

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
федеральное государственное бюджетное учреждение
«Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова»

ИНСТИТУТ МЕДИЦИНСКОГО ОБРАЗОВАНИЯ
Кафедра факультетской терапии с
клиникой

**ПРИНЦИПЫ ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ
ДИАГНОСТИКИ ТУБЕРКУЛЕЗА ОРГАНОВ
ДЫХАНИЯ И ДРУГИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ЛЕГКИХ**

УЧЕБНОЕ ПОСОБИЕ

Санкт-Петербург

2024

УДК 614.2-312.6(047)

ББК 51.1(2)2

55.4

**ПРИНЦИПЫ ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКИ
ТУБЕРКУЛЕЗА ОРГАНОВ ДЫХАНИЯ И ДРУГИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ**

ЛЕГКИХ: пособие для врачей и обучающихся по специальности 31.05.01
Лечебное дело по дисциплине по дисциплине «Внутренние болезни»,
«Фтизиатрия» «Пульмонология» и «Педиатрия»/ Старшинова А.А.,
Вишневский Б.И., Грищенко А.С., Маслянский А.Л., Кудлай Д.А., Труфанов
Г.Е. – СПб, 2024. – с.: ил.

Авторы:

Старшинова А.А. - д.м.н., профессор кафедры факультетской терапии с
клиникой ИМО, начальник Управления научными исследованиями ФГБУ
«НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России

Ариэль Б.М. - д.м.н., профессор, научный консультант ФГБУ «СПб
НИИФ» Минздрава России;

Вишневский Б.И. - д.м.н., профессор, главный научный сотрудник
направления «Лабораторная диагностика» ФГБУ «СПб НИИФ» Минздрава
России

Грищенко А.С. – к.м.н., доцент кафедры лучевой диагностики и
медицинской визуализации ФГБУ «Национальный медицинский
исследовательский центр им. В.А. Алмазова» Минздрава России; заведующий
рентгеновским отделением врач-рентгенолог Клинической больницы №122
ФГБУ «Северо-Западный окружной научно-клинический центр имени Л.Г.
Соколова Федерального медико-биологического агентства»

Маслянский А.Л. – д.м.н., заведующий научно-исследовательской
лабораторией ревматологии и иммунопатологии, ФГБУ «НМИЦ им В.А.
Алмазова» Минздрава России", научно-клинический и образовательный Центр
гастроэнтерологии и гепатологии "Санкт-Петербургский государственный
университет

Кудлай Д.А. – д.м.н., член-корр РАН, профессор кафедры
фармакологии Института Фармации ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М.
Сеченова Минздрава России, ведущий научный сотрудник лаборатории
персонализированной медицины и молекулярной иммунологии № 71, ФГБУ
«ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России

Труфанов Г.Е. – д.м.н, профессор, главный научный сотрудник научно-исследовательского отдела лучевой диагностики; заведующий кафедрой лучевой диагностики и медицинской визуализации с клиникой ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова» Минздрава России

Рецензенты:

Марьяндышев А.О. - д.м.н., профессор, член-кор. РАН; заведующий кафедрой фтизиопульмонологии ФГБУ ВО "Северный государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации, главный внештатный специалист фтизиатр СЗФО.

Мордык А.В. – д.м.н., профессор, доцент, заведующая кафедрой фтизиатрии и фтизиохирургии Омской государственной медицинской академии.

В пособии рассматриваются вопросы диагностики и дифференциальной диагностики туберкулеза органов дыхания и других заболеваний легких у детей и взрослых, представлены актуальные подходы к применению актуальных иммунологических, этиологических, лучевых и морфологических методов.

Учебное пособие предназначено для врачей и обучающихся по специальности 31.05.01 Лечебное дело по дисциплине «Внутренние болезни», «Фтизиатрия» «Пульмонология», «Педиатрия» и «Инфекционные болезни».

Рекомендовано в качестве пособия для врачей и утверждено на Учебно-методическом Совете ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России, протокол № от .03.24г.

Обсуждено на заседании кафедры факультетской терапии с клиникой ИМО ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России протокол № 2 от .2024г.

О Г Л А В Л Е Н И Е

ПЕРЕЧЕНЬ СОКРАЩЕНИЙ	5
ПРЕДИСЛОВИЕ	6
ФОРМИРУЕМЫЕ КОМПЕТЕНЦИИ.....	7
ТЕРМИНЫ И ОПРЕДЕЛЕНИЯ.....	8
ВВЕДЕНИЕ	11
Часть 1. ХАРАКТЕРИСТИКА ВОЗБУДИТЕЛЯ.....	11
1.1 Таксономия <i>M. tuberculosis</i>	12
1.2 Культуральные свойства <i>M.tuberculosis</i>	14
1.3. Структура <i>M. tuberculosis</i>	18
1.4 Патогенность и вирулентность микобактерий.....	20
1.5 Генотипирование микобактерий туберкулеза.....	23
Часть 2. ОБЩИЕ ПРИНЦИПЫ ДИАГНОСТИКИ ТУБЕРКУЛЕЗНОЙ	25
ИНФЕКЦИИ.....	31
2.1 Клинико-респираторная симптоматика	37
2.2 Методы иммунодиагностики туберкулезной инфекции.....	43
2.3 Лучевой комплекс обследования в диагностике туберкулеза.....	64
2.4 Методы этиологической диагностики туберкулеза.....	78
2.5 Инструментальные диагностические исследования.....	98
2.6 Морфологические методы диагностики туберкулеза органов дыхания	110
2.7 Функциональные методы исследования.....	126
3 Контроль полученных знаний.....	136

ПЕРЕЧЕНЬ СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АЛТ- аланинаминотрансфераза

АРВ – антиретровирусная

АРВП – антиретровирусные препараты

АРВТ – антиретровирусная терапия

АРТ – антиретровирусная терапия

АСТ – аспартатаминотрансфераза

БЦЖ вакцина – вакцина Кальмета и Герена

ВИЧ- вирус иммунодефицита человека

ВН – вирусная нагрузка

ВОЗ – Всемирная Организация Здравоохранения

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

ИФА – иммуноферментный анализ

КТ – компьютерная томография

КТП – кожная туберкулиновая проба

КУМ – кислотоустойчивые микроорганизмы

ЛЖВ – люди, живущие с ВИЧ

ПТП – противотуберкулезные препараты

ПЦР – полимеразная цепная реакция

СПИД – синдром приобретенного иммунодефицита

ТБ – туберкулез

CD4 – Т-лимфоциты, имеющие CD4-рецепторы

CDC (USA) – Центр контролю и профилактике за заболеваний (США)

СFP10 – рекомбинантный культурально фильтрованный белковый антиген, используемый при ТОГИ-тестах

СYP3A4 – изофермент цитохрома P450

ESAT -6 – рекомбинантный ранее секретируемый белковый антиген, используемый при ТОГИ-тестах

HBeAg – поверхностный антиген гепатита В

HBs Ag – поверхностный антиген гепатита В

Ig M – иммуноглобулин М

IGRA – тест освобождения гамма-интерферона

ПРЕДИСЛОВИЕ

Пособие посвящено вопросам диагностики и дифференциальной диагностики туберкулеза органов дыхания и других заболеваний легких у детей и взрослых. Раскрывает подходы к применению актуальных иммунологических, этиологических, лучевых и морфологических методов. За последние годы в клиническую практику были включены новые методы, разработанные в мире и в Российской Федерации, рекомендованные ВОЗ. Представлены последние нормативные документы, разработанные и утвержденные за последние годы. Пособие предназначено для фтизиатров, пульмонологов, терапевтов, педиатров, инфекционистов, медицинских работников и ординаторов медицинских вузов.

Все права авторов защищены. Ни одна часть данного пособия не может быть занесена в память компьютеров, либо воспроизведена любым способом без предварительного письменного разрешения авторов.

ФОРМИРУЕМЫЕ КОМПЕТЕНЦИИ

Универсальные компетенции (далее - УК):

УК-1. Готовностью к абстрактному мышлению, анализу, синтезу.

Профессиональные компетенции (далее - ПК):

Профилактическая деятельность:

ПК-1. Готовность к осуществлению комплекса мероприятий, направленных на сохранение и укрепление здоровья и включающих в себя формирование здорового образа жизни, предупреждение возникновения и (или) распространения заболеваний, их раннюю диагностику, выявление причин и условий их возникновения и развития, а также направленных на устранение вредного влияния на здоровье человека факторов среды его обитания.

ПК-2. Готовность к проведению профилактических медицинских осмотров, диспансеризации и осуществлению диспансерного наблюдения за здоровыми и хроническими больными.

Диагностическая деятельность:

ПК-5. Готовность к определению у пациентов патологических состояний, симптомов, синдромов заболеваний, нозологических форм в соответствии с Международной статистической классификацией болезней и проблем, связанных со здоровьем.

ТЕРМИНЫ И ОПРЕДЕЛЕНИЯ

Туберкулёз – инфекционное заболевание, вызванное микобактериями туберкулезного комплекса (*M. tuberculosis complex*), к которым относят *M. tuberculosis*, *M. africanum*, *M. microti*, *M. canetti*, *M. pinnipedii*, *M. caprae*, *M. bovis*, *M. bovis BCG*.

Гранулематозные заболевания – гетерогенная группа заболеваний (нозологических форм) различной этиологии, морфологическим субстратом которых является гранулематозное воспаление.

Гранулема - компактное накопление элементов клеточного воспаления с преобладанием активированных макрофагов, неполным фагоцитозом и развитием реакции гиперчувствительности замедленного типа.

Микобактериоз — заболевание легких и других органов, вызываемое атипичными (нетуберкулезными) микобактериями, отличающимися от микобактерий туберкулеза более быстрым ростом на питательных средах, способностью к пигментообразованию, активностью некоторых ферментов, что учитывается при их типировании.

Туберкулезная гранулема - является организованной структурой специфического воспаления, вызванного микобактериями туберкулезного комплекса, характеризующееся наличием в центре гранулемы очага казеозного некроза, а по периферии вала из эпителиоидных клеток и лимфоцитов с примесью макрофагов и плазматических клеток. Между эпителиоидными клетками и лимфоцитами располагаются многоядерные гигантские клетки с овальными ядрами по периферии (клетки Пирогова-Лангханса) и небольшое число кровеносных капилляров в наружных зонах бугорка. При окраске по Цилю — Нильсену в гигантских клетках выявляют микобактерии туберкулёза.

Туберкулёз с сохраненной лекарственной чувствительностью микобактерий - отсутствие лекарственной устойчивости микобактерий ко всем противотуберкулёзным препаратам на основании данных бактериологического исследования.

Лекарственная устойчивость (ЛУ) - устойчивость микобактерий туберкулеза к любому (ым) противотуберкулезному (ым) препарату (ам).

Монорезистентность (МР) - устойчивость только к одному противотуберкулезному препарату.

Устойчивость к рифампицину – лекарственная устойчивость МБТ к рифампицину, определенная любым тестом на лекарственную устойчивость (ТЛЧ).

Полирезистентность (ПР) – устойчивость к двум и более противотуберкулезным препаратам, но не к сочетанию изониазида и рифампицина.

Множественная лекарственная устойчивость (МЛУ) возбудителя – сочетание устойчивости к изониазиду и рифампицину, независимо от наличия устойчивости к другим противотуберкулезным препаратам.

Пре-широкая лекарственная устойчивость (Пре-ШЛУ) - сочетанная устойчивость к изониазиду, рифампицину и к одному из фторхинолонов или к канамицину, или амикацину, или капреомицину, независимо от наличия устойчивости к другим противотуберкулезным препаратам.

Широкая лекарственная устойчивость (ШЛУ) – это устойчивость микобактерии туберкулеза к рифампицину с устойчивостью к изониазиду или без нее, в сочетании с устойчивостью возбудителя к любому фторхинолону и, по крайней мере, к линезолиду или бедаквилину;

Тотальная лекарственная устойчивость (ТЛУ) возбудителя – устойчивость возбудителя к противотуберкулезным препаратам первого и второго ряда.

Латентная туберкулезная инфекция (ЛТИ) – это состояние, определяемое персистенцией в организме микобактерий туберкулеза и характеризующееся положительным ответом на высокоспецифичные иммунологические тесты при отсутствии клинических и рентгенологических проявлений активного туберкулезного процесса. Человек с ЛТИ не является больным и не заразен для окружающих.

ВИЧ-инфекция – инфекция, вызванная вирусом иммунодефицита человека, относится к медленно прогрессирующему антропонозному заболеванию с контактным механизмом передачи, со специфическим поражением иммунной системы (преимущественно Т-хелперов), вследствие чего организм становится высоко восприимчивым к оппортунистическим инфекциям и опухолям, которые в конечном итоге приводят к гибели больного.

Люди, живущие с ВИЧ (ЛЖВ) - в контексте настоящих КР этот термин обозначает лиц с положительным ВИЧ-статусом без проявлений активного туберкулеза.

ВВЕДЕНИЕ

За последние годы всем мировым сообществом были предприняты меры, направленные на борьбу с распространением туберкулезной инфекции. Последствия пандемии COVID-19 привело к нарушению уже отлаженных программ по выявлению и поддержке больных туберкулезом и лиц с латентной инфекцией. В 2021 году ожидается ВОЗ констатировало повышение числа смертельных исходов до 1,5 мил человек и повышение числа новых случаев больных туберкулезом с 5,8 мил до 6,4 мил человек.

Благодаря принятым программам и государственной поддержке, внедрению новых технологий для диагностики и лечения туберкулезной инфекции, мониторингу эпидемических показателей и формированию новых нормативных документов, Российская Федерация добилась стабилизации эпидемической ситуации и планомерному снижению показателей заболеваемости и смертности от туберкулеза в несколько раз.

В 2021 году Российская Федерация была исключена из списка стран с высоким бременем туберкулезной инфекции, но осталась в списке стран с высоким бременем туберкулеза со множественной лекарственной устойчивостью возбудителя, в том числе в сочетании с ВИЧ – инфекцией.

Несмотря на оптимистические прогнозы и принятые меры, сегодня остается крайне актуальным представление данных о современных методах диагностики, изменениях подходов в тактике обследования как детей, так и взрослых с подозрением на туберкулез органов дыхания. Необходимо акцентировать внимание специалистов на возможности существующие сегодня для проведения дифференциальной диагностики туберкулеза с другими заболеваниями органов дыхания.

*С уважением,
д.м.н, профессор кафедры
факультетской терапии с клиникой,
начальник Управления научными исследованиями
ФГБУ «НМИЦ им В.А.Алмазова» Минздрава России
Старшинова А.А.*

Часть 1

ХАРАКТЕРИСТИКА ВОЗБУДИТЕЛЯ

Одна из гипотез, основанная на современных геномах *Mycobacterium tuberculosis complex* (МТВС), предполагает, что самый близкий общий предок микобактерий туберкулеза мигрировал из Африки приблизительно за 70 000 лет до нашей эры.

Однако исследования древних геномов определили более ранние даты - менее 6000 лет. Микобактерии туберкулеза были выделены из кальцинированного лимфоузла епископа Лундского, который был известным теологом XVII века. Был реконструирован генотип *Mycobacterium tuberculosis* с охватом 141 генома [1] (Рисунок 1).

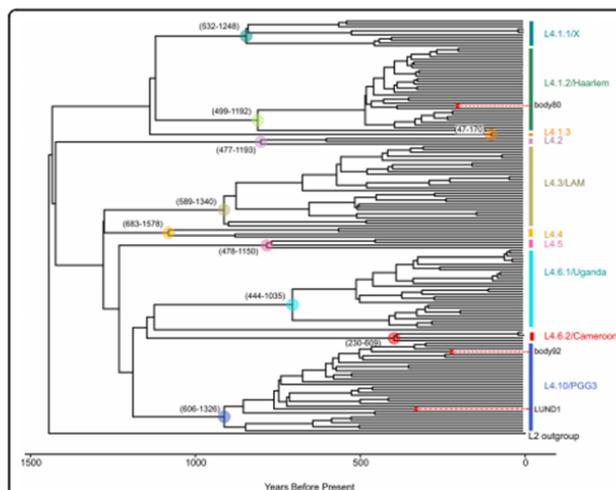


Рисунок 2 - Реконструкция генома *Mycobacterium tuberculosis*[1]

Ранее самые поздние случаи заболевания костно-суставного туберкулеза были обнаружены с эпоху неолита и датируются 4000 г. до нашей эры, а первые случаи туберкулеза легких выявлены в Египте (3500–2650 гг. до н.э.) [2].

