

*Дуденко Е.В., Сыдыкова С.*

**АЛГАЧКЫ ТАБЫЛГАН КУРГАК УЧУК ООРУСУНУН КУРГАК УЧУК  
БАКТЕРИЯСЫНЫН ЖИГЕРДҮҮЛҮГҮ ЖАНА ПОЛИМЕРДИК ТУТАШКАН  
РЕАКЦИЯ АНЫКТАМАСЫНЫН ЖЫЙЫНТЫГЫ**

*Дуденко Е.В., Сыдыкова С.*

**РЕЗУЛЬТАТ ПОЛИМЕРАЗНОЙ ЦЕПНОЙ РЕАКЦИИ И ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ  
МИКОБАКТЕРИЙ ТУБЕРКУЛЕЗА У ВПЕРВЫЕ ВЫЯВЛЕННЫХ БОЛЬНЫХ  
ТУБЕРКУЛЕЗОМ ЛЕГКИХ**

*E.V. Dudenko, S. Sydykova*

**THE RESULT OF POLYMERASE CHAIN REACTION AND THE VIABILITY OF  
MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS IN NEWLY DIAGNOSED PATIENTS WITH  
PULMONARY TUBERCULOSIS**

УДК: 616.24-002.5:576.852.21:575.174.2

Кургак учук бактериясынын (КУБ) жигердүүлүгү жана жигердүү эместиги полимердик туташкан реакциясы (ПТР) аныктамасы колдонулду. Ошондой эле бактериологиялык аныктоо да колдонулду. 72 алгачкы табылган өпкөнүн кургак учук оорусун (ӨКУ) химия-терапия дарылоо учурунда текшерилди. Кургак учук бактериясынын өнүүсү пайда болбосо да, кургак учук бактериясынын жигердүүлүгүн ПТР-аныктамасы оң жыйынтык берди. Ошондуктан дарылаганга чейин, кургак учук бактериясынын жигердүүлүгү, какырыкта 16 (22,22%) 72 ӨКУ оорусунун ичинен аныкталды, ал эми 2 айдан кийинки химиотерапия дарылоо учурунда 37 (51,39%) ӨКУ оорусунун ичинен аныкталды.

**Негизги сөздөр:** өпкө кургак учугу, кургак учука каршы химиотерапия, кургак учук бактериясы, полимердик туташкан реакциясы, электрофорез, бактериология аныктамасы, жигердүүлүк.

Полимеразная цепная реакция (ПЦР) использована для выявления жизнеспособных и нежизнеспособных микобактерий туберкулеза (МБТ). При оценке жизнеспособности МБТ, выявленных ПЦР, применялся бактериологический метод. Исследования проводились в лабораторном контроле химиотерапии 72 впервые выявленных больных туберкулезом легких (ТБЛ). Выявление нежизнеспособных МБТ отмечалось при положительном результате ПЦР и отсутствии роста МБТ. Таким образом, до лечения нежизнеспособные МБТ выявлены в мокроте 16 (22,22%) из 72 больных ТБЛ, через 2 месяца химиотерапии – у 37 (51,39%) больных ТБЛ из 72 обследованных.

**Ключевые слова:** туберкулез легких, противотуберкулезная химиотерапия, микобактерии туберкулеза, полимеразная цепная реакция, электрофорез, бактериологический метод, жизнеспособность.

*Polymerase chain reaction (PCR) used to detect viable and nonviable mycobacterium tuberculosis (MBT). Bacteriological method has been applied in assessing the viability MBT, detected PCR. The investigations were carried out in the laboratory control of chemotherapy of 72 newly diagnosed patients with pulmonary tuberculosis (TBL). The detection of nonviable MBT was noted with a positive PCR result and no growth of MBT. Thus, nonviable MBT was detected in sputum in 16 (22,22%) out of 72 patients with TBL*

*before treatment, after 2 months of chemotherapy in 37 (51,39%) TBL patients out of 72 examined.*

**Key words:** pulmonary tuberculosis, antituberculosis chemotherapy, mycobacterium tuberculosis, polymerase chain reaction, electrophoresis, bacteriological method, viability.

**Актуальность темы**

В настоящее время «золотым стандартом» лабораторной диагностики туберкулеза легких (ТБЛ) по-прежнему является бактериологический метод. Современный метод полимеразной цепной реакции (ПЦР) активно внедряется в лабораторную практику [1].

