeding on liquid media	40	358	9*	13	7	407
Посев на плотную среду (Левенштейна – Йенсена) Seeding on a dense medium (Levenshtein – Jensen)	17	396	3**	8	3	416

НТМБ – нетуберкулезные микобактерии.

NTMB – non-tuberculosis mycobacteria.

* *M. kansasii* (3 образца • 3 samples), *M. avium complex* (5 образцов • 5 samples), *M. abscessus* (1 образец • 1 sample).

** *M. kansasii* (1 образец • 1 sample), *M. avium complex* (2 образца • 2 samples).

Таблица 2. Результаты выявления *M. tuberculosis* из диагностического материала микроскопическим, бактериологическими методами и с помощью Xpert MTB/Rif Ultra

Table 2. The results of *M. tuberculosis* detection from diagnostic material by microscopic, bacteriological methods and using Xpert MTB/Rif Ultra

Результаты микроскопического исследования Microscopic examination results	ДНК МБТ+ (Xpert MTB/Rif Ultra) DNA of MBT+ (Xpert MTB/Rif Ultra)		Рост МБТ (Bactec MGIT 960/среда Л – Й) MBT Growth (Bactec MGIT 960/medium L – J)	
	абс. • abs.	% (95% ДИ) • (95% CI)	абс. • abs..	% (95% ДИ) • (95% CI)
Положительный • Positive (n = 4)	4	100,0 (51,0–100,0)	3	75,0 (30,1–95,4)
Отрицательный • Negative (n = 422)	83	19,7 (16,2–23,7)	42	9,9 (7,5–13,2)
Всего • Total (n = 426)	87	20,4 (16,9–24,5)	45	10,6 (8,0–13,8)

Результаты посева в жидкой среде *Middlebrook 7H9* с использованием системы Bactec MGIT 960 получены для 407 из 427 (95,3%) образцов; на плотной яичной среде Л – Й – для 416 (97,4%) образцов. Для 397 из 427 (93,0%) проб получены результаты тестирования всеми тремя методами (в Bactec MGIT 960, на плотной среде Л – Й и с помощью Xpert MTB/Rif Ultra).

Для 20 (4,7%) образцов были недоступны результаты бактериологического исследования на жидких средах (Bactec MGIT 960): 13 подверглись микробной контаминации, для семи посев не проводили. Для 19 из них результаты получены на плотной среде Л – Й. Напротив, для 10 из 11 образцов, 8 из которых подверглись микробной контаминации на среде Л – Й, и для трех посев не проводили, результаты получены в системе Bactec MGIT 960. Посев одного образца на среде Л – Й не проводили, а в жидкой среде *Middlebrook 7H9* он был контаминирован. Таким образом, результат бактериологического исследования получен для 29 (6,8%) образцов либо в системе Bactec MGIT 960, либо на среде Л – Й. Из 29 образцов в 6 (20,7%) пробах был получен рост МБТ и выявлена ДНК. В 23 из 29 (79,3%) образцов рост МБТ не обнаружен; из них только в 9 пробах (39,1%) выявлена ДНК МБТ.

В итоге результаты исследования методами микроскопии, посева (в системе Bactec MGIT 960 и/или на плотной среде Л – Й)

и с использованием Xpert MTB/Rif Ultra получены для 426 проб диагностического материала. Сопоставление результатов выявления возбудителя ТБ, полученных разными методами, представлено в таблице 2.

Из данных таблицы следует, что среди 426 проб диагностического материала, полученного от исследуемых категорий пациентов, кислотоустойчивые микобактерии (КУМ) с помощью люминесцентной микроскопии выявлены только в 4 (0,9%) пробах. С помощью посева в жидкой среде *Middlebrook 7H9* в Bactec MGIT 960 и/или на плотной среде Л – Й микобактерии туберкулеза выделены в 45 из 426 проб (10,6%), включая 3 из 4 (75,0%) с положительным и 42 из 422 (9,9%) – с отрицательным результатом микроскопии. ДНК МБТ была обнаружена во всех пробах с положительной микроскопией (100,0%) и в 83 из 422 (19,7%) с отрицательной, что на 9,8% выше по сравнению с результатами посева и на 18,8% – по сравнению с результатами люминесцентной микроскопии.