В пятницу 24 марта 1882 года в читальском зале библиотеки Берлинского университета Гумбольдта в 19 часов на факультете медицинских и естественных наук профессор Герман Генрих Роберт Кох выступил с докладом «Этиология туберкулеза» и продемонстрировал туберкулезные бациллы, которые до сих пор известны под названием бациллы Коха [3, 4] (Рисунок 3, 4).



Рисунок 3 и 4 - Портрет профессора Германа Генриха Роберта Коха и профессор в лаборатории [3, 4]

Р. Кох представил новую концепцию об экзогенном агенте (рисунок 5), вызывающем туберкулез, которая опровергла господствующую концепцию профессора Р. Вирхова об эндогенном происхождении болезни [5]. Р. Вирхов регулярно подвергал критике теорию Коха и прямо говорил ученику, чтобы тот не тратил время на ерунду и занимался лечением людей [6].

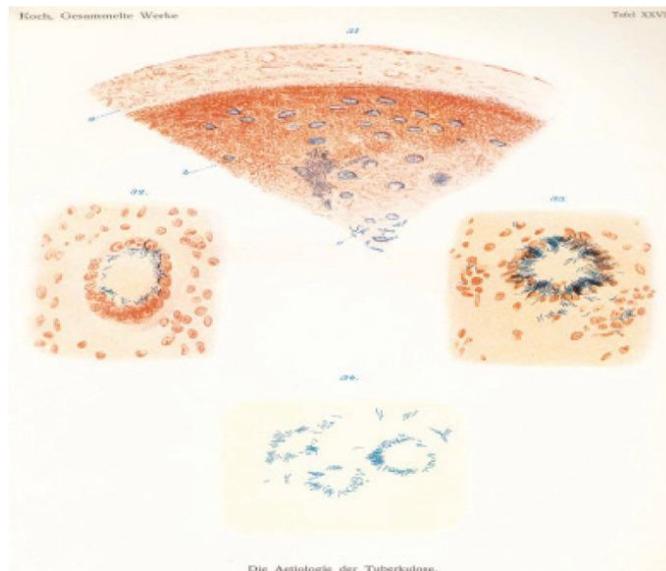


Рисунок 5 - Оригинальный рисунок Р. Коха с изображением туберкулезных бацилл в инфицированной ткани, который иллюстрировал отчет профессора об этиологии туберкулеза [5].

Лабораторные исследования Р. Коха позволили открыть возбудители сибирской язвы и туберкулеза, которые были идентифицированы с соответствующими вызываемыми ими заболеваниями.

В 1886 году Lehmann и Neumann выделили род *Mycobacterium* в семействе *Mycobacteriaceae* и обозначили возбудитель туберкулеза как *Mycobacterium tuberculosis* [6].

В 1905 году профессору Р. Коху за открытие возбудителя туберкулеза была присуждена Нобелевская премия [7] (Рисунок 6).



Рисунок 6 - Диплом Нобелевского Лауреата Роберта Коха

Далее П.Эрлих модифицировал методы окрашивания Р.Кохом микобактерий, а Грам, Циль и Нильсен разработали окраску *Mycobacterium tuberculosis*, которые используются до сих пор [8].

Одним из достижений Р.Коха явилось описание принципов доказательности инфекционной этиологии любого заболевания. В основе принципов доказательности Коха лежало научное наследие от его учителей Генле, Мейснера, Вёлера и Краузе из Геттингенского университета [9, 10].

1.1 Таксономия *M. tuberculosis*

По филогенетической классификации, основанной на сходстве генов 16S-рРНК, *M. tuberculosis* относится к царству *Bacteria*, типу *Actinobacteria*, классу *Actinobacteridae*, подклассу *Actinomycetales*, отряду *Firmicutes*, подотряду *Corynebacterineae*, семейству *Mycobacteriaceae*, роду *Mycobacterium* [11] (Рисунок 7).

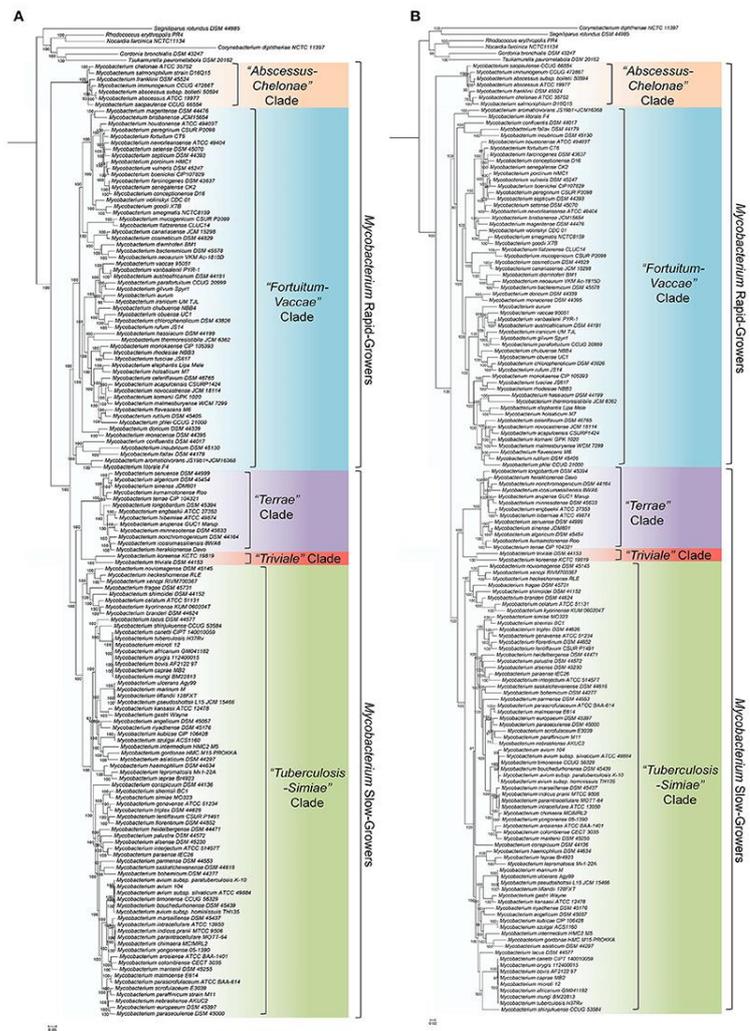


Рисунок 7 - Таксономия *M. tuberculosis*

Род *Mycobacterium* насчитывает более 170 видов, среди которых есть безобидные сапрофиты, условно патогенные нетуберкулезные микобактерии (НТМБ) – возбудители микобактериозов, и патогенные - возбудители болезней человека и животных [12].

Род *Mycobacterium* насчитывает более 170 видов и подвидов микобактерий.

По способности вызывать заболевания человека и животных микобактерии можно разделить на три группы:

(1) безусловно патогенные (опасные) для человека и животных виды микобактерий *M. tuberculosis* и *M. bovis*, которые вызывают туберкулез человека и крупного рогатого скота, *M. leprae* - возбудитель заболевания проказы;

(2) условно (потенциально) патогенные микобактерии, которые при определенных условиях могут вызвать заболевания человека: *M. avium*,

M. intracellulare, *M. kansasii*, *M. malmoense*, *M. xenopi*, *M. fortuitum*, *M. chelonai*;

(3) сапрофитные микобактерии, которые свободно живут в окружающей среде и, как правило, не опасны для человека: *M. terrae* (выделенная из почвы (земли)), *M. phlei* (найдена на траве тимофеевке), *M. gordonae/aqual* (выделена из водопроводной воды), а также *M. triviale*, *M. flavescens*, *M. gastri*.

Микроорганизмы рода *Mycobacterium* характеризуются сложным составом клеточной стенки, которая имеет крайне низкую проницаемость. Присутствие длинных цепей α -алкил, β -гидрокси жирных кислот определяет такой таксономически важный признак как кислотоустойчивость, которая обеспечивает способность воспринимать дифференциальное окрашивание по методу Циля-Нильсена (ЦН).

Виды микроорганизмов рода *Mycobacterium* по скорости роста различаются и распределяются на три основные группы: медленнорастущие, быстрорастущие и не растущие на питательных средах [13] (Рисунок 8).

Виды микроорганизмов рода *Mycobacterium* по скорости роста



Рисунок 8 - Виды микроорганизмов рода *Mycobacterium* по скорости роста

Mycobacterium tuberculosis complex представлен несколькими близкородственными видами: *M. tuberculosis*, *M. canettii* и *M. africanum* – возбудители туберкулеза человека; *M. bovis* - основной возбудитель туберкулеза крупного рогатого скота и человека (аттенуированный штамм BCG используют для иммунизации); *M. microti*, *M. caprae*, *M. pinnipedii* (и недавно открытые виды *M. mungi*, *M. orygis*, и *M. suricattae*) вызывают туберкулез у животных и крайне редко – у человека.

Mycobacterium tuberculosis complex

M. tuberculosis complex включает: *M. tuberculosis*, *M. africanum*, *M. microti*, *M. canetti*, *M. pinnipedii*, *M. caprae*, *M. bovis*, *M. bovis BCG* [14] (Рисунок 9).

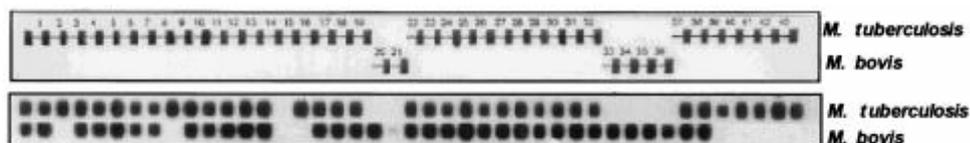


Рисунок 9 – Состав *M. tuberculosis complex* [14]

Неподвижные, палочковидные бактерии: низкая скорость роста, специфическая клеточная стенка.

Высокое сходство между видами на уровне ДНК: сходство последовательности ДНК между видами >99%.

Однако существуют различия микобактерий по биохимическим/фенотипическим свойствам, географической распространенности и вирулентности (рисунок 10).

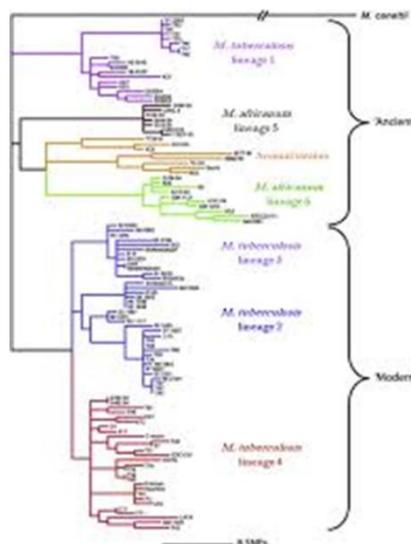


Рисунок 10 – Филогенетические характеристики *M. tuberculosis complex* [14]

При изучении полиморфизма генов, кодирующих каталазу, пероксидазу и А-субъединицу ДНК-гиразы были выделены три генотипические группы [14]:

I группа: *M. africanum*, *M. bovis*, *M. tuberculosis* и *M. microti* - наиболее древняя (с точки зрения эволюции);

II и III группы включают различные штаммы *M. tuberculosis*, получившие распространение в некоторых географических регионах.

Клональное поведение характерно для I и II групп, а штаммы III группы крайне редко вызывают массовые заболевания.

В различных регионах мира распространены генетические семейства *M.tuberculosis*, получившие наименования Haarlem, Africa, Filipino.

По характеру роста на искусственных питательных средах в лабораторных условиях выделяют многочисленную группу быстрорастущих (в течение 1 недели) микобактерий и группу (около 60 видов) медленно растущих микобактерий.

Микобактерии имеют выраженный полиморфизм (кокковидные, нитевидные, ветвистые, колбовидные формы). *M. tuberculosis*, *M. africanum* имеют форму длинных тонких палочек, тогда как *M. bovis* – вид коротких и толстых палочек с зернистой цитоплазмой, содержащей от 2 до 12 зерен различной величины (зерна метафосфатов – зерна Муха).

Иногда они образуют нитевидные структуры, напоминающие мицелий грибов, что и послужило основанием для их названия (*mykes* - гриб и *bacterium* - бактерия). Микобактерии неподвижные, спор не образуют и имеют микрокапсулу.

1.2 Культуральные свойства *M.tuberculosis*

Микобактерии туберкулеза (МБТ) являются грамположительными микроорганизмами, хотя при окраске по Граму они не прокрашиваются кристалльвиолетом. К группе грамположительных бактерий они относятся в связи с отсутствием внешней клеточной мембраны [15].

Микобактериям необходим кислород для нормального развития, так как они являются аэрофилами (диапазон температур 37 — 42°C), при этом 5 – 10 % CO₂ способствует более быстрому росту. Щелочной оптимум среды 7.0 – 7.2.

Размножаются микобактерии простым поперечным делением, достаточно редко ветвлением. Процесс деления происходит очень медленно – одно деление в среднем за 14 – 18 часов. При неблагоприятных условиях размножение МБТ может происходить через цикл L-трансформации.

МБТ не выделяют эндо- и экзотоксинов, поэтому при инфицировании ими ярких клинических симптомов, как правило, не возникает. Поглощённые макрофагами микобактерии туберкулеза в процессе фагоцитоза сохраняют свою жизнеспособность длительное время и могут вызывать заболевание после нескольких лет бессимптомного существования.

Для выявления микобактерий применяют метод окраски по Цилю-Нельсену (ЦН) (термокислотное протравливание карболовым фуксином) (Рисунок 11).

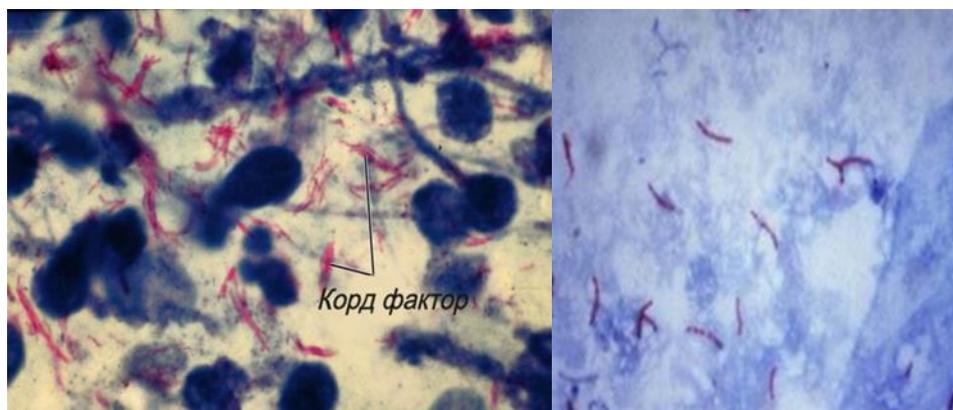


Рисунок 11 - *M. tuberculosis* при окраске по Цилю — Нильсену

M. tuberculosis имеет слегка изогнутую или прямую форму палочки 1 — 10 мкм диаметром 0,2 — 0,6 мкм, при окраске по Цилю — Нильсену (ЦН) малиново-красного цвета (Рисунок 12).

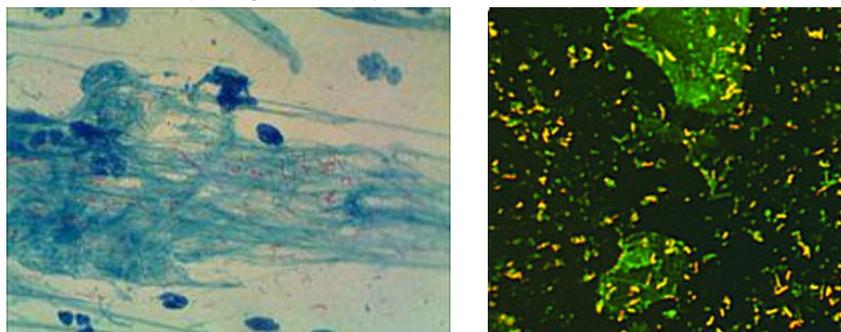


Рисунок 12 - *M. tuberculosis* при микроскопии по Цилю — Нильсену и при люминесцентной микроскопии

Клетки с характерным свойством кислото и спиртоустойчивой (на одной из стадий роста) окраски являются аэрофилами и мезофилами, однако в процессе жизнедеятельности в неблагоприятных условиях их метаболизм может измениться, а клетки могут трансформироваться в микроаэрофилы и даже стать анаэробами [16]. Для микобактерий туберкулеза (МБТ) характерен узкий диапазон температур инкубации – 37-42 С.

Тинкториально — слабо грамположительные. Для дифференцировки окрашивают по ЦН или используют окраску флюорохромами.

