

**АНАЛИЗ ЭФФЕКТИВНОСТИ И ДИАГНОСТИЧЕСКОЙ ЗНАЧИМОСТИ
МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОГО ТЕСТА GENOTYPE MTBDRPLUS/SL (IN
VITRO) ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ
MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS В ОБРАЗЦАХ ЛЁГОЧНОЙ ТКАНИ,
ПОЛУЧЕННЫХ В ХОДЕ ХИРУРГИЧЕСКОГО ВМЕШАТЕЛЬСТВА**

¹ Д.Алламуратова, ¹ Н.Парниева, ¹ Л.Тураев, ¹ С.Комолов

¹ Республиканский специализированный научно-практический медицинский центр
фтизиатрии и пульмонологи им.Ш.Алимова

Аннотация: Множественная лекарственная устойчивость (MDR-TB) остаётся серьёзной проблемой фтизиатрии, требующей внедрения быстрых и точных методов диагностики. В исследовании проведён анализ эффективности молекулярно-генетического теста GenoType MTBDRplus/sl (Hain Lifescience) для выявления мутаций, ассоциированных с устойчивостью к противотуберкулёзным препаратам 1-го и 2-го ряда, в образцах лёгочной ткани, полученных во время хирургического вмешательства. Всего исследовано 34 образца, из которых у 85,3% было идентифицировано *M. tuberculosis*. Тест позволил выявить наиболее частые мутации в генах *proB* (S531L, E510H, H526Y), *katG* (S315T1) и *inhA* (C15T), а также единичные мутации в гене *rrs* (A140G). По сравнению с культуральными методами (положительный результат лишь в 38,2% случаев), LPA-тест продемонстрировал более высокую чувствительность и информативность. Полученные данные подтверждают целесообразность применения GenoType MTBDRplus/Sl в качестве исходного метода диагностики для ускоренной идентификации *M. tuberculosis* и определения лекарственной устойчивости у пациентов, перенёвших хирургическое вмешательство.

Ключевые слова: GenoType MTBDRplus/sl (in vitro), *Mycobacterium tuberculosis*, MDR-TB (множественная лекарственная устойчивость), тест на лекарственную чувствительность (ТЛЧ), MGIT, Левенштейна-Йенсена, Национальная референс-лаборатория, операционный материал, LPA (Line Probe Assay)

Введение: Появление и распространение MDR-TB (множественной лекарственной устойчивости) стало серьёзной и актуальной проблемой, угрожающей здравоохранению на глобальном уровне. В Республике Узбекистан одним из приоритетных направлений молекулярно-генетической диагностики туберкулёза (ТБ) является разработка и внедрение новых подходов для быстрого и точного определения мутаций в геноме *M. tuberculosis*, ведущих к лекарственной устойчивости. Традиционные методы исследования, такие как культуральное исследование клинических образцов и классический тест на лекарственную чувствительность, являются трудоёмкими и требуют значительного времени для выделения и идентификации *M. tuberculosis*, а также последующего проведения ТЛЧ, особенно для образцов операционного материала. Сложность предварительной обработки операционного материала часто приводит к отрицательным результатам культуры. Внедрение методики LPA с использованием теста GenoType MTBDR Plus/Sl позволяет повысить результативность исследования, сократить сроки идентификации *M. tuberculosis* и выявить мутации в гене *proB*, приводящие к рифампицин-устойчивости, а также мутации в генах *katG* и *inhA*, ведущие к

устойчивости к изониазиду и протионамиду (этионамиду) в клинических образцах, полученных во время операционного вмешательства.

Материалы и методы: Исследование проводилось в Национальной референс-лаборатории. Было исследовано 34 клинических образца операционного материала, полученных от пациентов с туберкулёзом в РСНПМЦФиП им. Ш. Алимова, из которых 19 (55,9%) — новые случаи и 15 (44,1%) — повторные случаи. Все клинические образцы были деконтаминированы с использованием метода NaOH-NALC, с последующей инокуляцией части осадка на питательные среды Левенштейна-Йенсена и MGIT. Другая часть осадка была обработана согласно протоколу, описанному в инструкции к тестовым наборам GenoType MTBDR Plus и GenoType MTBDR Sl (Hain Lifescience) для выделения ДНК и дальнейшего тестирования с использованием указанных наборов.

Результаты: С помощью тестовых наборов GenoType MTBDR Plus/Sl (Hain Lifescience) из 34 образцов у 29 (85,3%) было идентифицировано *M. tuberculosis*, у 5 (14,7%) образцов *M. tuberculosis* не был обнаружен.

Наличие при технологии GenoType MTBDR Plus: Среди идентифицированных образцов было детектировано 21 (72,4%) без мутации гена *proB* и 8 (27,6%) с мутацией гена *proB*, ассоциирующей с устойчивостью к рифампицину. Из них отмечены:

Мутация S531L — 6 (отсутствие сигнала WT8 и присутствие сигнала Mut3)

Мутация E510H — 1 (отсутствие сигнала WT2)

Мутация H526Y — 1 (отсутствие сигнала WT7 и присутствие сигнала Mut2A)

Среди идентифицированных образцов было детектировано 18 (62,1%) без мутации *katG* и 11 (37,9%) с мутацией гена *katG*, ассоциирующей с устойчивостью к изониазиду. Из них отмечены:

Мутация S315T1 — 11 (отсутствие сигнала WT и присутствие сигнала Mut1)

Детекция мутации гена *inhA*, ассоциирующей с устойчивостью к изониазиду, протионамиду и этионамиду, была выявлена в 2 (6,9%) образцах из 29. Из них:

Мутация C15T — 2 (отсутствие сигнала WT1 и присутствие сигнала Mut1)

Одновременные мутации в 2 и более генах были обнаружены в 11 из 29 образцов.