Показано, что с помощью Xpert MTB/Rif Ultra ДНК МБТ удается обнаружить в среднем в 1,9 раза чаще по сравнению с выделением возбудителя на питательных средах независимо от вида диагностического материала (респираторного и внелегочного), см. таблицу 3. В различных пробах диагностического материала, полученного от исследуемой категории пациентов,

Таблица 3. Результаты выявления *M. tuberculosis* из различного диагностического материала

Table 3. Results of *M. tuberculosis* detection from various diagnostic materials

Диагностический материал Diagnostic material	Число проб Number of samples	Положительный результат выявления <i>M. tuberculosis</i> Positive result of <i>M. tuberculosis</i> detection			p
		Люминесцентная микроскопия Luminescent microscopy	Бактериологическое исследование (Bactec MGIT 960 / Л-Й) Bacteriological examination (Bactec MGIT 960 / L – J)	Xpert MTB/Rif Ultra	
Мокрота • Sputum	231	3	31	58	<0,001
Образцы после диагностической бронхоскопии Samples after diagnostic bronchoscopy	137	0	8	16	<0,001
Биоптаты • Biopsies	7	0	2	5	<0,001
Плевральный экссудат Pleural exudate	27	0	2	2	0,350
Спинномозговая жидкость Cerebrospinal fluid	6	0	0	1	0,350
Мазок из зева • Throat swab	14	0	1	2	0,341
Отделяемое из раны Discharge from a wound	5	1	1	3	0,302
Всего • Total	426	4 (0,9%)	45 (10,6%)	87 (20,4%)	<0,001

Таблица 4. Результаты лабораторных исследований в зависимости от установленного диагноза

Table 4. Laboratory test results depending on the established diagnosis

Диагноз Diagnosis (n = 378)	Микроскопическое исследование Microscopic examination		Бактериологическое исследование (Bactec MGIT 960/Л – Й) Bacteriological examination (Bactec MGIT 960/L – J)		Xpert MTB/Rif Ultra	
	КУМ (абс.) ARM (abs.)	% (95% ДИ) (95% CI)	Рост КУМ (абс.) Growth of ARM (abs.)	% (95% ДИ) (95% CI)	ДНК МБТ (абс.) DNA MBT (abs.)	% (95% ДИ) (95% CI)
Туберкулез • Tuberculosis (n = 194)	4	2,1 (0,8–5,2)	43	22,2 (16,9–28,5)	76	39,2 (32,6–46,2)
Нетуберкулезные заболевания Non-tuberculosis diseases (n = 184)	0	0 (0–2,1)	7*	3,8 (1,8–7,6)	0	0 (0–2,1)

* HTMB – 2 *M.kansasii*, 4 *M.avium* complex, 1 *M. abscessus*, выделены в жидкой среде Middlebrook 7H9 в Bactec MGIT 960

* HTMB – 2 *M.kansasii*, 4 *M.avium* complex, 1 *M. abscessus*, isolated in liquid medium Middlebrook 7H9 in Bactec MGIT 960

возбудитель достоверно чаще выявляется (20,4%, 95%ДИ 16,9–24,5%, $p < 0,001$) с помощью Xpert MTB/Rif Ultra по сравнению с культуральным методом и люминесцентной микроскопией.

Следует отметить, что жидкая среда Middlebrook 7H9, используемая в автоматизированной системе Bactec MGIT 960, не обладает селективными свойствами. Присутствие неспецифической флоры в диагностическом материале (мокрота, гной из абсцесса) при посеве может приводить к микробной контаминации, частота которой, по данным ряда авторов, составляет от 9,0 до 16,7% [10, 16]. В нашем исследовании 13 проб (12 образцов мокроты и один трахеобронхиальный аспират) подверглись контаминации в жидкой среде Middlebrook 7H9; из них только в трех пробах мокроты был получен рост МБТ на плотной среде Л – Й, тогда как с помощью Xpert MTB/Rif Ultra ДНК МБТ выявлена в 6 пробах мокроты и в образце аспирата.