Микобактерии неподвижны, не образуют спор и капсул. Конидии также отсутствуют. Растут на плотных питательных средах медленно: при оптимальной температуре видимые колонии появляются через 34—55 суток

(присутствие в среде L-аспарагина или глутамината натрия ускоряет рост на плотных средах в 1,5 раза).

Колонии морщинистые, чаще характерного цвета «слоновой кости», но бывают слабо пигментированные розовые или оранжевые, особенно при росте на свету (рисунок 13, 14).



Рисунок 13 – Колонии микобактерий на среде Левенштейна — Йенсена

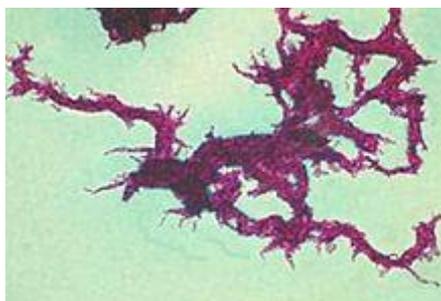


Рисунок 14 – Микроколонии микобактерий туберкулёза

Пигмент не диффундирует. Поверхность колоний обычно шероховатая (R-тип). В микроколониях *M. tuberculosis* (то есть на ранних сроках) и в жидких питательных средах образуются структуры, напоминающие «косы» или «жгуты» — признак, который связывают с корд-фактором (англ. *Cord* — шнур), в свое время считавшийся главным фактором вирулентности (Рисунок 14).

1.3. Структура *M. tuberculosis*

Микобактерии имеют уникальную структуру клеточной стенки, которая играет решающую роль в их выживании.

В бактериальной клетке имеется сложно организованная клеточная стенка толщиной до 200—250 нм, состоящая из 3—4 связанных слоёв пептидогликанов, покрытых слоем арабиногалактана и миколовыми кислотами, на внешней стороне этих слоев есть еще мобильный слой, состоящий из трегалозы и гликопептидолипидов. Микробная стенка

содержит специфичные воска (микозиды) и полисахариды, защищает микобактерию от воздействия внешней среды, обладает антигенными свойствами и проявляет серологическую активность (Рисунок 15).

Липиды экранируют бактериальную клетку, подавляют фагоцитоз, блокируют активность клеточных ферментов, а терминальные фрагменты липоарабиноманнана подавляют активацию Т-лимфоцитов и лейкоцитов [16].

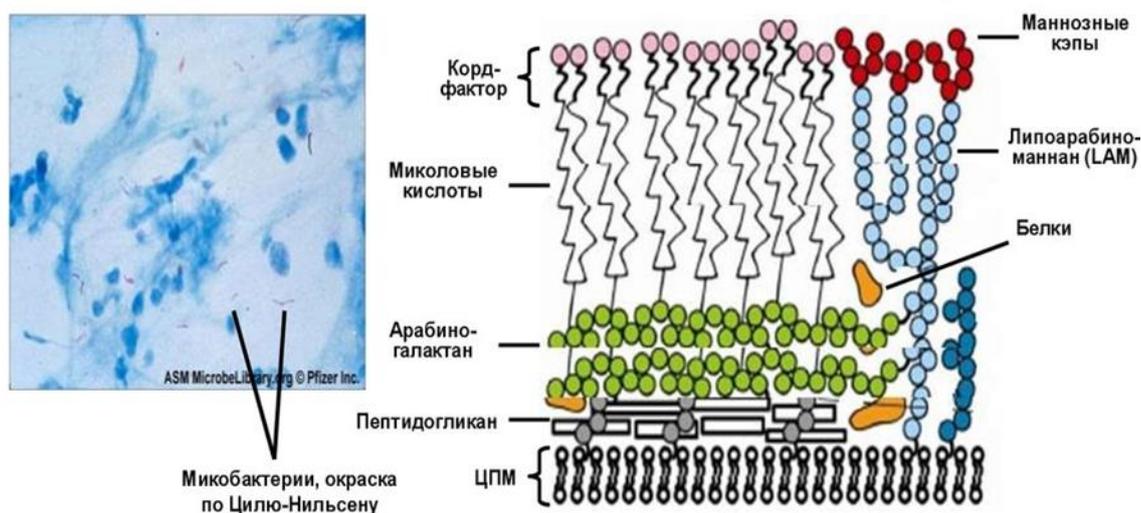


Рисунок 15 – Строение клеточной стенки микобактерий туберкулеза [16]

Клеточная стенка ограничивает микобактерию снаружи, обеспечивает стабильность размеров и формы клетки, механическую, осмотическую и химическую защиту, имеет существенное значение в вирулентности и лекарственной устойчивости (ЛУ) МБТ. Бактериальная цитоплазма может содержать гранулы; цитоплазматическая мембрана включает липопротеиновые комплексы, ферментные системы, формирует внутрицитоплазматическую мембранную систему (мезосому). Ядерная субстанция состоит из одной кольцевой ДНК.

Микобактерии содержат белки (туберкулопротеины), полисахариды и липиды.

Белки (туберкулопротеины) являются главными носителями антигенных свойств МБТ и проявляют специфичность в реакциях повышенной чувствительности замедленного типа. К этим белкам относится туберкулин. Туберкулопротеины составляют до 56% сухой массы вещества микробной клетки [17].

Полисахариды составляют до 15% сухой массы клетки, являются гаптенами. С полисахаридами связано обнаружение антител в сыворотке крови больных туберкулёзом.

Липиды составляют до 40% сухой массы клеток. Обнаружено три фракции липидов: фосфатидная (растворимая в эфире), жировая (растворимая в эфире и ацетоне), восковая (растворимая в эфире и хлороформе). Липидные фракции способствуют устойчивости микобактерий к кислотам и щелочам.

В высохшей мокроте больного клетки сохраняют жизнеспособность и вирулентность в течение 5-6 месяцев, выдерживают процессы гниения и могут несколько месяцев сохранять жизнеспособность и вирулентность в погребенных трупах, на вещах больного сохраняются более 3 месяцев, в почве - до 6 месяцев, в воде – до 15 месяцев.

В уличной пыли микобактерии туберкулеза сохраняются в течение 10 дней, на страницах книг – до 3 месяцев. Солнечный свет вызывает гибель микобактерий через 1,5 часа, УФЛ – через 2-3 минуты. При кипячении погибают через 5-7 минут. Сухой жар выдерживают до 60 минут. При пастеризации погибают через 30 минут. Хлорсодержащие препараты вызывают гибель возбудителей туберкулеза в течение 3-5 часов, 5%- ный раствор фенола - через 6 часов [15].

При неблагоприятных условиях МБТ могут, частично или полностью сбрасывая клеточную стенку, образовывать L-формы, имеющие сниженный уровень метаболизма и ослабленную вирулентность (Рисунок 16).

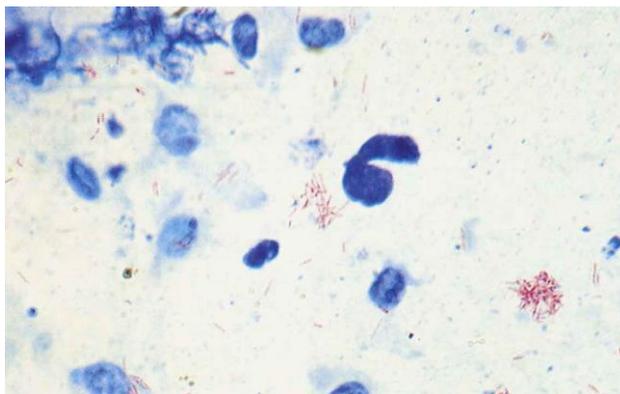


Рисунок 16 - L-формы микобактерий туберкулеза [16]

L-формы выглядят в виде сферических и вакуолизированных тел от гигантских, размером до 50 мкм, до ультрамикроскопических, размером 0,25 мкм. Отсутствие клеточной стенки позволяет им преобразовываться в тонкие нити и проходить через бактериальные фильтры. Культивировать L-формы возможно только с использованием селективных сред с высоким

осмотическим давлением. L-формы МБТ не окрашиваются по ЦН, но их можно выявлять при фазово-контрастной или люминесцентной микроскопии (ЛМ).

Стабильные L-формы могут длительное время персистировать в организме и индуцировать противотуберкулёзный иммунитет. L-формы МБТ имеют остаточную патогенность, но главное - L-формы МБТ при соответствующих условиях способны к реверсии в исходный микробный вид (нестабильные L-формы), вызывая тем самым реактивацию туберкулезного процесса. Многообразие форм МБТ указывает на адаптационные свойства и возможности возбудителя.

1.4 Патогенность и вирулентность микобактерий

Патогенность возбудителя — способность быть причиной патологии (болезни). Патогенность характеризуется специфичностью, то есть способностью вызывать типичные для определённого возбудителя патофизиологические и морфологические изменения в определённых тканях и органах при условии естественного для него способа заражения. Чаще всего возбудители соответствуют определённому типу инфекционного заболевания с соответствующей клиникой и патоморфологией.

Вирулентность — степень способности данного инфекционного агента (штамма микроорганизма или вируса) вызывать заболевание или гибель организма.

За единицу измерения вирулентности условно приняты летальная и инфицирующая дозы.

Минимальная смертельная доза — DLM (*Dosis letalis minima*) — это наименьшее количество живых микробов или их токсинов, вызывающее за определённый срок гибель большинства взятых в опыт животных определённого вида.

Безусловно смертельная доза — DCL (*Dosis certa letalis*), вызывающая гибель 100 % зараженных животных.

Высоковирулентные микроорганизмы способны вызвать заболевание животных или человека в самых малых дозах.

Факторы патогенности микобактерий туберкулеза

Корд-фактор (димиколат трегалозы) — гликолипид клеточной стенки, представляет собой сложный эфир трегаллозы и двух остатков миколовой кислоты, вызывает повреждение клеточных мембран и ингибирует

образование фаголизосомы, обуславливая развитие незавершенного фагоцитоза [18] (Рисунок 17).

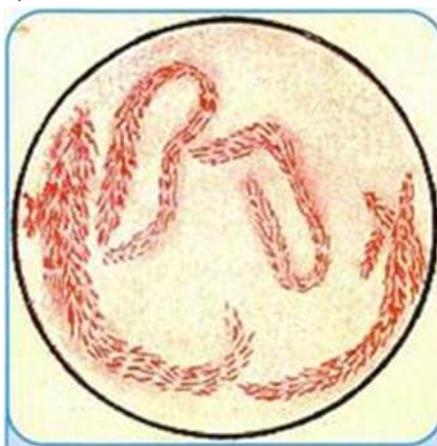


Рисунок 17 - Корд-фактор

Антифагоцитарные факторы – воска (особенно воск Д), сульфаты и некоторые другие соединения, препятствующие слиянию фаго- и лизосомы.

Сульфолипиды (миколовые кислоты присутствуют в виде свободных сульфолипидов и корд-фактора) подавляют активность лизосомальных ферментов; вместе с корд-фактором образуют цитотоксические мембранотропные комплексы.

Ацетон-растворимые липиды усиливают иммуносупрессивные свойства микобактерий и модифицируют мембраны клетки хозяина.

Липоарабиноманнан (LAM) – гетерополисахарид, подавляющий активацию Т-лимфоцитов и лейкоцитов, вызывающий секрецию макрофагами ФНО и ИЛ-10 (Рисунок 18).

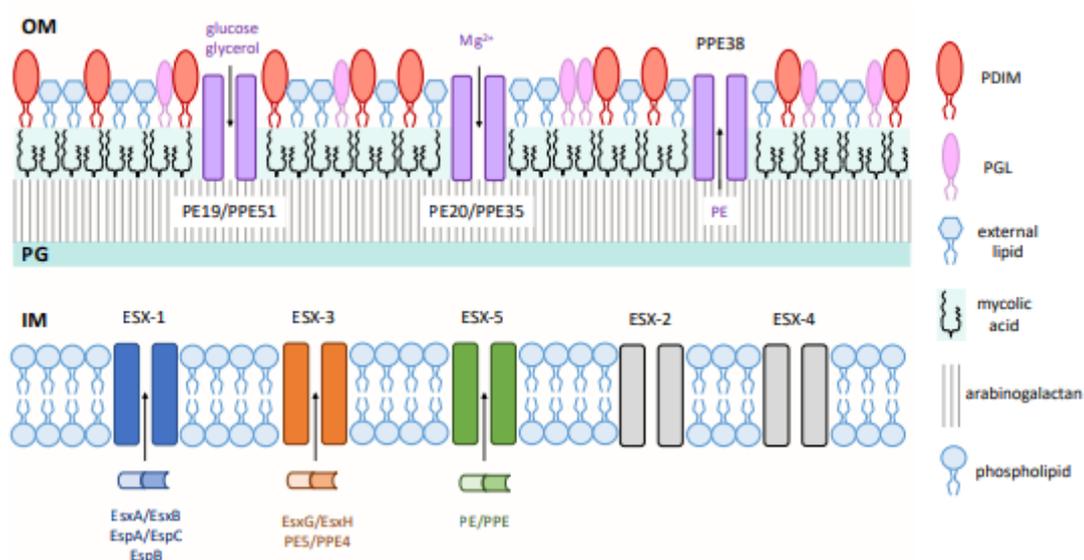


Рисунок 18 – Схема расположения факторов патогенности

1.5 Генотипирование микобактерий туберкулеза

Разнообразие свойств МБТ определяется её хромосомой. Геном *M. tuberculosis complex* очень консервативен. Его представители обладают гомологией ДНК в пределах 85—100 %, тогда как ДНК других представителей данного рода гомологичны *M. tuberculosis* лишь на 5—29 %. Геном *M. tuberculosis* меньше, чем у других микобактерий. У классического возбудителя туберкулёза человека, *M. tuberculosis*, больше генов, чем у *M. africanum* и *M. bovis*, которые утратили часть генетического материала в ходе эволюции.

В 1998 г. была полностью расшифрована нуклеотидная последовательность хромосомы штамма H37Rv *M. tuberculosis*, являющегося музейным «классическим» штаммом. Хромосома представляет собой тороидальную структуру — свыше 4000 генов, кодирующих белки, плюс 60 генов микобактерий, кодирующих функциональные компоненты РНК: уникальный рибосомальный РНК-оперон, 16Sa РНК, участвующий в деградации белков с нетипичной матричной РНК, 45 транспортных РНК (тРНК), около 100 липопротеинов [19] (рисунок 19).

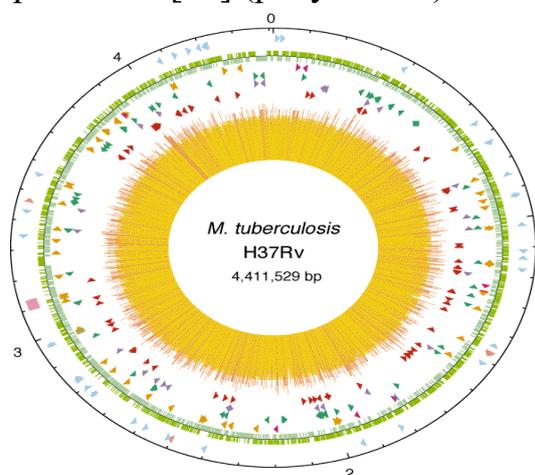


Рисунок 19 – Геном *M. tuberculosis* [19]

С помощью основных молекулярно-генетических методов можно проводить типирование *M. tuberculosis*, позволяющее распознавать штаммовые различия. На этом основана молекулярная эпидемиология туберкулеза. Обнаружено более 2000 различных генотипов, некоторые из которых распространены повсеместно, другие встречаются реже или характерны для какого-то конкретного региона [20]. Так, наиболее

распространенным генотипом является семейство *Beijing/W* (так называемый «пекинский штамм»), несколько реже встречается LAM (латино-американский штамм) и Haarlem. С генотипом *Beijing* во многом связано неблагоприятное течение туберкулеза, повышенная вирулентность и трансмиссивность и более частое обнаружение лекарственной устойчивости к противотуберкулезным препаратам. Так, на территории Северо-Запада Российской Федерации за последние годы генотип *Beijing* был выявлен в 57% случаев. При этом в половине случаев у выделенного пекинского штамма определялась множественная лекарственная устойчивость возбудителя (МЛУ) к противотуберкулезным препаратам [21].

Из биологических свойств МБТ, определяющих «успешность» этого патогена, основное значение имеют вирулентность и лекарственная устойчивость (ЛУ) возбудителя.

Вирулентность МБТ. До настоящего времени нет универсального метода исследования вирулентности микобактерий. При всей сложности взаимодействия микроба-патогена и организма-хозяина остается основным понятие, что вирулентность – это степень патогенности, то есть величина, которую можно измерить [22].