Результаты изучения ПЦР как дополнительного лабораторного метода диагностики ТБЛ и контроля противотуберкулезной химиотерапии противоречивы. По одним данным [2, 3], эффективность ПЦР превышает эффективность микроскопии и посева, согласно другим источникам результаты ПЦР-анализа ниже по сравнению с бактериологическим методом [4]. Кроме того, метод ПЦР не позволяет судить о жизнеспособности микобактерий туберкулеза (МБТ), так как фиксирует живые и погибшие микроорганизмы [5].

Таким образом, лабораторный контроль эффективности химиотерапии с помощью ПЦР должен осуществляться в комплексе с посевами мокроты на выявление жизнеспособности МБТ [1, 3]. Для оценки жизнеспособности МБТ, выявленных ПЦР-анализом, применяется метод посева.

**Цель исследования:** выявление содержания нежизнеспособных МБТ методом сопоставления результата ПЦР и посева при лабораторном контроле эффективности химиотерапии впервые выявленных больных ТБЛ. Если отмечался положительный результат ПЦР и отсутствие роста МБТ, это означало выявление нежизнеспособных МБТ при комплексном использовании ПЦР-анализа и посева.

**Материал и метод**

Объектом исследования являлись впервые выявленные больные ТБЛ. Исследования проводились при поступлении на лечение в НИЦФ МЗ КР и

через 2 месяца противотуберкулезной химиотерапии по стратегии DOTS. Материал исследования – мокрота данных больных ТБЛ. Дизайн работы – проспективное исследование. Методы: ПЦР-анализ, микроскопия мазков мокроты с окраской по Циль-Нильсену, посев на плотную питательную среду Левенштейна-Йенсена. Применялись наборы для выделения ДНК МБТ и набор «Политуб» для амплификации выделенных константных участков ДНК МБТ. Детекция результатов проводилась методом электрофореза в 1% агарозном геле в присутствии бромистого этидия. Для обработки результатов использованы параметрические методы математической статистики и пакет статистических программ Excel 2010. Определена относительная величина  $P$ , средняя ошибка относительной величины  $m_p$ , доверительный интервал (ДИ)  $P \pm tm_p$ , выполнено определение статистической значимости разности относительных величин по критерию  $t=2$ .

### Результаты и обсуждение

Результаты выявления МБТ в процессе химиотерапии ТБЛ представлены в таблице 1.

**Таблица 1 - Выявление МБТ в процессе химиотерапии больных ТБЛ**

№ пп	Тест на МБТ	Положительный результат анализа			
		До лечения n=72		Через 2 месяца химиотерапии n=72	
		n	ДИ, % $P \pm tm_p$	n	ДИ, % $P \pm tm_p$
1.	ПЦР	62	86,11±8,16	50	69,44±10,86
2.	Бактериоскопия	41	56,94±11,68*	21	29,17±10,72**
3.	Посев	51	70,83±10,72	18	25,00±10,20**

**Примечание** - 1. \*  $P < 0,05$  к результату ПЦР до лечения  
2. \*\*  $P < 0,05$  к результату ПЦР через 2 месяца лечения

Исследованы пробы мокроты 72-х впервые выявленных больных ТБЛ: 41-го мужчины (56,94%) и 31-й женщины (43,06%). Возраст обследованных больных составлял от 1936 до 1986 года рождения. Из их числа: 60 (83,33%) – с ИТЛ, с ДТЛ – 7 (9,72%), с ФКТЛ – 3 (4,17%), с ОТЛ – 1 (1,39%) и с милиарным туберкулезом – 1 (1,39%) пациент.

При поступлении на лечение положительный результат ПЦР отмечен у 62 (86,11%), посева – у 51 (70,83%) из числа обследованных больных. Через 2 месяца интенсивной химиотерапии положительный результат ПЦР выявлен у 50 (69,44%), посева – у 18 (25,00%) больных ТБЛ из 72 обследованных в процессе химиотерапии.

Кроме того, исследована частота совпадения положительного результата ПЦР и посева. Если отмечался положительный ПЦР при отсутствии роста МБТ, это означало выявление нежизнеспособных МБТ с использованием ПЦР-анализа.

До лечения совпадение положительного резуль-

тата ПЦР и посева имело место у 46 (63,89%) из 72 больных ТБЛ. У 16 (22,22%) больных, при отсутствии роста МБТ, ПЦР был положительным. У 10 (13,89%) из 72 впервые выявленных больных ТБЛ до начала химиотерапии ДНК МБТ в мокроте методом ПЦР не обнаружены. В 5 (6,94%) случаях наблюдалось совпадение отрицательного результата ПЦР и посева, у других 5 (6,94%) больных при отрицательном ПЦР - анализе посев был положительным.