Полученные результаты показали преимущество тест-системы Xpert MTB/Rif Ultra в сравнении с микроскопией и культуральным исследованием при выявлении МБТ в респираторном и внелегочном диагностическом материале, в том числе с микробной контаминацией, у обследуемых категорий пациентов.

Сопоставление результатов проведенных лабораторных исследований с установленным диагнозом

Согласно данным, полученным из единой медицинской информационно-аналитической системы (ЕМИАС), диагноз туберкулеза был установлен у 194 (51,3%) из 378 обследованных микробиологическими методами пациентов (таблица 4).

По данным люминесцентной микроскопии, КУМ были обнаружены только у 4 (2,1%; 95% ДИ 0,8–5,2%) пациентов с установленным диагнозом ТБ. Значимых различий полученных результатов люминесцентной микроскопии среди пациентов с ТБ и пациентов с нетуберкулезными заболеваниями нет ($p > 0,05$). Это объясняется низкой чувствительностью метода при исследовании различного диагностического материала у обследуемых категорий пациентов. Специфичность теста составила 100% (ложноположительные результаты у больных с нетуберкулезными заболеваниями отсутствовали).

При бактериологическом исследовании рост МБТ в образцах был получен у 43 (22,2%) больных с установленным ТБ. Кроме того, в жидкой среде Middlebrook 7H9 у 7 из 184 пациентов с нетуберкулезными заболеваниями был получен рост HTMB.

Таблица 5. Результаты выявления *M. tuberculosis* и определения чувствительности к рифампицину бактериологическим методом и Xpert MTB/Rif Ultra у больных туберкулезом

Table 5. Results of *M. tuberculosis* detection and determination of sensitivity to rifampicin by bacteriological method and Xpert MTB/Rif Ultra in tuberculosis patients

Результаты роста МБТ и ЛЧ к Rif Bactec MGIT 960/Л–Й The results of MBT's growth and DS to Rif Bactec MGIT 960/L–J	Результаты выявления ДНК МБТ и мутаций в <i>rpoB</i> Xpert MTB/Rif Ultra Results of detection of MBT DNA and mutations in <i>rpoB</i> Xpert MTB/Rif Ultra				Всего Total
	ДНК (+) Нет мутаций DNA (+) There are no mutations	ДНК (+) Мутации DNA (+) Mutations	Следы ДНК (Traces of DNA)	ДНК (-) DNA (-)	
Рост МБТ чувствительность MBT growth sensitivity	25	1	0	4	30 (15,5%)
Рост МБТ устойчивость MBT growth sustainability	0	13	0	0	13 (6,7%)
Рост МБТ не обнаружен MBT growth has not been detected	13	13	11	114	151 (77,8%)
Всего • Total	38 (19,6%)	27 (13,9%)	11 (5,7%)	118 (60,8%)	194 (100%)

ДНК МБТ была выявлена только у пациентов с установленным диагнозом ТБ в 76 образцах (39,2%; 95% ДИ 32,6%–46,2%), что соответствует чувствительности теста, максимальной по сравнению с двумя другими методами. Его специфичность составила 100%, прогностическая ценность положительного результата – 100%, отрицательного результата – 60,9%.

Результаты выявления соответственно МБТ и ДНК МБТ с оценкой чувствительности к рифампицину бактериологическим методом и с помощью Xpert MTB/Rif Ultra представлены в таблице 5.

Как следует из таблицы, ДНК МБТ, обнаруженная в диагностическом материале 76 (39,2%) пациентов, у 38 (19,6%) не содержала мутаций в гене *rpoB*, у 27 (13,9%) – с мутациями и у 11 (5,7%) присутствовало следовое количество без возможности определить наличие/отсутствие мутаций. У 118 (60,8%) больных ТБ в диагностическом материале ДНК МБТ не выявлена, однако у 4 (3,4%) в двух образцах трахеобронхиального аспирата, одном бронхиальном смыве и одном биоптате плевры получен рост МБТ в Bactec MGIT 960. Возможно, расхождение результатов было связано с малым количеством микобактерий в этом виде биоматериала, основная часть которых попала на этапы микроскопии и посева на питательные среды.