Классическое исследование вирулентности возбудителя туберкулеза проводят на модели заражения чувствительных к нему лабораторных животных (морские свинки, мыши, хомячки, кролики, резистентные крысы). Вирулентность штаммов *M. tuberculosis* оценивают по длительности выживания инфицированных животных, либо по LD50 (минимальная летальная доза инфекта, вызывающая гибель 50% животных), либо по индексу морфологического поражения или высеваемости *M. tuberculosis* из органов [Василев, 1971; Вейсфелер, 1975].

Помимо классического использования лабораторных животных, вирулентность МБТ можно изучать на клеточном уровне, в основном на макрофагах: перитонеальных, альвеолярных, периферической крови, в культуре клеток. Данный подход является наиболее объективным, так как он лишен недостатков исследований на лабораторных животных (высокая стоимость и продолжительность исследований и индивидуальные особенности животных) [23, 24].

Для проявления вирулентных свойств МБТ, как и других инфекционных патогенов, наибольшее значение имеют два феномена – это адаптация возбудителя к условиям макроорганизма-хозяина и агрессия по отношению к нему – токсические, воспалительные и некротические изменения на молекулярном, клеточном, органном и организменном уровнях.

Адаптация - это сложный феномен, реализуемый разнообразными механизмами, направленными на уклонение от защитных иммунных систем, а также на противодействие антибактериальным препаратам – развитие лекарственной толерантности. Одним из проявлений бактериальной адаптации является относительно недавно открытый QUORUM SENSING (QS). QUORUM SENSING – это одно из проявлений надорганизменного уровня самоорганизации бактерий, благодаря которому микробные сообщества могут вести себя как многоклеточный организм, что значительно повышает их сопротивляемость внешним воздействиям [24].

Также были обнаружены сигнальные молекулы QS, используя которые бактерии могут общаться друг с другом и координировать свою деятельность, что позволяет говорить об ощущении кворума как о «социальном» поведении бактерий. Основным феноменом QS является образование бактериальных биопленок. В литературе указано, что около 80% инфекций человека протекают с образованием особых сообществ микроорганизмов, заключенных в биополимерный внеклеточный матрикс, который служит прямым препятствием для действия иммунокомпетентных клеток и антибактериальных веществ. Микобактериальные биопленки обнаружены в полостных образованиях при туберкулезе легких и других органов.

МБТ обладают комплексом генов, экспрессирующих различные факторы вирулентности. Один из основных генетических локусов вирулентности - RD 1, который играет ключевую роль в патогенности возбудителя туберкулеза. Делеция этого локуса приводит к снижению вирулентности МБТ, а внедрение его в геном БЦЖ повышает вирулентность вакцинного штамма.

Непосредственное значение для вирулентности МБТ имеет ряд ферментов. Одним из них является липидная фосфатаза SapM, которая препятствует образованию фаголизосомы в макрофаге и приводит к неспособности макрофага к киллингу микобактерий. Существенным отличием МБТ является наличие гена, кодирующего белок со свойствами гиалуронидазы и хондросульфатазы, которые отсутствуют у непатогенных микобактерий.

Бактерии обладают известными системами активного процесса секреции продуктов жизнедеятельности клеток во внешнюю среду, которая является их средой обитания. Известно 6 таких систем, но у микобактерий обнаружен дополнительный У11 тип, известный под названием ESX-системы. Эта система секретирует ряд низкомолекулярных белков, в частности ESAT-6 (на основе которого создана известная диагностическая проба с

Диаскинтестом). ESAT-6 считается главным белковым фактором вирулентности МБТ [25].

Основные генетические детерминанты и механизмы вирулентности микобактерий, в частности *M. tuberculosis complex*, в сущности являются общими для всех инфекционных патогенов (В.Г. Петровская, 1967). К их числу относят ферменты, участвующие в обмене липидов, поверхностные адгезины, регуляторные белки и сигнальные белки транспортных систем. Другие факторы вирулентности обеспечивают выживаемость в агрессивной среде макрофагов хозяина. У микобактерий существуют механизмы «ускользания» от иммунологических факторов защиты, которые способствуют адаптации к условиям макроорганизма-хозяина и обеспечивают персистенцию, т.е. переход в дормантное состояние [26].

Важную роль в переходе *M. tuberculosis* в покоящееся состояние в иммунокомпетентном макроорганизме играет регулон DosR (Dormancy survival regulon), который главным образом обеспечивает функции, связанные с состоянием покоя возбудителя туберкулеза.

Следует отметить, что у *M. tuberculosis* существует система сенсорных киназ, в частности DosS и DosT, которые распознают гипоксию, активные радикалы азота и кислорода, а также CO, индуцируемые клеткой иммунокомпетентного хозяина, и активируют регулон DosR, переводящий *M. tuberculosis* в латентное состояние (dormancy). Следовательно, *M. tuberculosis* способны изменять темп размножения внутри хозяина в зависимости от сложившихся условий.

Таким образом, персистенцию можно охарактеризовать как стратегию выживания микробов. В этой связи необходимо отметить роль пептидогликана и L-трансформации бактерий.

Пептидогликан (биополимер клеточной стенки бактерий, составляющий ее каркас) - это мощный раздражитель иммунной системы организма и иммунологическая мишень. Таким образом, «сбрасывание» клеточной оболочки L-формами бактерий - своеобразный «бактериальный стриптиз» - это метод ускользания от факторов иммунологической защиты (О.В.Бухарин, 2005). Все вышеизложенное имеет непосредственное отношение и к возбудителю туберкулеза, поскольку L-трансформация *M. tuberculosis* - хорошо известный феномен, и в качестве механизма адаптации ее также можно рассматривать в качестве одного из факторов вирулентности.

Обладая широким спектром генов вирулентности, возбудитель туберкулеза экспрессирует гены в разные фазы инфекции. Одни гены «включаются» в ранние фазы и важны для преодоления иммунной защиты и

распространения патогена в организме хозяина, другие – для выживания в латентной фазе.

Список литературы

1. Sabin, S., Herbig, A., Vågane, Å.J. et al. A seventeenth-century *Mycobacterium tuberculosis* genome supports a Neolithic emergence of the *Mycobacterium tuberculosis* complex. *Genome Biol.* 2020; 21, 201. <https://doi.org/10.1186/s13059-020-02112-1>
2. Masson M, Berezcki Z, Molnár E, Donoghue HD, Minnikin DE, Lee OY-C, Wu ННТ, Besra GS, Bull ID, Pálfi G, 7000 year-old Tuberculosis Cases from Hungary – Osteological and Biomolecular Evidence, *Tuberculosis* (2015), doi: 10.1016/j.tube.2015.02.007.
3. Х.Хан. Глобальная угроза инфекций и Роберт Кох, основатель медицинской микробиологии и ученый с мировым именем. *Медицинский альянс.* 2016. - №3. -С 6-17.
4. Lakhtakia R. The Legacy of Robert Koch: Surmise, search, substantiate. *Sultan Qaboos Univ Med J.* 2014 Feb;14(1):e37-41. doi: 10.12816/0003334. PMID: 24516751; PMCID: PMC3916274.
5. Kaufmann SHE, Schaible UE. 100th anniversary of Robert Koch's Nobel Prize for the discovery of the tubercle bacillus. *Trends in Microbiol.* 2005;13:469–75.
6. Ларинский Н. Е. История физикальных методов диагностики / Н. Е. Ларинский, М. А. Бутов, А. В. Сахаров, С. В. Викулин, А. А. Низов; под редакцией М. А. Бутова (посвящается 190-летию открытия Рене Теофиля Гиацинта Лаэннека). — Рязань: РязГМУ, 2007. — 216 с.
7. Hahn Helmut The Global Threat of Infections and Robert Koch, Founder of Medical Microbiology and International Scientist. 2016: 3; 6-17.
8. Lakhani SR. Early clinical pathologists: Robert Koch (1843–1910) *J Clin Pathol.* 1993;46:596–8.
9. Blevins SM, Bronze MS. Robert Koch and the ‘golden age’ of bacteriology. *Int J Infect Dis.* 2010;14:e744–51.
10. Carter KC, editor. *Essays of Robert Koch.* Westport: Greenwood Press; 1987. pp. 9–25.
11. Gupta RS, Lo B and Son J (2018) Phylogenomics and Comparative Genomic Studies Robustly Support Division of the Genus *Mycobacterium* into an Emended Genus *Mycobacterium* and Four Novel Genera. *Front. Microbiol.* 9:67. doi: 10.3389/fmicb.2018.00067

12. *Mycobacterium tuberculosis* complex comprises *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. bovis* BCG, *Mycobacterium africanum*, among others. 2017. *Microbiology and Molecular Diagnosis in Pathology*. P.75-117. doi.org/10.1016/B978-0-12-805351-5.00006-5
13. S. Godreuil, G. Torrea, D. Terru, F. Chevenet, S. Diagbouga, P. Supply, P. Van de Perre, C. Carriere, A. L. Bañuls. First Molecular Epidemiology Study of *Mycobacterium tuberculosis* in Burkina Faso. *J Clin Microbiol*. 2007 Mar; 45(3): 921–927. doi: 10.1128/JCM.01918-06; Han, X. Y., Seo, Y. H., Sizer, K. C., Schoberle, T., May, G. S., Spencer, J. S., Li, W., Nair, R. G. «A new *Mycobacterium* species causing diffuse lepromatous leprosy». *Am. J. Clin. Pathol*. 2008 Dec;130(6):856-64
14. *Mycobacterium tuberculosis* complex comprises *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. bovis* BCG, *Mycobacterium africanum*, among others. 2017. *Microbiology and Molecular Diagnosis in Pathology*. P.75-117. doi.org/10.1016/B978-0-12-805351-5.00006-5
15. Литусов Н.В. Микобактерии туберкулеза. Иллюстрированное учебное пособие. – Екатеринбург: Изд-во ГБОУ ВПО УГМУ, 2015. - 52 с.
16. S. Godreuil, G. Torrea, D. Terru, F. Chevenet, S. Diagbouga, P. Supply, P. Van de Perre, C. Carriere, A. L. Bañuls. First Molecular Epidemiology Study of *Mycobacterium tuberculosis* in Burkina Faso. *J Clin Microbiol*. 2007 Mar; 45(3): 921–927. doi: 10.1128/JCM.01918-06
17. Wojciech W. Krajewski, T. Alwyn Jones, Sherry L. Mowbray. Structure of *Mycobacterium tuberculosis* glutamine synthetase in complex with a transition-state mimic provides functional insights. *PNAS*, 2005. 102 (30) 10499-10504; <https://doi.org/10.1073/pnas.0502248102>.
18. Ly A, Liu J. *Mycobacterial Virulence Factors: Surface-Exposed Lipids and Secreted Proteins*. *Int. J. of Molecular Sciences Review*. 2020, 21, 3985; doi:10.3390/ijms21113985.
19. Cole ST, Brosch R, Parkhill J, Garnier T, Churcher C, Harris D, Gordon SV, Eiglmeier K, Gas S, Barry CE 3rd, Tekaia F, Badcock K, Basham D, Brown D, Chillingworth T et al. Deciphering the biology of *Mycobacterium tuberculosis* from the complete genome sequence. *Nature*. 1998 Jun 11;393(6685):537-44. doi: 10.1038/31159. Erratum in: *Nature* 1998 Nov 12;396(6707):190. PMID: 9634230.
20. Mokrousov I, Chernyaeva E, Vyazovaya A, Skiba Y, Solovieva N, Valcheva V, Levina K, Malakhova N, Jiao WW, Gomes LL, Suffys PN, Kütt M, Aitkhozhina N, Shen AD, Narvskaya O, Zhuravlev V. Rapid Assay for Detection of the Epidemiologically Important Central Asian/Russian Strain of the *Mycobacterium tuberculosis* Beijing Genotype. *J Clin Microbiol*. 2018 Jan

24;56(2):e01551-17. doi: 10.1128/JCM.01551-17. PMID: 29142045; PMCID: PMC5786733.

21. Vyazovaya, A.; Gerasimova, A.; Mudarisova, R.; Terentieva, D.; Solovieva, N.; Zhuravlev, V.; Mokrousov, I. Genetic Diversity and Primary Drug Resistance of *Mycobacterium tuberculosis* Beijing Genotype Strains in Northwestern Russia. *Microorganisms* 2023, 11, 255. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11020255>

22. Вишневский Б.И., Маничева О.А., Яблонский П.К. Вирулентность *Mycobacterium tuberculosis*. Обзор.- 2014.-Инфекция и иммунитет.-2014.-Том 4, № 4.-С. 319-.331.

23. Вишневский Б.И., Яблонский П.К. Персистенция *Mycobacterium tuberculosis* – основа латентного туберкулеза.//МедАльянс, 2020.-№ 3.- С.14-20.

24. Вишневский Б.И., Яблонский П.К. Чувство кворума (QUORUM SENSING) у микобактерий туберкулеза. Обзор. Мед.альянс, 2021, т.9. № 3, С. 6-11.

25. Прозоров А.А., Даниленко В.Н. Микобактерии туберкулезного комплекса: геномика, молекулярная эпидемиология, пути эволюции // Успехи современной биологии. - 2011. – том 131, № 3. - С. 227-243.

26. Бухарин О.В., Гинцбург А.Л., Романова Ю.М., Эль-Регистан Г.И. Механизмы выживания бактерий /Под ред. О.В. Бухарина. М., Медицина, 2005. 364 с.

Часть 2

ОБЩИЕ ПРИНЦИПЫ ДИАГНОСТИКИ ТУБЕРКУЛЕЗНОЙ ИНФЕКЦИИ

В настоящее время различают несколько периодов развития туберкулезной инфекции (Рисунок 1):

- латентная туберкулезная инфекция (ЛТИ)
- первичный туберкулез;
- вторичный туберкулез.

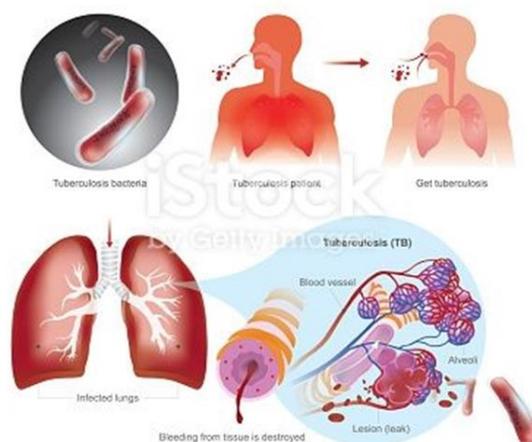


Рисунок 1 – Этапы развития туберкулезной инфекции

Первичный туберкулёз развивается в результате первого проникновения микобактерий туберкулёза в организм человека [3]. Исход первичного инфицирования определяется количеством и вирулентностью микобактерий, длительностью их воздействия и, в значительной степени, иммунобиологическим состоянием организма.

Вторичный туберкулез развивается у ранее инфицированных МБТ людей в результате эндогенной реактивации туберкулезной инфекции или при экзогенной суперинфекции. Эндогенная реактивация микобактерий может наступить в любой срок после первичного туберкулеза.

Характеристика туберкулезного процесса включает данные по локализации и фазе процесса, а также наличию или отсутствию МБТ в диагностическом материале, полученном от пациента.

Учитывается локализация и распространенность процесса: в легких по долям, сегментам, а в других органах - по локализации поражения [4].

Фазы процесса:

- а) инфильтрации, распада, обсеменения;
- б) рассасывания, уплотнения, рубцевания, обызвествления.

Наличие бактериовыделения:

- а) с выделением микобактерий туберкулеза (МБТ+);
- б) без выделения микобактерий туберкулеза (МБТ-).

Необходимо указать наличие устойчивости микобактерий к противотуберкулезным препаратам (ПТП):

- с сохраненной лекарственной чувствительностью МБТ;
- с монорезистентностью к ПТП;
- с полирезистентностью к ПТП;
- со множественной лекарственной устойчивостью к ПТП;
- с широкой лекарственной устойчивостью к ПТП;

Осложнения туберкулеза: кровохарканье и легочное кровотечение, спонтанный пневмоторакс, свищи, легочно-сердечная недостаточность. У детей обычно - ателектаз, бронхолегочное поражение.

Остаточные изменения после излеченного туберкулеза органов дыхания: фиброзные, фиброзно-очаговые, буллезно-дистрофические, плевропневмосклероз, цирроз. У детей чаще - кальцинаты в легких и лимфатических узлах.

Клинические формы туберкулеза органов дыхания

Клинические формы туберкулеза различаются по локализации и клинико-рентгенологическим признакам с учетом патогенетической и патоморфологической характеристики туберкулезного процесса.