Через 2 месяца химиотерапии совпадение положительного результата ПЦР и посева имело место у 13 (18,06%) человек. У 37 (51,39%) ПЦР-анализ был положительным при отсутствии роста МБТ. В 22 (30,56%) из 72 случаев получен отрицательный результат ПЦР-анализа мокроты. При этом совпадение отрицательного результата ПЦР и отсутствия роста жизнеспособных МБТ наблюдалось у 17 (23,61%) человек. У 5 (6,94%) больных ПЦР был отрицательным, но наблюдался рост жизнеспособных МБТ на плотной питательной среде.

**Заключение.** При сопоставлении частоты совпадения выявления МБТ в процессе химиотерапии с комбинированным использованием ПЦР и посева выявлена практически обратная динамика совпадения результатов этих методов. До лечения – совпадение положительного ПЦР и посева – 63,89%, положительный ПЦР и отрицательный посев – 22,22%. Через 2 месяца химиотерапии – совпадение положительного ПЦР и посева – 18,06%, положительный ПЦР и отрицательный посев – 51,39%.

Таким образом, с использованием сочетания ПЦР и посева до лечения выявлены нежизнеспособные МБТ у 16 человек (22,22%), а через 2 месяца химиотерапии – у 37 больных ТБЛ (51,39%) из 72. Кроме того, через 2 месяца химиотерапии наблюдался значительный рост частоты совпадения отрицательного результата ПЦР-анализа и отсутствия роста МБТ на питательной среде (23,61% против 6,94% до лечения).

### Выводы

1. Выявлено существенное превышение количества положительных результатов ПЦР-анализа над количеством положительных результатов посева на плотную питательную среду Левенштейна-Йенсена ( $p < 0,05$ ) (ДИ: 69,44%±10,86% и ДИ: 25,00%±10,20%) через 2 месяца противотуберкулезной химиотерапии 72-х впервые выявленных больных туберкулезом легких. При поступлении на лечение значимое различие не отмечалось.

2. При анализе частоты совпадения результатов ПЦР и посева выявлена обратная динамика результатов. До лечения отмечено совпадение положительных ПЦР и посева у 46 из 72 больных ТБЛ (63,89% жизнеспособных МБТ). Через 2 месяца химиотерапии – у 13 из 72 больных ТБЛ (18,06% жизнеспособных МБТ).

3. Содержание нежизнеспособных МБТ по результатам комбинированного применения ПЦР и

бактериологического метода составило до лечения 22,22% (16 больных) и через 2 месяца химиотерапии – 51,39% (37 больных).

**Литература:**

1. Серегина В.А. Современные возможности диагностики туберкулеза легких [Электронный ресурс] / В.А.Серегина, А.М. Будрицкий // Вестник Витебского государственного медицинского университета. – 2016. – Т. 15, № 4. – С. 7-17. - режим доступа: <http://cyberleninka.ru/article/n/>.
2. Ларионова Е.Е. Информативность полимеразной цепной реакции для диагностики туберкулеза легких [Текст]: Автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03. 00. 07 / Е.Е. Ларионова. – М., 2005. – 24 с.
3. Singh S. Comparative evaluation of FASTP lague assay with PCR and other conventional in vitro diagnostic methods for the early detection of pulmonary tuberculosis [Online resource] / S. Singh, T.P. Saluja, M. Kaur et all // J. Clinical laboratory analysis. – 2008. – V. 22, № 5. – P. 367-374. – access mode: [www.onlinelibrary.wiley.com](http://www.onlinelibrary.wiley.com). - heading from sceen.
4. Ekrami A. Validity of bioconjugated silica nanoparticles in comparison with direct smear, culture and polymerase chain reaction for detection of mycobacterium tuberculosis in sputum specimens [Online resource] / A. Ekrami, A.R. Samarbaf-Zadeh, A. Khosravi et all // International j. of nanomedicine. – 2011. – № 6. – P. 2729-2735. - access mode: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3218586>.
5. Velayat A.A. Reccurence after treatment success in pulmonary multidrugresistent tuberculosis: predication by continual PCR positivity [Online resource] / A.A. Velayat, P. Farnia, M.R. Masiedi // International j. of clinical and experimental medicine. – 2012. – V. 5, № 3. – P. 271-272. – access mode: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/pmc/3403555>.

**Рецензент: к.биол.н. Гончарова З.К.**