Культуральное подтверждение присутствия МБТ в диагностическом материале установлено у 43 (22,2%) больных, при этом у 30 (15,5%) возбудитель обладал чувствительностью и у 13 (6,7%) устойчивостью к рифампицину. У 151 (77,8%) больного ТБ рост МБТ из диагностического материала не получен, из которых у 37 (24,5%) выявлена ДНК МБТ: 13 (8,6%) без мутаций, 13 (8,6%) с мутациями в гене *rpoB* и 11 (7,3%) следовое количество.

Совпадение результатов выявления возбудителя ТБ молекулярно-генетическим тестом Xpert MTB/Rif Ultra и бактериологическим методом составило 78,9% (95% ДИ: 72,6–84,0), коэффициент каппа – 0,52, что соответствовало умеренной согласованности между методами.

Результаты определения ЛЧ МБТ к рифампицину показали 100%-ное совпадение среди 13 выделенных изолятов с установленной устойчивостью к препарату в Bactec MGIT 960 при использовании критической концентрации 1,0 мкг/мл с данными Xpert MTB/Rif Ultra. Наличие мутаций, связанных с устойчивостью к рифампицину, у этих 13 изолятов дополнительно подтверждено с помощью «ТБ-ТЕСТ»: у 12 (92,3%) штаммов определена мутация S531L, у одного – мутация H526Y.

Расхождение между результатами тестирования ЛЧ к рифампицину с помощью Xpert MTB/Rif Ultra и бактериологического метода выявлено только в одном случае: у чувствительного изолята МБТ по данным Xpert MTB/Rif Ultra обнаружена резистентность к препарату (присутствие мутации в гене *rpoB*). Следует отметить, что Xpert MTB/Rif Ultra, в отличие от своего предшественника (тест-системы Xpert MTB/Rif), позволяет различать молчание (не приводящие к устойчивости) мутации от мутаций, связанных с резистентностью [7]. С помощью «ТБ-ТЕСТ» в этом изоляте обнаружена мутация H526L, штаммы с которой при критической концентрации 1,0 мкг/мл Bactec MGIT 960 проявляют то устойчивость, то чувствительность к препарату [12]. Снижение критической концентрации до 0,5 мкг/мл, рекомендованное ВОЗ в 2021 году в «Техническом отчете о критических концентрациях для тестирования чувствительности к лекарственным препаратам изониазиду и рифамицинам (рифампицин, рифабутин и рифапентин)», позволило бы более точно определять чувствительность к препарату в системе Bactec MGIT 960 [17].

Результаты определения чувствительности МБТ к рифампицину разными методами совпали в 97,4% случаев (95% ДИ 86,8–99,5%), коэффициент каппа Коэна составил 0,94, показав высокую согласованность между методами.

Закключение

Результаты проведенного исследования продемонстрировали высокую эффективность Xpert MTB/Rif Ultra при верификации ТБ у обследуемой категории пациентов. С помощью тест-системы ДНК МБТ была обнаружена у 19,7% больных ТБ с отрицательной люминесцентной микроскопией и выявлялась в среднем в 1,9 раза чаще по сравнению с бактериологическим выделением культуры МБТ на питательных средах независимо от вида исследуемого диагностического материала. Определение ЛЧ к рифампицину показало высокую согласованность результатов Xpert MTB/Rif Ultra и Bactec MGIT 960 (коэффициент каппа 0,94); при использовании критической концентрации 1,0 мкг/мл совпадение результатов составило 97,4% (95% ДИ 86,8–99,5). Для более точного определения ЛЧ МБТ к рифампицину в системе Bactec MGIT 960 и минимизации расхождений результатов с молекулярно-генетическими тест-системами необходимо использовать рекомендованную ВОЗ критическую концентрацию 0,5 мкг/мл.