- Первичный туберкулезный комплекс;
- Туберкулез внутригрудных лимфатических узлов внелегочная локализация;
- Диссеминированный туберкулез легких;
- Очаговый туберкулез легких;
- Инфильтративный туберкулез легких;
- Казеозная пневмония;
- Туберкулема легких;
- Кавернозный туберкулез легких;
- Фиброзно-кавернозный туберкулез легких;
- Цирротический туберкулез легких;
- Туберкулезный плеврит (в том числе эмпиема);
- Туберкулез бронхов, трахеи, верхних дыхательных путей;

- Туберкулез органов дыхания, комбинированный с профессиональными пылевыми заболеваниями легких (кониотуберкулез).

Основным критерием правильности постановки диагноза остается выявление возбудителя и определение спектра чувствительности микобактерий туберкулеза к противотуберкулезным препаратам [1, 2].

Диагностика туберкулеза включает два этапа [3,4]:

- первый этап – постановка диагноза туберкулеза, для чего применяют клинические, рентгенологические, микробиологические методы, включая использование инструментальных (инвазивных) и хирургических методов получения диагностического материала.
- второй этап – определение возбудителя и определение спектра лекарственной чувствительности выделенных микобактерий.
- третий этап – оценка коморбидного статуса больного туберкулезом.

Критерии постановки диагноза туберкулеза

Установленный туберкулез – состояние, которое характеризуется сопоставимыми с туберкулезным воспалением клиническими, анамнестическими и лучевыми данными, но не имеет бактериологического и/или молекулярно-генетического подтверждения;

Верифицированный (доказанный) туберкулез – состояние, которое характеризуется сопоставимыми с туберкулезным воспалением клиническими, анамнестическими, лучевыми данными и подтверждено бактериологическим и/или молекулярно-генетическим методом.

Основным условием правильной диагностики туберкулеза является комплексное обследование пациента, анализ лабораторных и инструментальных методов исследования.

Диагноз формулируется в следующей последовательности: клиническая форма туберкулеза, локализация, фаза, бактериовыделение (с указанием лекарственной чувствительности МБТ).

Комплекс диагностики туберкулезной инфекции должен включать:

1. Наличие сведений о вакцинации против туберкулезной инфекции, данные об инфицировании *M. tuberculosis* туберкулеза, сведения о контакте с больным туберкулезом и наблюдении/лечении в противотуберкулезном диспансере ранее;

2. Оценка характерной для туберкулезной инфекции клинической симптоматики;
3. Оценка данных лучевого комплекса обследования;
4. Результаты этиологической диагностики с определением спектра чувствительности к противотуберкулезным препаратам;
5. Результаты инструментальных результатов обследования;
6. Данные морфологических исследований биоптатов;
7. Оценка коморбидного статуса пациента и оценка инструментальных методов исследования.

Анамнез заболевания

Необходимо собрать сведения о факторах риска, которые имеют значимость в развитии туберкулёзной инфекции:

- сведения о вакцинации против туберкулезной инфекции;
- данные об инфицировании *M. tuberculosis* туберкулеза;
- обследование или лечение по поводу туберкулезной инфекции ранее;
- наличие контакта с больными туберкулезом (длительность, периодичность, наличие бактериовыделения у больного туберкулезом, сведения о лекарственной устойчивости);
- сопутствующая патология с заключением соответствующих специалистов;
- наблюдение и лечение у специалистов, сведения о лечении по основному профилю заболевания.
-

Оценка состояния пациента

Проводится объективный осмотр и общая оценка состояния пациента:

- оценка физического развития, термометрия, осмотр, физикальное исследование, индекс массы тела;
- проводится оценка наличия жалоб, подозрительных в отношении туберкулеза той или иной локализации;
- оценка симптомов общей интоксикации (лихорадка, потливость, потеря массы тела, потеря аппетита, быстрая утомляемость);
- респираторной симптоматики (кашель, отделение мокроты, боли в груди, одышка, кровохарканье),
- проявлений сопутствующих заболеваний и степени функциональных расстройств;

- оцениваются жизненно важные показатели (АД, ЧСС, ЧДД), которые будут измеряться после 5-минутного отдыха в положении сидя;

Симптомами туберкулезной инфекции

Основными симптомами туберкулезной инфекции являются: слабость, наличие субфебрильной температуры, снижение массы тела более 5 кг за последнее время, повышенная утомляемость, ухудшение аппетита, повышенная потливость [5].

Слабость, повышенная утомляемость, ухудшение аппетита, похудание, раздражительность, снижение работоспособности могут быть ранними проявлениями туберкулезной интоксикации. Больные туберкулезом часто не связывают эти симптомы с заболеванием, полагая, что их появление обусловлено физическим или психическим напряжением [6,7].

Симптомы интоксикации требуют повышенного внимания, особенно у лиц, относящихся к группам риска по заболеванию туберкулезом. При углубленном обследовании таких пациентов могут быть выявлены начальные формы туберкулеза, в особенности в детском возрасте.

При туберкулезной интоксикации у детей во второй половине дня температура тела повышается на короткое время до 37,3—37,5 °С. Такие подъемы наблюдаются периодически, иногда не чаще 1—2 раз в неделю, и чередуются с длительными промежутками нормальной температуры. Реже температура тела сохраняется в пределах 37 °С при различиях между утренней и вечерней температурой примерно в один градус [8,9].

Повышение температуры тела (лихорадка) является типичным клиническим симптомом инфекционных и многих неинфекционных заболеваний. Следует отметить, что при туберкулезной инфекции температура тела может быть нормальной, а также субфебрильной и фебрильной. Больные туберкулезом обычно переносят повышение температуры тела довольно легко и часто почти не ощущают.

Необходимо оценить подъемы температуры на фоне отсутствия вирусной инфекции, сопутствующей патологии, в одно время суток без влияния физической нагрузки, с оценкой температурной реакции в одно время суток.

Устойчивый монотонный субфебрилитет с малыми колебаниями температуры в течение дня не характерен для туберкулеза и чаще

встречается при хроническом неспецифическом воспалении в носоглотке, придаточных пазухах носа, желчных путях или половых органах. Повышение температуры тела до субфебрильной может быть также обусловлено эндокринными расстройствами, ревматизмом, саркоидозом, лимфогранулематозных заболеваний, при онкологической патологии различной локализации и т.д.

Высокая лихорадка весьма характерна для остро прогрессирующих и тяжелых туберкулезных поражений (милиарного туберкулеза, казеозной пневмонии, эмпиемы плевры).

Интермиттирующая гектическая лихорадка является одним из диагностических признаков, позволяющих отличить тифоидную форму милиарного туберкулеза от брюшного тифа. В отличие от туберкулеза, при брюшном тифе температура тела имеет устойчивую тенденцию к повышению температуры.

В редких случаях у больных туберкулезом легких может быть выше вечерней. Такой тип лихорадки однозначно говорит о тяжелой интоксикации, которая может иметь и нетуберкулезную природу.

Повышенная потливость является весьма частым признаком симптомов интоксикации. Больные туберкулезом в начале заболевания нередко отмечают повышенную потливость на голове и груди в ночные или утренние часы. Резко выраженная потливость (симптом «мокрой подушки») в виде профузного пота бывает при казеозной пневмонии, милиарном туберкулезе и других его тяжелых и осложненных формах, а также при неспецифических острых инфекционных заболеваниях и обострениях хронических воспалительных процессов.

2.1 Клинико-респираторная симптоматика

Клинические методы применяют для оценки общего состояния пациента, выраженности интоксикационного, респираторного синдрома, выявления признаков различных локализаций специфического процесса, сопутствующих заболеваний, патологических и физиологических состояний.

Включает в себя сбор анамнеза, жалоб, результаты физикального обследования.

Типичные симптомы туберкулеза органов дыхания: слабость, повышенная утомляемость, ухудшение аппетита, похудание, повышение температуры тела, потливость, кашель сухой или с мокротой, одышка, боль в грудной клетке, кровохарканье [6, 7].

Активное выяснение жалоб, подозрительных в отношении туберкулеза той или иной локализации [6]:

- периодическое повышение температуры тела;
- ухудшение и/или снижение аппетита;
- снижение массы тела более чем на 5 кг в год;
- снижение активности и/или работоспособности;
- появление кашля (сухого или с мокротой), сохраняющегося более 2-х недель после проведения неспецифической антибактериальной терапии;
- периодические боли в грудной клетке,
- появление одышки;
- сохранение болевого синдрома любой локализации в течение длительного времени;
- ограничение функциональных способностей органа или системы без выявления возбудителя заболевания.

Слабость, повышенная утомляемость, ухудшение аппетита, похудание, раздражительность, снижение работоспособности могут быть ранними проявлениями туберкулезной интоксикации [6].

Больные туберкулезом часто не связывают эти симптомы с заболеванием, полагая, что их появление обусловлено чрезмерным физическим или психическим напряжением.

Респираторная симптоматика

На ранних стадиях заболевания туберкулезом кашель может отсутствовать. Иногда больные отмечают небольшое, периодически возникающее покашливание.

Кашель при туберкулезе также может быть обусловлен хроническим неспецифическим бронхитом или бронхоэктазами. Продуктивный кашель появляется у больных туберкулезом легких в случаях деструкции легочной ткани, в результате прорыва в бронхиальное дерево жидкости или гноя из полости плевры.

Мокрота у больных с начальной стадией туберкулеза часто отсутствует или ее выделение связано с сопутствующим хроническим бронхитом. После возникновения распада в легочной ткани количество мокроты увеличивается. Появление мокроты у больных туберкулезом, как правило связано с сопутствующим хроническим бронхитом [3, 8].

После возникновения распада в легочной ткани количество мокроты увеличивается. При неосложненном туберкулезе легких мокрота обычно бесцветная, гомогенная и не имеет запаха.

Присоединение неспецифического воспаления приводит к усилению кашля и значительному увеличению количества мокроты. В этих случаях мокрота может приобрести гнойный характер.

Одышка часто является первым и основным симптомом таких осложнений туберкулеза легких, как спонтанный пневмоторакс, ателектаз доли или всего легкого, тромбоэмболия в системе легочной артерии [8]. При значительном и быстром накоплении экссудата в плевральной полости одышка может возникнуть внезапно и быть резко выраженной.

Повышение температуры тела (лихорадка) является типичным клиническим симптомом инфекционных и многих неинфекционных заболеваний.

В редких случаях у больных туберкулезом легких отмечают извращенный тип лихорадки, когда утренняя температура выше вечерней. Такая лихорадка свидетельствует о тяжелой интоксикации, которая может иметь и нетуберкулезную природу.

Повышенная потливость является весьма частым признаком интоксикации. Больные туберкулезом в начале заболевания нередко отмечают повышенную потливость на голове и груди в ночные или утренние часы. Резко выраженная потливость (симптом «мокрой подушки») в виде профузного пота бывает при казеозной пневмонии, милиарном туберкулезе и других его тяжелых и осложненных формах, а также при неспецифических острых инфекционных заболеваниях и обострениях хронических воспалительных процессов.

Легочное кровотечение (*haemoptoe*) (Кровохарканье) – примесь крови в мокроте, выделяемой при кашле. Массивные легочные кровотечения чаще бывают у больных фиброзно-кавернозным, цирротическим туберкулезом легких. На фоне лечения антибиотиками широкого спектра действия состояние больного может улучшиться. Однако дальнейшее течение туберкулеза у таких больных обычно волнообразное: периоды обострения заболевания сменяются периодами затихания и относительного благополучия.

Сбор анамнеза заболевания и выявление факторов риска

Сбор данных анамнеза жизни и заболевания, сведения о результатах обследования, проведенных ранее, является особенно важными для диагностики туберкулеза и определения тактики ведения пациента.

В детском возрасте необходимо иметь следующие сведения:

- сведения о вакцинации против туберкулеза;
- сведения о результатах иммунодиагностики туберкулезной инфекции (динамика пробы Манту с 2 ТЕ и пробы с аллергеном туберкулезным рекомбинантным (проба с Диаскинтестом®; данные о проведении IGRA тестов (ELISPOT и QuantiferonTBGold/Plus и т.д.);
- контакт с больными туберкулезом (длительность, периодичность и данные о чувствительности микобактерии туберкулеза к противотуберкулезным препаратам);
- обследование и/или лечение у фтизиатра ранее;
- сопутствующая патология с заключением соответствующих специалистов;
- данные лучевого комплекса обследования в прошлые годы;
- длительное лечение какими-либо препаратами.

Сведения, которые необходимо собрать из анамнеза взрослых пациента с подозрением на туберкулез:

- наличие контакта с больными туберкулезом (длительность, периодичность, наличие бактериовыделения у больного туберкулезом, сведения о лекарственной устойчивости);
- предыдущее обследование или лечение у фтизиатра;
- сведения о результатах иммунодиагностики туберкулезной инфекции (сведения о пробе с аллергеном туберкулезным рекомбинантным (проба с Диаскинтестом®; данные о проведении IGRA тестов (ELISPOT и QuantiferonTBGold/Plus и т.д.);
- данные лучевого комплекса обследования в прошлые годы;
- наличие ВИЧ-инфекции и других инфекций;
- сопутствующая патология с заключением соответствующих специалистов (эндокринная патология, аллергологический анамнез (лекарственная и пищевая аллергия, патологическая реакция на введение лекарственных препаратов, реакции на прививки), наличие иммунодефицита (первичного или вторичного), получение терапии иммунотерапии;
- длительное лечение какими-либо препаратами;
- последнее прохождение диспансеризации или обследования у специалистов;

- пребывание в местах лишения свободы.

Особое внимание с точки зрения развития туберкулезной инфекции заслуживают:

- лица, имеющие контакт с больным туберкулезом;
- лица, живущие с ВИЧ-инфекцией;
- пациенты с первичным и вторичным иммунодефицитом;
- лица, с положительными результатами данных об иммунодиагностике (проба с Диаскинтестом®; данные о проведении IGRA тестов (ELISPOT и QuantiferonTBGold/Plus и т.д.);
- пациенты с сахарным диабетом;
- пациенты, получающие иммуносупрессивную терапию.

Важны сведения о пребывании в регионах с особенно высокой заболеваемостью туберкулезом, об участии в военных действиях, проживании больного в городе или сельской местности.

Имеют значение данные о профессии и характере работы, материально-бытовых условиях, образе жизни, употреблении алкоголя, курении, а также о пребывании в учреждениях пенитенциарной системы.

Результаты объективного обследования пациента

При осмотре детей необходимо учитывать наличие или отсутствие рубца от вакцинации БЦЖ/БЦЖ-М.

Обращают внимание на физическое развитие больного, цвет кожи и слизистых оболочек. Определяют реакцию периферических лимфоузлов. На пальцах рук и ног обращают внимание на деформацию концевых фаланг в виде барабанных палочек и изменения формы ногтей (в виде выпуклых часовых стекол).

При проведении физикальном обследовании пациентов необходимо оценить:

- оценка физического развития, термометрия, осмотр, физикальное исследование, индекс массы тела;
- проводится оценка наличия жалоб, подозрительных в отношении туберкулеза той или иной локализации;
- оценка симптомов общей интоксикации (лихорадка, потливость, потеря массы тела, потеря аппетита, быстрая утомляемость);
- респираторной симптоматики (кашель, отделение мокроты, боли в груди, одышка, кровохарканье),

- проявлений сопутствующих заболеваний и степени функциональных расстройств;
- оцениваются жизненно важные показатели (АД, ЧСС, ЧДД), которые будут измеряться после 5-минутного отдыха в положении сидя.

Ослабление дыхания характерно для плеврита, плевральных сращений, пневмоторакса.

Жесткое или бронхиальное дыхание может определяться над инфильтрированной легочной тканью, амфорическое — над гигантской каверной с широким дренирующим бронхом.

Для выслушивания влажных хрипов необходимо просить больного покашливать после глубокого вдоха—выдоха, короткой паузы, а затем вновь глубокого вдоха. При этом на высоте глубокого вдоха появляются хрипы или увеличивается их количество. Наличие определенной клинической симптоматики позволяет судить о состоянии пациента и определяет тактику его ведения.