В 2 (6,9%) образцах обнаружены мутации одновременно в генах *katG* и *inhA*:

Мутация S315T — 11 (отсутствие сигнала WT и присутствие сигнала Mut1)

Мутация C15T — 2 (отсутствие сигнала WT1 и присутствие сигнала Mut1)

В 8 (27,6%) образцах обнаружены одновременно мутации в генах *katG* и *inhA*. Из них:

6 образцов с мутацией S531L — 6 (отсутствие сигнала WT8 и присутствие сигнала Mut3) и мутацией S315T1 — 6 (отсутствие сигнала WT и присутствие сигнала Mut1)

1 образец с мутацией E510H — (отсутствие сигнала WT2) и мутацией S315T1 — (отсутствие сигнала WT и присутствие сигнала Mut1)

1 образец с мутацией H526Y — (отсутствие сигнала WT7 и присутствие сигнала Mut2A) и мутацией S315T1 — (отсутствие сигнала WT и присутствие сигнала Mut1)

В 1 (3,4%) образце обнаружены одновременно мутации в генах *proB*, *katG* и *inhA*:

Мутация S531L — (отсутствие сигнала WT8 и присутствие сигнала Mut3)

Мутация S315T1 — (отсутствие сигнала WT и присутствие сигнала Mut1)

Мутация C15T — (отсутствие сигнала WT1 и присутствие сигнала Mut1)

В 16 (55,2%) из 29 образцов не обнаружены сигналы от кодонов *katG* и *inhA* дикого типа.

Технологии GenoType MTBDR Sl: Идентифицировано 17 образцов:

THE MULTIDISCIPLINARY JOURNAL OF SCIENCE AND TECHNOLOGY

VOLUME-5, ISSUE-9

У 16 (94,1%) из них не было обнаружено мутаций в генах *gyrA*, *gyrB*, *rrs* и *eis*, что свидетельствует о чувствительности к противотуберкулёзным препаратам второго ряда.

У 1 (5,9%) образца была выявлена мутация в гене *rrs*:

Мутация *A140G* (отсутствие сигнала WT1) — устойчивость к инфекционным препаратам.

Также были обнаружены мутации в генах *katG* (*S315T1*) и *rrs* (*A140G*).

При культуральном исследовании: у 13 (38,2%) из 34 образцов была идентифицирована культура возбудителя на питательных средах Левенштейна – Йенсена и MGIT, что позволило провести тест на лекарственную чувствительность к противотуберкулёзным препаратам. В 21 (61,8%) образце культура была отрицательной, а 1(2,9%) образец оказался контаминированным. Для 12 (35,3%) культура положительных образцов был проведён тест на лекарственную чувствительность пропорциональным методом на жидкой питательной среде MGIT.

Обсуждение и выводы: Тест-наборы GenoType MTBDR Plus/SI (Hain Lifescience) показали более высокую результативность по сравнению с культивированием и ТЛЧ (тестом на лекарственную чувствительность) на питательных средах при исследовании операционного материала резецированных участков организма больного. Тест-наборы GenoType MTBDR Plus/SI (Hain Lifescience) могут использоваться как исходный диагностический метод для идентификации *M. tuberculosis* и детекции мутаций в генах, ассоциирующихся с чувствительностью к противотуберкулёзным препаратам 1-го и 2-го ряда. Ускоренная диагностика и идентификация резистентного туберкулёза являются необходимыми условиями для адекватного подбора антибиотиков для больных, подвергшихся операционному вмешательству.

Тел: +9989 (90) 910 94 00

E-mail: d.allamuratova13@gmail.com

ИСПОЛЬЗОВАННЫЕ ЛИТЕРАТУРЫ:

- Hain Lifescience. GenoType MTBDRplus and GenoType MTBDRsl – Instructions for Use. Nehren, Germany: Hain Lifescience GmbH; 2019.
- World Health Organization (WHO). Molecular line probe assays for rapid screening of patients at risk of multidrug-resistant tuberculosis (MDR-TB). Policy statement. Geneva: WHO; 2008.
- World Health Organization (WHO). Companion handbook to the WHO guidelines for the programmatic management of drug-resistant tuberculosis. Geneva: WHO; 2014.
- Lawn SD, Nicol MP. Xpert® MTB/RIF assay: development, evaluation and implementation of a new rapid molecular diagnostic for tuberculosis and rifampicin resistance. *Future Microbiol.* 2011;6(9):1067–1082.
- Hillemann D, Rüscher-Gerdes S, Richter E. Evaluation of the GenoType MTBDRplus assay for rifampin and isoniazid susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis* strains and clinical specimens. *J Clin Microbiol.* 2007;45(8):2635–2640.
- Министерство здравоохранения Республики Узбекистан. Клинические протоколы диагностики и лечения туберкулёза. Ташкент; 2020.