Литература

1. Бородулина Е.А., Пискун В.В., Ураксина М.В., Шубина А.Т. Молекулярно-генетические тесты GENEXPERT MTB/RIF и XPERT MTB/RIF (ULTRA) в диагностике туберкулеза: обзор литературы // Клиническая лабораторная диагностика. – 2022. – № 2. 67(9). – С. 544–549.
2. Приказ Минздрава России от 21.03.2003 № 109 (ред. от 05.06.2017) «О совершенствовании противотуберкулезных мероприятий в Российской Федерации». – Электронный ресурс: https://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_100829/
3. Чункаева Д.Д., Чингисова Л.Т., Коптлеуова А.Б. и др. Эффективность XPERT MTB/RIF ULTRA для диагностики туберкулеза: обзор литературы) // Фтизиопульмонология. – 2022. – № 1(39) – С. 163–168.

4. Эпидемиологические показатели по туберкулезу в г. Москве по итогам 2023 года. – Электронный ресурс <https://mnpсbt.ru/epidSituation/epid-pokazateli-po-tb-itog-2023/>
5. Andama A., Jaganath D. et al. The transition to Xpert MTB/RIF ultra: diagnostic accuracy for pulmonary tuberculosis in Kampala, Uganda // *BMC Infect. Dis.* – 2021. – Vol. 21, No 49. – P. 1-7. <https://doi.org/10.1186/s12879-020-05727-8>.
6. Boehme C.C., Nabeta P., Hillemann D. et al. Rapid molecular detection of tuberculosis and rifampin resistance // *N. Engl. J. Med.* – 2010. – Vol. 363. – P. 1005-1015.
7. Chakravorty S., Simmons A.M., Rownecki M. et al. The new Xpert MTB/RIF Ultra: improving detection of *Mycobacterium tuberculosis* and resistance to rifampin in an assay suitable for Point-of-Care testing // *mBio.* – 2017. – Vol. 8, No 4. – P. e00812. – e00817. [doi:10.1128/mBio.00812-17](https://doi.org/10.1128/mBio.00812-17).
8. Chilukutu L., Mwanza W., Kerkhoff A.D. et al. Prevalence and interpretation of Xpert® Ultra trace results among presumptive TB patients // *Public Health Action.* – 2022 – Vol. 12, No 1 – P. 28-33.
9. Denkinger C.M., Schumacher S.G., Boehme C.C. et al. Xpert MTB/RIF assay for the diagnosis of extrapulmonary tuberculosis: a systematic review and meta-analysis // *Eur. Respir. J.* – 2014. – Vol. 44. – P. 435-446. <https://doi.org/10.1183/09031936.00007814>
10. Huang T.-S., Chen C.S., Lee S.S. et al. Comparison of the BACTEC MGIT 960 and BACTEC 460TB Systems for Detection of mycobacteria in Clinical Specimens // *Ann. Clin. Lab. Sci.* – 2001. – Vol. 31, No 3. – P. 279-283.
11. Marlowe E., Novak-Weekley S.M., Cumpio J. et al. Evaluation of the Cepheid Xpert MTB/RIF assay for direct detection of *Mycobacterium tuberculosis* complex in respiratory specimens // *J. Clin. Microbiol.* – 2011. – Vol. 49. – P. 1621-1623.
12. Rigouts L., Gumusboga M., Bram de Rijk W. et al. Rifampin resistance missed in automated liquid culture system for *Mycobacterium tuberculosis* isolates with specific *rpoB* mutations // *J. Clinical Microbiol.* – 2013. – Vol. 51, No 8. – P. 2641-2645.
13. Siddiqi S. MGIT Procedure Manual for Bactec™ MGIT™ 960 TB System (also applicable for Manual MGIT) *Mycobacteria Growth Indicator Tube (MGIT) Culture and Drug Susceptibility Demonstration Projects.* - 2007.
14. Steingart K.R., Schiller I., Horne D.J. et al. Xpert® MTB/RIF assay for pulmonary tuberculosis and rifampicin resistance in adults // *Cochrane Database Syst. Rev.* – 2014. – No 1. – CD009593. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD009593.pub3>.
15. Theron G., Peter J., Calligaro G. et al. Determinants of PCR performance (Xpert MTB/RIF), including bacterial load and inhibition, for TB diagnosis using specimens from different body compartments // *Sci. Rep.* – 2014. – No 4. – P. 1-10. [doi: 10.1038/srep05658](https://doi.org/10.1038/srep05658).
16. Williams-Bouyer N., Yorke R., Lee H.I., Woods G.L. Comparison of the BACTEC MGIT 960 and ESP culture system II for growth and detection of mycobacteria // *J. Clin. Microbiol.* – 2000. – Vol. 38, No 11. – P. 4167-4170.
17. WHO meeting report of a technical expert consultation: non-inferiority analysis of Xpert MTF/RIF Ultra compared to Xpert MTB/RIF / WHO/HTM/TB/2017.04. Licence: CC BY-NC-SA 3. – Geneva: World Health Organization, 2017.
18. World Health Organization. Technical Report on critical concentrations for drug susceptibility testing of isoniazid and the rifamycins (rifampicin, rifabutin and rifapentine) – Geneva: WHO, 2021.
19. World Health Organization. Global tuberculosis report. – Geneva: WHO, 2023. – 57 p. Электронный ресурс: <https://www.who.int/teams/global-tuberculosis-programme/tb-reports/global-tuberculosis-report-2023>.
20. Zeka A.N., Tasbakan S., Cavusoglu C. Evaluation of the GeneXpert MTB/RIF assay for rapid diagnosis of tuberculosis and detection of rifampin resistance in pulmonary and extrapulmonary specimens // *J. Clin. Microbiol.* – 2014. – Vol. 49. – P. 4138-414.