Список литературы

1. Tuberculosis surveillance and monitoring in Europe 2017 (WHO, 2017)
2. Ресурсы и деятельность противотуберкулёзных организаций Российской Федерации в 2021–2022 гг. (статистические материалы) / И.А. Васильева, С.А. Стерликов, В.В. Тестов, Ю.В. Михайлова, Н.А. Голубев, Д.А. Кучерявая, А.В. Гордина, С.Б. Пономарёв. М.: РИО ЦНИИОИЗ, 2023. – 92 с.
3. Яблонский П.К. Фтизиатрия. Национальные клинические рекомендации. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2015; 240.
4. WHO. Definitions and reporting framework for tuberculosis—2013 revision Geneva: World Health Organization, 2013. revision: updated December 2014 and January 2020. -40p. ISBN-9789241505345.
5. Фтизиатрия. Перельман М.И., Корякин В.А., Богодельникова И.В., 2004. ОАО "Издательство Медицина", 520 с. ISBN 5-225-04082-9
6. Клинические рекомендации «Туберкулез у взрослых», 2022.
7. Клинические рекомендации «Туберкулез у детей», 2022.
8. Фтизиатрия. национальное руководство / под ред. М.И. Перельмана. - М. ГЭОТАР-Медна, 2007. - 512 с. SBN 978-5-9704-0497-3. Новиков Ю.К. Мукоцилиарный транспорт, как основной механизм защиты легких. РМЖ. 2007;5:357.
9. Туберкулез органов дыхания у детей и подростков: рук. для врачей/ под ред. А.Э. Эргешова, Е.С.Овсянкиной, М.Ф.Губкиной. М., 2019. -524 с.

2.2 Методы иммунодиагностики туберкулезной инфекции

Ранняя диагностика туберкулезной инфекции по праву стоит на первом месте, что обусловлено возможностью контролировать распространение инфекции и предотвращать развитие заболевания у лиц, инфицированных микобактериями туберкулеза. В настоящее время у нас есть возможность определить этап инфицирования микобактериями и далее развития туберкулезной инфекции.

К методам иммунодиагностики туберкулёзной инфекции в настоящее время можно отнести следующие методы: проба Манту с 2 ТЕ и пробы с аллергеном туберкулезным рекомбинантным (проба с Диаскинтестом®; данные о проведении IGRA тестов (ELISPOT и QuantiferonTBGold/Plus и т.д.) [1].

Туберкулинодиагностика

В 1890 году на X Международный конгресс в Берлине профессор Р. Кох представил доклад об открытом им лечебном средстве против туберкулеза – туберкулине [2, 3]. Первым человеком, которому Кох сделал инъекцию «туберкулина» или водно-глицериновой вытяжки туберкулезных культур, был он сам, вторым - его вторая жена 17-тилетняя художница Хедвига Фрайберг (1893 год) (Рисунок 1).



Рисунок 1 - Водно-глицериновая вытяжка туберкулезных культур и введение туберкулина больному туберкулёзом

Семнадцать лет спустя австрийский педиатр Клеменс Пирке ассистент иммунолога Пауля Эрлиха разработал туберкулиновую пробу и стал применять его как диагностический тест (Рисунок 2).



Рисунок 2 - Педиатр Клеменс Пирке усовершенствовал применение туберкулина

Австрийский аристократ, педиатр, Клеменс Пирке получивший прекрасное образование в ведущих университетах Европы. В 1906 г. ввел термин «аллергия». В 1907 году Клеменс Пирке продемонстрировал медицинской общественности туберкулиновую пробу: в царапину на предплечье пациента втирался туберкулин, по реакции кожи судили об инфицировании микобактериями туберкулеза (Рисунок 3).

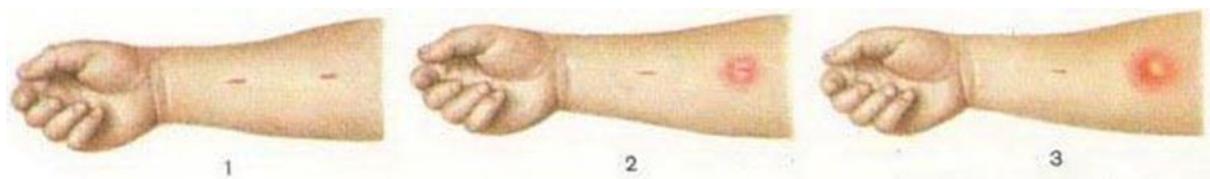


Рисунок 3 - Проба Пирке

Позже в Российской Федерации для проведения индивидуальной туберкулинодиагностики широко применялась градуированная кожная проба (ГКП) Карпиловского-Воробьева с введением на кожу 1, 5, 25, 100% раствора туберкулина и далее скарификацией (Рисунок 4).



Рисунок 4- градуированная кожная проба (ГКП) Карпиловского-Воробьева

Проба считалась положительной при получении реакции на все растворы. В 1908 году Шарль Манту разработал тест для исследования на туберкулёз крупного рогатого скота, свиней и лошадей (Рисунок 4).



Рисунок 4 - французский медик Шарль Манту предложил использовать туберкулин внутрикожно

Шарль Манту доказал, что его тест с внутрикожным введением туберкулина более чувствительны, чем более ранние опыты К. Пирке с подкожным введением вещества (Рисунок 5). Далее пробу Пирке позже заменило подкожное введение туберкулина по методике Шарля Манту.

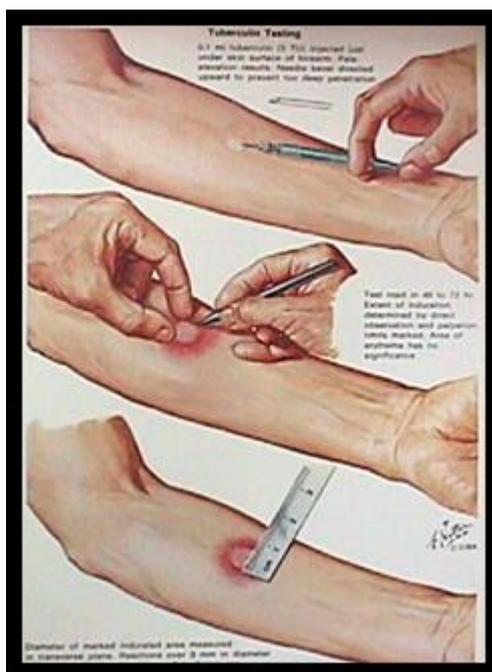


Рисунок 5 – методика проведения пробы Манту

В 1932 году был произведен очищенный туберкулин, при введении которого был значительно снижен процент аллергических реакций на введение вещества.

Многие страны включились в процесс усовершенствования методики, в том числе США и СССР. Только спустя двадцать лет, в 1953 году, проба Манту с 2 ТЕ была рекомендована ВОЗ. В 1965 году PPD (*purified protein derivative*), то есть PPD-L - белковый раствор для внутрикожного введения, с модификацией отечественного ученого М.А. Линниковой был внедрен в СССР [4].

В 1939 году внедряется массовая туберкулинодиагностика, которая применяется до настоящего времени у детей до 8 лет, что обусловлено необходимостью отбора детей на ревакцинацию БЦЖ.

Массовая туберкулинодиагностика позволяет определить период раннего инфицирования микобактериями ребенка и применить далее индивидуальную иммунодиагностику для проведения дифференциальной диагностики поствакциной и инфекционной аллергии и далее определения активности туберкулезной инфекции.

Проведение вакцинопрофилактики против туберкулеза, которая обоснована у детей раннего возраста, является одним из основных факторов, влияющих на сложности в выявлении инфекционной аллергии после инфицирования микобактериями туберкулеза. Введение ослабленного штамма микобактерий *M.bovis BCG* обеспечивает получение положительного

результата при введении туберкулина аналогично при инфицировании другими видами микобактерий [5].

Туберкулин является белковым раствором, который не может вызвать инфекционного процесса, а только вызывает специфическую аллергическую реакцию замедленного типа, которая проявляется не ранее чем через 72 часа. В препарате отсутствуют балластные примеси, однако он может содержать их в незначительно-минимальных количествах, что может влиять на результат реакции в первые и во вторые сутки от момента введения.

В составе туберкулина более 200 антигенов, которые широко распространены среди туберкулезных и нетуберкулезных микобактерий. В результате этого положительный иммунный ответ на введение туберкулина наблюдается у лиц, сенсibilизированных нетуберкулезными микобактериями (НТМ) или вакцинированных БЦЖ [6].

Трудности проведения дифференциальной диагностики поствакциной и инфекционной аллергии, влияние сопутствующей патологии на чувствительность к туберкулину, что не позволяло качественно проводить раннюю диагностику туберкулезной инфекции и побуждали к усовершенствованию методов углубленной туберкулинодиагностики [7,8, 9] (Рисунок 6).

Основные проблемы туберкулинодиагностики



Рисунок 6 – Проблемы туберкулинодиагностики туберкулезной инфекции

Внедрение методов туберкулинодиагностики направлено на определение активности туберкулезной инфекции, чем обусловлено активное развитие и создание новых методов иммунодиагностики туберкулезной инфекции (рисунок 7).

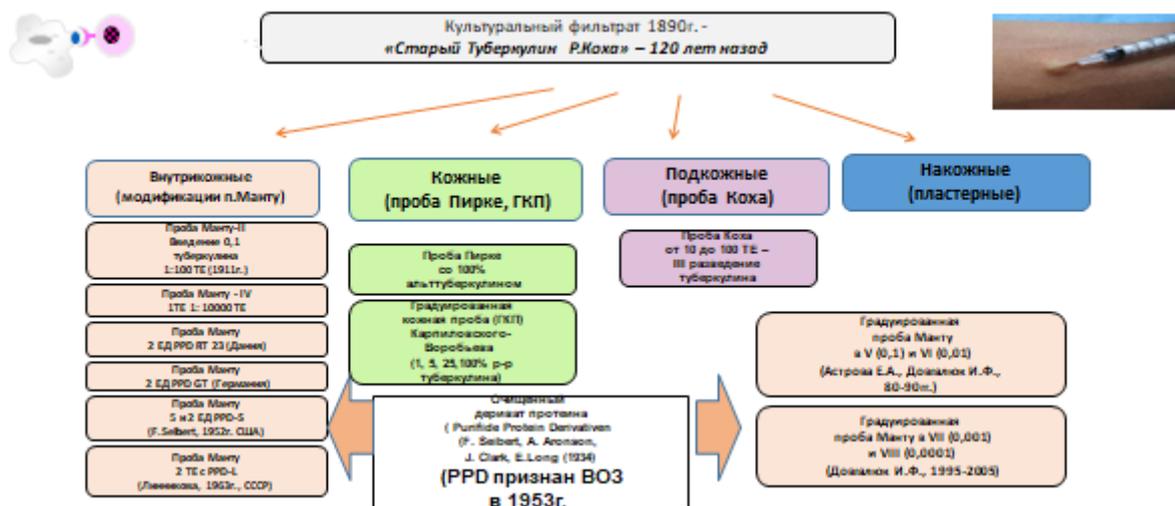


Рисунок 7 – Развитие туберкулинодиагностики [4]

Учеными СПб НИИ фтизиопульмонологии начаты Е.А. Астровой и продолжены под руководством профессор Довгалюк И.Ф. исследования по усовершенствованию туберкулинодиагностики. Разработана градуированная проба Манту с различными разведениями туберкулина. Применялась проба Манту в V (0,1), VI (0,01), VII (0,001) и VIII (0,0001) разведениях для диагностики туберкулезной инфекции [9].

В середине 90-х годов методы углубленной туберкулинодиагностики были изучены у детей с генерализованным туберкулезом (М.Н. Кондакова), с локальными формами туберкулеза внутригрудных лимфоузлов (Ю.Э. Овчинникова, А.А. Старшиновой и С.Н. Ефремовой). Разработка новых методов туберкулинодиагностики подтверждала постоянную необходимость поиска в детской фтизиатрии более эффективных методов определения активности туберкулезной инфекции.

В настоящее время проба Манту с 2 ТЕ рекомендована к применению во всех странах мира, в том числе для диагностики латентной туберкулезной инфекции в странах с низким и средним уровнем жизни [10].

Проба Манту с 2ТЕ

Аллерген туберкулезный очищенный жидкий (очищенный туберкулин в стандартном разведении) - готовые к употреблению растворы туберкулина. Препарат представляет собой раствор очищенного туберкулина в фосфатном буфере с твином-80 в качестве стабилизатора и фенолом в качестве консерванта - бесцветная прозрачная жидкость.

Препарат выпускают в ампулах в виде раствора, содержащего 2 ТЕ ППД-Л в 0,1 мл. Возможен выпуск 5 ТЕ, 10 ТЕ в 0,1 мл и других дозировок препарата.

В Российской Федерации проводится ежегодный скрининг на туберкулез детского населения с целью выявления раннего инфицирования микобактериями и для отбора детей на ревакцинацию БЦЖ с применением внутрикожной пробы с аллергеном туберкулезным очищенным в стандартном разведении (проба Манту с 2 ТЕ) – массовая туберкулинодиагностика. Проба Манту с 2 ТЕ при массовом скрининге рекомендована к применению у детей с 1 до 7 лет включительно [7].

Оценка результатов пробы Манту с 2 ТЕ проводится через 72 часа после введения внутрикожно пробы с аллергеном туберкулезным очищенным в стандартном разведении по следующим критериям:

- отрицательная (полное отсутствие инфильтрата-папулы и гиперемии; уколочная реакция 0 – 1 мм);
- сомнительная (инфильтрат-папула 2 – 4 мм или только гиперемия любого размера без инфильтрата);
- положительная (инфильтрат-папула диаметром 5 мм и более).

Положительная проба Манту с 2ТЕ подразделяется на следующие варианты:

- слабоположительная (папула 5 – 9 мм);
- средней интенсивности (папула 10 – 14 мм);
- выраженная (папула 15 – 16 мм);
- гиперергическая (у детей и подростков папула 17 мм и более, у взрослых папула 21 мм и более; или папула любого размера при наличии везикуло-некротической реакции, лимфангоита, отсевов).

Согласно последним рекомендациям ВОЗ (2022), результаты пробы Манту с 2 ТЕ должны учитываться у некоторых пациентов [1].

Результаты пробы Манту с 2 ТЕ являются показанием для дообследования:

- при папуле 5 мм

- у лиц, живущих с ВИЧ
- у сильно истощенных детей;

- у лиц, имеющих недавний контакт человека с заболеванием туберкулезом легких
- у пациентов с почечной недостаточностью (диализ);
- при силикозе
- у пациентов, проходящие подготовку к трансплантации паренхиматозных органов и другие лица с ослабленным иммунитетом, принимающие цитотоксические агенты такие как циклофосфамид или метотрексат;
- у людей с ослабленным иммунитетом по другим причинам (например, из-за приема эквивалент >15 мг/день преднизолона в течение 1 месяца или дольше, или прием антагонистов ФНО- α)

- при папуле 10 мм:

- Недавние иммигранты (в течение 5 лет) из стран с высокой распространенностью
- Люди с расстройством, связанным с употреблением алкоголя, и потребители инъекционных наркотиков
- Жители и сотрудники мест скопления людей с высоким уровнем риска (например, тюрьмы, дома престарелых, больницы и медицинские учреждения, а также приюты для бездомных)
- Люди с клиническими состояниями, которые подвергают их высокому риску (например, сахарный диабет, длительная терапия кортикостероидами, лейкемия, почечная недостаточность в терминальной стадии болезни, хронические синдромы мальабсорбции и низкая масса тела) недоедание
- Медицинский персонал
- Дети в возрасте до 5 лет или дети и подростки подвергается воздействию взрослых в категориях высокого риска - при папуле 15 мм:
- Низкий риск, а здоровых лиц без специфических эпидемиологических или клинические факторы риска.

Данные группы пациентов в настоящее время должны пройти специфическое обследование. В настоящее время комплекс обследования должен обязательно включать новые методы иммунодиагностики, которые внедрены в практику за последние десятилетия. Особую значимость данные методы имеют в странах, где проводится вакцинопрофилактика туберкулезной инфекции.

Новые методы иммунодиагностики

Развитие иммуногенетики и расшифровка в 1998 году генома *M. tuberculosis*, *M. bovis* и *M. bovis BCG* с открытием специфических пептидов ESAT-6 и CFP-10 послужили началом новой эры иммунодиагностики туберкулеза: закончился практически безальтернативный столетний период применения туберкулиновых проб и начался период внедрения иммунологических тестов нового поколения [3] (Рисунок 8).