Об авторах

Носова Елена Юрьевна – ведущий научный сотрудник отдела проблем лабораторной диагностики туберкулеза и патоморфологии ГБУЗ города Москвы «Московский городской научно-практический центр борьбы с туберкулезом Департамента здравоохранения города Москвы», доктор медицинских наук

Адрес: 107014, г. Москва, ул. Стромынка, д. 10, стр. 1

Тел. +7 (495) 603-30-33

e-mail: rna68@rambler.ru

Свириденко Мария Александровна – ведущий научный сотрудник отдела проблем лабораторной диагностики туберкулеза и патоморфологии ГБУЗ города Москвы «Московский городской научно-практический центр борьбы с туберкулезом Департамента здравоохранения города Москвы», кандидат медицинских наук

Адрес: 107014, г. Москва, ул. Стромынка, д. 10, стр. 1

Тел. +7 (495) 603-30-33

e-mail: dna77@mail.ru

Хахалина Анастасия Александровна – ведущий научный сотрудник отдела проблем лабораторной диагностики туберкулеза и патоморфологии ГБУЗ города Москвы «Московский городской научно-практический центр борьбы с туберкулезом Департамента здравоохранения города Москвы», кандидат биологических наук

Адрес: 107014, г. Москва, ул. Стромынка, д. 10, стр. 1

Тел. +7 (495) 603-30-33

e-mail: nastec@bk.ru

Галкина Ксения Юрьевна – ведущий научный сотрудник отдела проблем лабораторной диагностики туберкулеза и патоморфологии ГБУЗ города Москвы «Московский городской научно-практический центр борьбы с туберкулезом Департамента здравоохранения города Москвы», кандидат биологических наук

Адрес: 107014, г. Москва, ул. Стромынка, д. 10, стр. 1

Тел. +7 (495) 603-30-33

email: ksyu.galkina.79@list.ru

Михайлова Юлия Дмитриевна – ведущий научный сотрудник отдела проблем лабораторной диагностики туберкулеза и патоморфологии ГБУЗ города Москвы «Московский городской научно-практический центр борьбы с туберкулезом Департамента здравоохранения города Москвы», кандидат биологических наук

Адрес: 107014, г. Москва, ул. Стромынка, д. 10, стр. 1

Тел. +7 (495) 603-30-33

e-mail: juliaisaeva81@rambler.ru

Сафонова Светлана Григорьевна – заведующая отделом проблем лабораторной диагностики туберкулеза и патоморфологии ГБУЗ города Москвы «Московский городской научно-практический центр борьбы с туберкулезом Департамента здравоохранения города Москвы», доктор биологических наук

Адрес: 107014, г. Москва, ул. Стромынка, д. 10, стр. 1

Тел. +7 (495) 603-30-33

e-mail: safonova.s.g@inbox.ru