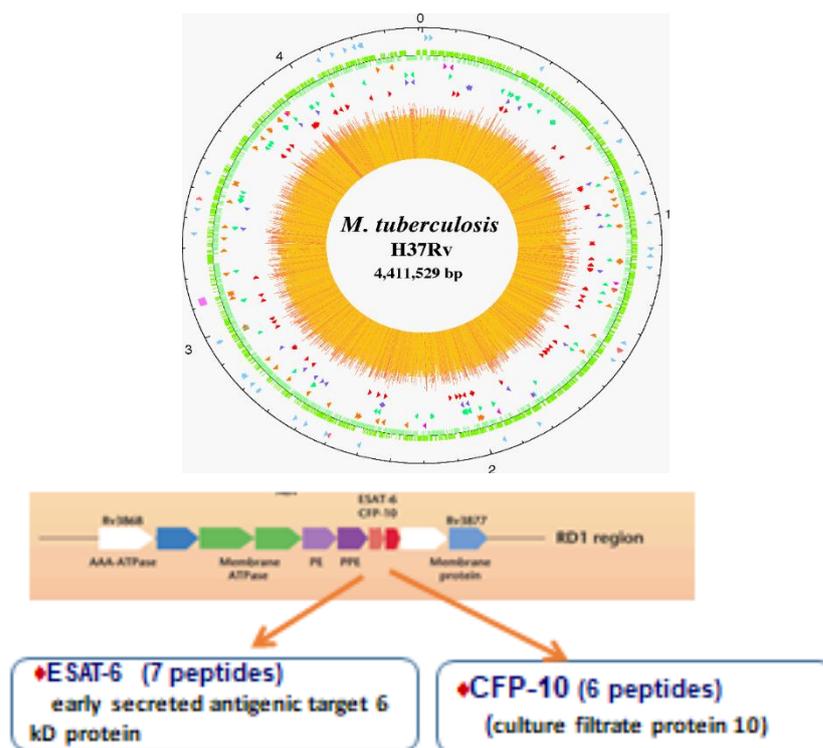


Рисунок 8 – Геном *M. tuberculosis* и специфические пептиды ESAT-6 и CFP-10 [3]

Хромосома *M. tuberculosis* представляет собой тороидальную структуру — свыше 4000 генов, кодирующих белки, плюс 60, кодирующих функциональные компоненты РНК: уникальный рибосомальный РНК-оперон, 10Sa РНК, участвующий в деградации белков с нетипичной матричной РНК, 45 транспортных РНК (тРНК), около 100 липопротеинов [1].

Механизм получения специфической реакции при проведении иммунодиагностики с применением тестов нового поколения основан на применении пептидов ESAT-6 и CFP-10 (Рисунок 8).

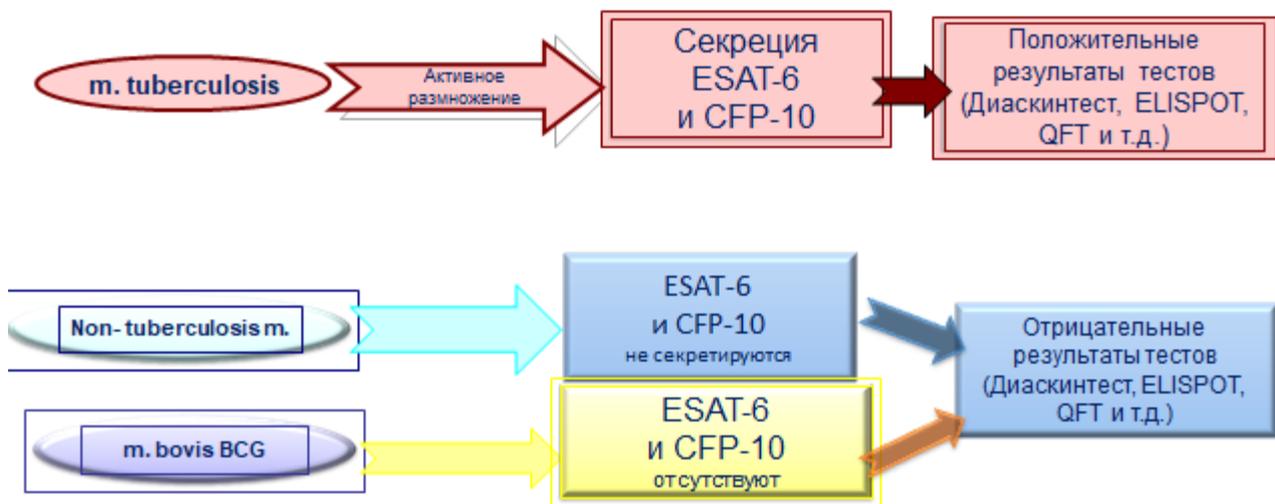


Рисунок 8 - Механизм действия иммунологических тестов нового поколения

Применение данных пептидов позволило получить высокую специфичность и чувствительность новых иммунологических тестов, развитие которых продолжается до настоящего времени [10].

Новые методы ранней диагностики туберкулезной инфекции, а именно латентной туберкулезной инфекции (ЛТИ), разработаны с учетом современных технологий и стали широко внедряться в Российской Федерации, в странах Европейского региона и США. Условно тесты можно разделить на две группы: тесты *in vitro* и *in vivo* (Рисунок 9).



Рисунок 9 – Методы иммунодиагностики туберкулезной инфекции

IGRA-тесты (*interferon gamma release assay*) – иммунологические методы основанные на определении интерферона- γ (IFN γ), секретируемого под воздействием специфических антигенов.

ELISPOT

Первым тестом, основанным на количественной определении сенсibilизированных Т-лимфоцитов в ответ на стимуляцию пептидными антигенами (ESAT-6 (*early-secreted antigenic target*), CFP-10 (*culture filtrate protein*)), которые присутствуют в нуклеотидной последовательности *M. tuberculosis*, но при этом отсутствуют у *M.bovis BCG* и большинства нетуберкулезных микобактерий (кроме *M.kansasii*, *M.marinum*, *M.szulgai*) (Рисунок 10).



Рисунок 10 - ELISPOT

Продукт (ELISPOT тест) был лицензирован в Европейском Союзе в июле 2004 года, получил одобрение в США в июле 2008 года. Проведенные исследования показали, что диагностическая чувствительность и специфичность теста достигает 90-98% [11]. В особенности тест зарекомендовал себя как наиболее эффективный при определении активности туберкулезной инфекции на фоне ВИЧ-инфекции, что обеспечивается за счет стимуляции непосредственно CD4-лимфоцитов [5].

Практически одновременно в США был разработан и внедрен альтернативный иммунологический тест - QuantiFERON-TB, который основан на определении уровня интерферона IFN- γ после стимуляции сенсibilизированных Т-клеток аналогичными специфическими пептидами (ESAT-6, CFP-10).

QuantiferON®-TB Gold In-Tube (QFT)

Тест для диагностики туберкулеза *in vitro* QuantiferON® Gold ELISA (QFT), зарегистрирован в РФ с 2010г. (рег. КРД №5393 от 02.02.10 приказом Росздравнадзора от 04.03.10 №1682-Пр/10). Основан на оценке продукции интерферона гамма (IFN- γ) после стимуляции сенсibilизированных Т-клеток смесью специфических пептидов (ESAT-6, CFP-10 и TB7.7). Проводится количественное определение интерферона гамма (IFN- γ) методом иммуноферментного анализа (ELISA, ИФА (Рисунок 11)).



Рисунок 11 - QuantiferON-TBPlus тест

В 2014 году IGRA-тесты (*Interferon Gamma Release Assay*) были впервые рекомендованы ВОЗ в первом руководстве по управлению и диагностике латентной туберкулезной инфекцией [1].

Параметры диагностической эффективности теста несколько ниже, чем у ELISPOT. По данным разных авторов, они составляют 78-89%, в том числе на фоне ВИЧ – инфекции, что послужило толчком для разработки уже более современного теста QuantiferON-TBPlus, основанного на стимуляции CD8 клеток, который в настоящее время проходит этап клинических исследований [11, 12].

Во многих зарубежных исследованиях проводился анализ эффективности данных тестов (QuantiferON-TB и ELISPOTa) и сравнение их значимости с пробой Манту с 2ТЕ. В исследованиях, в том числе отечественными учеными, была доказана высокая информативность IGRA-тестов.

QuantiferON-TB Gold Plus (QFT-Plus)

Данный тест основан на стимуляции специфическими пептидами CD8+ Т-клеток и определении клеточного ответа на пептидные антигены ESAT-6 и

CFP-10 по уровню IFN- γ в цельной крови человека. Расширены новые диагностические возможности теста, что позволяет достичь высокой информативности, которая ранее не изучалась.

Тест позволяет решить вопрос о выявлении различий между активной и латентной туберкулезной инфекцией, что важно для назначения превентивной противотуберкулезной терапии. По результатам исследования тест был внедрен в 2015 году.

В 2022 году был рекомендован новый ELISA-тест WANTAI TB-IGRA, разработанный в Китае. WANTAI TB-IGR имеет характеристики, аналогичные QFT-Plus [1].

Проба с аллергеном туберкулезным рекомбинантным (ДИАСКИНТЕСТ®)

В Российской Федерации тесты начали исследовать и применять с 2012 года. Российские ученые по праву могут считаться новаторами в разработке тестов *in vivo*. Первыми в мире группа специалистов НИИ молекулярной медицины Московской Медицинской Академии им. И.М. Сеченова под руководством академика РАМН и РАН Пальцева М.А. и член-корреспондента РАН профессора Киселева В.И. разработали и в 2008 году с успехом провели клинические исследования нового кожного теста с введением аллергена туберкулезного рекомбинантного (Диаскинтест) (Рисунок 12). В качестве антигена в тесте используются белки ESAT-6 и CFP-10, отсутствующие у *M. bovis BCG*, что в 100% случаев помогает отличить поствакцинную аллергию от инфекционной [14].



Рисунок 12 – Проба с Диаскинтестом для дифференциальной диагностики поставочной и инфекционной аллергии

По результатам клинических исследований было показано, что специфичность теста находится в доверительном интервале от 90 до 100%. Препарат не вызывает реакции, связанной с БЦЖ. Неспецифической аллергии на Диаскинтест не выявлено. В 98-100% случаев при введении препарата Диаскинтест в дозе 0,2 мкг в 0,1 мл вызывает аллергическую реакцию замедленного типа у больных туберкулезом, а также у инфицированных микобактериями туберкулеза [15].

Результаты исследования доказали, что кожная проба с Диаскинтестом обладает 100% специфичностью прежде всего в дифференциальной диагностике поствакциной и инфекционной аллергии. Тест показал высокую информативность в диагностике при нетуберкулёзных заболеваниях лёгких у взрослых (94,6%) и у детей (100%); при внелегочных процессах нетуберкулёзной природы у взрослых (98,5%) и после излеченных внелегочных форм заболевания (100,0%). Чувствительность теста тоже оказалась достаточной высокой как в детской практике (у детей и подростков с нелеченым туберкулёзом органов дыхания - 97,3%), так и у взрослых при туберкулезе органов дыхания (84,2%) и при внелёгочных локализациях (89,7%) [15].

В условиях массового скрининга туберкулезной инфекции необходимо учитывать рост сопутствующей патологии у детей. Необходимо учитывать, что у детей с отягощённым аллергологическим анамнезом и ожирением положительный результат по пробе с Диаскинтестом в определенном проценте случаев может не подтверждаться данными IGRA – тестов (ELISPOT и QuantiFERON Gold), что требует дифференцированного подхода в выборе теста (Рисунок 13).



Рисунок 13 – Дифференцированный подход к выбору метода иммунодиагностики туберкулезной инфекции

Очевидно, что разработка и внедрение пробы с Диаскинтестом является значимым этапом в развитии иммунодиагностики туберкулезной инфекции.

Благодаря проведенным исследованиям проба с Диаскинтестом была признана ВОЗ и включена в рекомендации [1] (Рисунок 14).

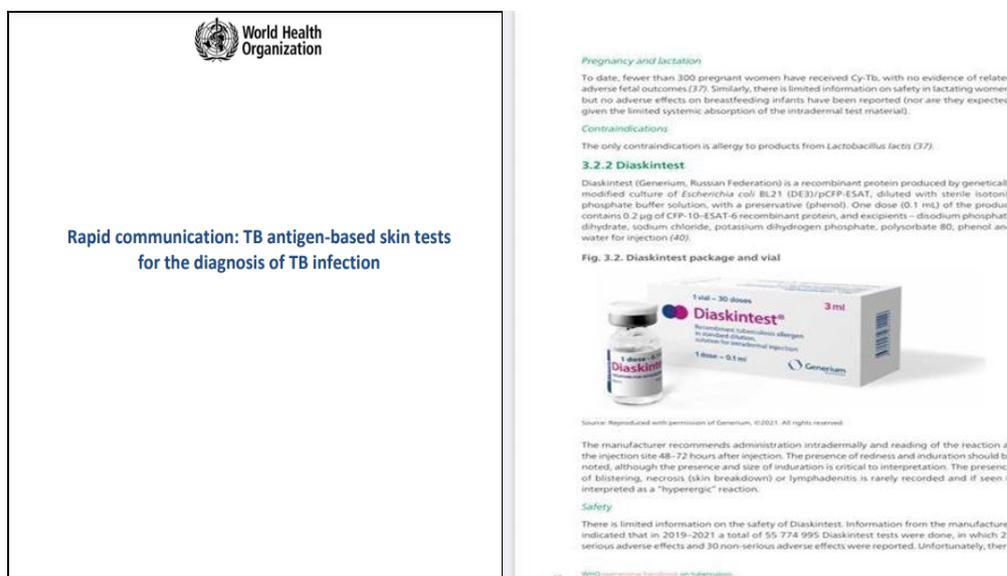


Рисунок 14 – Рекомендации ВОЗ с включением пробы с Диаскинтестом

Сегодня проба с Диаскинтестом является признанным в мировой практике тестом, сопоставимым по своей информативности с тестами, проводимыми *in vitro*.

Техника постановки и оценки внутрикожной пробы с аллергеном туберкулезным рекомбинантным

Техника постановки внутрикожной пробы с аллергеном туберкулезным рекомбинантным в стандартном разведении (белок CFP10-ESAT6 0,2мкг) (Диаскинтест®) идентична постановке пробы Манту с 2ТЕ и представлена в инструкции по применению препарата (инструкция по применению препарата ДИАСКИНТЕСТ® утверждена 19.06.2008 г. Регистрационный номер ЛСР–006435/08 от 11.08.2008 г).

При внутрикожном введении аллерген туберкулезный рекомбинантный вызывает у лиц с туберкулезной инфекцией специфическую кожную реакцию, являющуюся проявлением гиперчувствительности замедленного типа. Результат пробы оценивают через 72 ч с момента ее проведения, путем измерения поперечного (по отношению к оси предплечья) размера гиперемии

и инфильтрата (папулы) в миллиметрах прозрачной линейкой. Гиперемию учитывают только в случае отсутствия инфильтрата.

Оценка пробы с ДИАСКИНТЕСТ®:

- отрицательная – при полном отсутствии инфильтрата и гиперемии или при наличии «уколочной реакции» до 2-3 мм (возможно в виде «синячка»);
- сомнительная – гиперемия любого размера;
- положительная – при наличии инфильтрата (папулы) любого размера.

Данный тест может использоваться для диагностики ЛТИ и уточнения диагноза туберкулеза.

Организация обследования на латентную туберкулезную инфекцию.

Обследование лиц на ЛТИ может проводиться в учреждениях первичной медико-санитарной помощи (ПМСП).

Медицинские организации должны обеспечить:

- доступность обследования вне зависимости от географических особенностей мест проживания или социального статуса пациента;
- использование методов исследования с доказанной эффективностью с целью наиболее полного удовлетворения требований к качеству диагностики и контроля лечения лиц с ЛТИ,
- высокое качество, экономическую эффективность и безопасность лабораторных исследований;

Организация должна обеспечивать получение результатов исследования в кратчайшие сроки и их наибольшую достоверность, возможные при применении методов последнего поколения и внедрением системы управления качеством во всех лабораториях, проводящих исследования для подтверждения состояния ЛТИ и исключения диагноза «туберкулез» при получении положительного результата на иммунологический тест, вне зависимости от уровня подчиненности и вида исследований.

Положительный результат иммунологического теста (проба с Диаскинтестом, IGRA-теста) диктует необходимость направления пациента в противотуберкулезное учреждение с целью проведения диагностики активного туберкулеза [17].



Рисунок 17 - проба с аллергеном туберкулезным рекомбинантным (проба с Диаскинтестом®)

Обследование детей из групп риска

На участке врача-педиатра рекомендовано выделение групп риска, подлежащих обследованию на туберкулез 2 раза в год.

Иммунодиагностика проводится 2 раза в год детям, имеющим следующие заболевания/состояния:

- 1) отсутствие вакцинации против туберкулеза – обследование детей проводится, начиная с возраста 6 месяцев;
- 2) сахарный диабет, язвенная болезнь;
- 3) хронические неспецифические заболевания бронхолегочной и мочевыводящей систем;
- 4) ВИЧ-инфекция;
- 5) длительный прием (более 1 месяца) иммуносупрессорной терапии (цитостатические препараты, кортикостероиды);
- 6) прием генно-инженерных биологических препаратов (блокаторов фактора некроза опухоли-альфа).

Противопоказания к проведению внутрикожных проб

- кожные заболевания;
- острые, хронические инфекционные и соматические заболевания в период обострения;
- аллергические заболевания в период обострения;
- карантин по детским инфекциям в детских коллективах (до снятия карантина);
- индивидуальная непереносимость туберкулина или АТР.

Показания к направлению к фтизиатру

- 1) впервые положительная реакция на пробу Манту с 2 ТЕ, не связанная с предшествующей вакцинацией против туберкулеза («вираж»);
- 2) усиливающаяся чувствительность к туберкулину;
- 3) выраженная и гиперергическая чувствительность к туберкулину;
- 4) сомнительные и положительные реакции на АТР;
- 5) положительные реакции на тесты *in vitro*, основанные на высвобождении Т-лимфоцитами ИФН- α в ответ на специфические антигены МБТ
- 6) контакт с больным туберкулезом;
- 7) наличие соответствующих жалоб;
- 8) наличие изменений по данным рентгенологического обследования

Выбор метода иммунодиагностики с учетом сопутствующей патологии

Выбор иммунологического метода зависит от наличия сопутствующей патологии и приверженности пациента к тому или иному методу (*in vivo* или *in vitro*):

- наличие отягощенного аллергологического анамнеза и аллергических реакций к компонентам тестов может быть причиной провокации обострения заболевания и/или получения ложноположительной реакции на тест *in vivo*, что требует применения альтернативных методов - IGRA-тестов;
 - лицам, живущим с ВИЧ-инфекцией, при уровне CD4⁺ более 350 кл/мкл предпочтительнее проведение диагностики ЛТИ с применением IGRA-тестов;
 - лицам, живущим с ВИЧ-инфекцией, при уровне CD4⁺ менее 350 клеток/мкл проведение диагностики ЛТИ возможно только с применением IGRA-тестов, где предпочтение отдается Т.-SPOT. ТВ *тесту* с учетом характеристик диагностикум;
 - лицам, получающим лучевую, цитостатическую, системную глюкокортикостероидную терапию, иммуносупрессивные генно-инженерные биологические препараты предпочтительнее проводить диагностику ЛТИ с применением IGRA-тестов;
 - пациентам с первичным или вторичным иммунодефицитом предпочтительнее проводить диагностику ЛТИ с применением IGRA-тестов;
- Положительный результат иммунологического теста является показанием для направления из медицинского учреждения общей лечебной сети на консультацию к фтизиатру и проведением комплексного обследования с применением всех методов этиологической, лучевой и инвазивной диагностики туберкулеза.

Действия специалиста при отказе родителей (законных представителей) ребенка от постановки кожных тестов

При отказе родителей (законных представителей) ребенка или от внутрикожных проб (Манту с 2 ТЕ, АТР), возможно назначение альтернативных методов обследования с целью исключения туберкулеза у ребенка.

К альтернативным методам обследования на туберкулезную инфекцию относятся диагностические тесты *in vitro*, основанные на высвобождении Т-лимфоцитами ИФН- α (гаммаинтерферон) (QuantiFERON®-TB Gold и ELISPOT).

При письменном согласии родителей (иного законного представителя) возможно проведение рентгенологического исследования – обзорной рентгенограммы органов грудной клетки (согласно Методическим рекомендациям по совершенствованию диагностики и лечения туберкулеза органов дыхания, утвержденным Приказом Министерства Здравоохранения РФ от 29 декабря 2014 г. № 951, для исключения туберкулеза органов дыхания используется обзорная рентгенография грудной клетки).

Сведения для консультации фтизиатра

При направлении детей к врачу-фтизиатру предоставлять следующие сведения:

- о вакцинации (ревакцинации) против туберкулеза (БЦЖ, БЦЖ-М);
- результаты предыдущих иммунологических тестов;
- о контакте с больными туберкулезом;
- результаты флюорографического обследования окружения ребенка;
- перенесенные хронические и аллергические заболевания;
- предыдущие обследования у фтизиатра;
- наличие сопутствующей патологии (по заключению врачей-специалистов).

Далее необходимо проведение комплексного фтизиатрического обследования для исключения активной туберкулёзной инфекции с применением бактериологических, лучевых и инвазивных методов.

Список литературы

10. WHO operational handbook on tuberculosis. Module 3: diagnosis. Tests for tuberculosis infection. Geneva: World Health Organization; 2022
11. Centers for Disease Control and Prevention. Latent Tuberculosis Treatment Guidelines: 2020 Update. 2020. Available online: <https://www.cdc.gov/tb/publications/ltni/pdf/LTBIbooklet508.pdf> (accessed on).
12. Consensus Meeting Report: Development of a Target Product Profile (TPP) and a framework for evaluation for a test for predicting progression from tuberculosis infection to active disease, 2017- 32p. <http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/259176/WHO-HTM-TB-2017>.
13. Старшинова А.А., Кудлай Д.А., Довгалюк И.Ф., Басанцова Н.Ю., Зинченко Ю.С., Яблонский П.К. Эффективность применения новых методов иммунодиагностики туберкулезной инфекции в Российской Федерации (обзор литературы). Педиатрия им. Сперанского. - 2019 - №4 – 274-279.
14. Старшинова А.А., Довгалюк И.Ф., Яблонский П.К. Иммунодиагностика туберкулеза: десятилетний опыт применения иммунологических тестов в России. Туберкулез и болезни легких, 2019;5:58 -65.
15. Хан Х. Глобальная угроза инфекций и Роберт Кох, основатель медицинской микробиологии и ученый с мировым именем. Медицинский альянс. 2016; 3: 6-18.
16. Слогодская Л. В. Кожные иммунологические пробы при туберкулезе – история и современность. Туберкулез и болезни легких. 2013; 5: 39-46.
17. Аксёнова В.А., Барышникова Л.А., Долженко Е.Н., Кудлай Д.А. Актуальные вопросы массового обследования детского населения на туберкулез в современных условиях. Доктор.Ру. 2012; 8 (76): 27-29.
18. Старшинова А.А., Корнева Н.В., Довгалюк И.Ф. Современные иммунологические тесты в диагностике туберкулеза внутригрудных лимфатических узлов у детей. Туберкулез и болезни легких. 2011; 88 (5): 170-171.
19. Руководство по управлению латентной туберкулезной инфекции (ВОЗ, 2014г.) <http://apps.who.int/medicinedocs/documents/s21682ru/s21682ru.pdf>
20. Haustein T, Ridout DA, Hartley JC, Thaker U, Shingadia D, Klein NJ, et al. The likelihood of an indeterminate test result from a whole-blood interferon-gamma release assay for the diagnosis of Mycobacterium tuberculosis infection in children correlates with age and immune status. Pediatr Infect Dis J. 2009;28(8):669-73.
21. Bruzzese E, Bocchino M, Assante LR, Alessio M, Bellofiore B, Bruzzese D, et al. Gamma interferon release assays for diagnosis of tuberculosis infection in immune-compromised children in a country in which the prevalence of tuberculosis is low. Journal of Clinical Microbiology. 2009;47(7):2355-7.

22. Starshinova A., Dovgaliuk I., Korneva N., Ovchinnikova U., Yakunova O., Potapenco E., Shulgina M., Zilber E., Yablonskii P. Efficiency of Immunological Methods in the Diagnosis of Active Tuberculosis in Children. *Journal of US-China Medical Science*. 2014; 11(2): 61-67.
23. Киселев В.И., Барановский П.М., Пупышев С.А. и др. Новый кожный тест для диагностики туберкулеза на основе рекомбинантного белка ESAT-CFP. *Мол. мед.* 2008; 4: 28–34.
24. Киселев В.И., Барановский П.М., Рудых И.В. и др. Клинические исследования нового кожного теста «ДИАСКИНТЕСТ®» для диагностики туберкулеза. *Пробл. туб. и болезней легких*. 2009; 2: 1–8.
25. Слогоцкая Л.В., Кочетков Я.А., Сенчихина О.Ю. Эффективность нового кожного теста (Диаскинтест) при выявлении инфицированных и заболевших подростков среди контактировавших больных туберкулезом. *Вопросы современной педиатрии*. 2011. Т. 10. № 3. С. 70-75. *Вопросы современной педиатрии*. -2011.-Т.10 (3). -С.70-75
26. Аксенова В.А., Барышникова Л.А., Сокольская Е.А. Новые возможности диагностики туберкулезной инфекции у детей и подростков. *Российский вестник перинатологии и педиатрии*. 2011. Т. 56. № 4. С. 90-96.
27. Слогоцкая Л.В., Литвинов В.И., Филиппов А.В., Кочетков Я.А., Сельцовский П.П., Стахеева Л.Б., Шустер А.М., Мартьянов В.А., Дёмин А.В. Чувствительность нового кожного теста (Диаскинтеста®) при туберкулезной инфекции у детей и подростков. *Туберкулез и болезни легких*. 2010; 87(1):10-15.

2.3. Лучевой комплекс обследования в диагностике туберкулеза

Своевременная диагностика заболеваний органов дыхания - залог эффективного лечения этих заболеваний.

Во фтизиатрии применяют рентгенологические и ультразвуковые методы, радионуклидное сканирование, магнитно-резонансную томографию. В дифференциальной диагностике может иметь значение и позитронная эмиссионная томография (ПЭТ).

Задачи лучевых методов в диагностике туберкулеза:

- установить локализацию туберкулезного процесса
- распространенность процесса
- определение клинической формы туберкулеза
- оценка активности процесса
- мониторинг и контроль результатов лечения
- проведение дифференциальной диагностики

Методы рентгенографии для диагностики туберкулеза

- флюорография
- рентгенография органов грудной клетки
- компьютерно-томографическое обследование
- магнитно-резонансная томография
- позитронная эмиссионная томография

Флюорографическое обследование

Виды флюорографии:

Профилактическая – выполняется для раннего выявления заболеваний органов грудной клетки.

Диагностическая – для уточнения локализации и характера поражений органов грудной клетки при наличии симптомов заболеваний.

Цель исследования: диагностика заболеваний органов грудной клетки.
Противопоказания: невозможность нахождения пациента в вертикальном положении.

Профилактические осмотры проводятся с применением рентгенологического метода [1]:

- детям в возрасте от 15 до 17 лет (включительно) - иммунодиагностика с применением аллергена туберкулезного рекомбинантного в стандартном разведении или рентгенологическое флюорографическое исследование органов грудной клетки (легких);

- взрослым - флюорография легких или рентгенография органов грудной клетки (легких).

По сравнению с обычной рентгенографией флюорография позволяет значительно увеличить пропускную способность рентгеновского аппарата, сократить расходы на пленку и ее обработку, облегчить хранение архива.

Разрешающая способность флюорограммы легких (ФЛГ) высокого качества почти такая же, как и рентгеновского снимка, поэтому в ряде случаев флюорограмма с форматом кадра 100 x 100 мм заменяет обзорную рентгенограмму легких. Среди отрицательных сторон пленочной флюорографии главной является высокая лучевая нагрузка на пациента и персонал.

На смену пленочной ФЛГ сейчас приходит цифровая (дигитальная) рентгенофлюорография, имеющая много существенных преимуществ.

Главные из них — это высокое качество, информативность и возможность компьютерной обработки изображения. Лучевая нагрузка на исследуемого при цифровой флюорографии в 10—15 раз ниже, чем при пленочной (в прямой проекции соответственно 0,05 и 0,7 мЗв).

Необходимо также отметить большую скорость получения изображения, возможность комбинированного просмотра и распечатки на бумагу нескольких изображений, их передачи на расстояние, удобство хранения и последующего получения всех данных, низкую стоимость исследования. В настоящее время цифровая рентгенофлюорография получает распространение для контрольных обследований больших контингентов населения с целью своевременного выявления туберкулеза, рака и других заболеваний органов груди. Она также успешно заменяет обзорную рентгенографию легких в качестве диагностического метода.

Рентгенография органов грудной клетки

Большинство авторов считает, что традиционная рентгенотомография является основным методом первичного обследования больных туберкулёзом лёгких. В учреждениях практического здравоохранения, наряду с применением рентгеноскопии и рентгенографии, имеются возможности широкого использования томографии.

Обзорные рентгенограммы выполняются при вертикальном положении пациента в двух проекциях (Рисунок 1). На рентгенограмме легких должны отображаться структуры груди, включая оба легочных поля, реберно-диафрагмальные синусы и поддиафрагмальная область, верхушки легких и мягкие ткани грудной стенки в проекциях – прямой передней и одной из боковых, правой или левой проекции.



Рисунок 1 - Обзорные рентгенограммы при вертикальном положении пациента в двух проекциях

Обзорные снимки производят: расстояние - фокус рентгеновской трубки до детектора ~ 1,5 м применением отсеивающего раstra; напряжение на рентгеновской трубке 70-95 кВ, анодный ток 100-250 мА, выдержка 0,1-0,3 с. Рентгенография в 2-х стандартных проекциях позволяет судить о локализации патологического процесса, состоянии легких в целом, корней легких и средостения, плевры и диафрагмы. По возможности лучше производить снимки жесткой техники при напряжении на трубке свыше 100 кВ (120-140 кВ) с выдержкой в сотые доли секунд при 3-15 мАс. Информативность этих снимков выше, чем с использованием обычной техники. На снимках жесткой техники прослеживается легочный рисунок в норме до периферии, образования за тенью сердца, диафрагмы и мелкие субплевральные патологические образования, не видимые на обычных снимках.

Повысить информативность рентгенограмм можно изменением экспозиции или жесткости рентгеновских лучей. Такие снимки называют суперэкспонированными и жесткими. Их производят больным экссудативным плевритом и с массивными плевральными наложениями,

после хирургических операций на легких, для лучшего выявления стенок трахеи и бронхов. На суперэкспонированных и жестких снимках можно выявить в зонах интенсивного затемнения различные структуры, не видимые на обычном снимке. Однако тени малой интенсивности на таких снимках не отображаются.

Последовательность действий при анализе данных рентгеновского обследования

Необходимо проверить:

- личность пациента
- даты проведения рентгенологического исследования;
- оценить качество проведения рентгеновского снимка (положение, контрастность и фаза дыхания) (Рисунок 2);
- оценить теневую картину органов дыхания (изучение мягких тканей, костной системы, диафрагмы и синусов, легочных полей, органов средостения) (Рисунок 3);

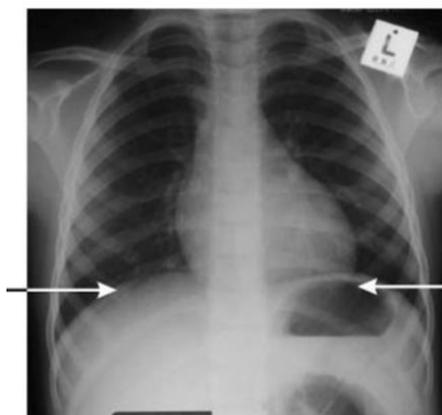


Рисунок 2 - Рентгеновский снимок нормальной грудной клетки хорошего качества (правильный вдох, правильное положение больного, хорошая контрастность)



Рисунок 3 - Снимок плохого качества (сделан при неправильном положении, вдохе и плохой контрастности)

Линейная продольная томография

Наиболее важное значение среди рентгенологических методов в диагностике заболеваний легких занимает линейная продольная томография.

Послойное исследование устраняет суммационный эффект, свойственный рентгенографии (Рисунок 4). Томография позволяет определить характер и распространенность патологического процесса, локализующегося в паренхиме легкого, в плевре, изучить состояние трахеобронхиального дерева, корней легких, в средостении.

Линейная томография проводится на томографическом аппарате при следующих оптимальных технических условиях: напряжение 70-90 кВ, ток 50-75 мА; выдержка зависит от угла поворота рентгеновской трубки (чем больше угол, тем больше выдержка. Например, при угле поворота рентгеновской трубки 40 градусов выдержка составляет 1,3 сек.). Расстояние от фокуса трубки до приемника излучения составляет чаще всего 100 см. Томография легких проводится: в прямой, боковой и косых проекциях; с продольным, косым и поперечным видом размазывания; в вертикальном и горизонтальном положениях пациента. Угол поворота рентгеновской трубки различен и указан на томографическом аппарате (от 8 до 60 градусов). Толщина выделяемого слоя при томографии зависит от угла поворота рентгеновской трубки и вида размазывания. Чем больше угол поворота рентгеновской трубки, тем меньше толщина выделяемого среза. При поперечном виде размазывания выделяемый слой тоньше, чем при продольном. При этом лучше получают отображение

контуры и структура томографируемых образований. Выделенный слой при угле поворота рентгеновской трубки до 15 градусов называется зонографией. Основное внимание при томографии уделяется правильному выбору глубины среза, определяющему диагностическую ценность получаемых томограмм (ТМ).

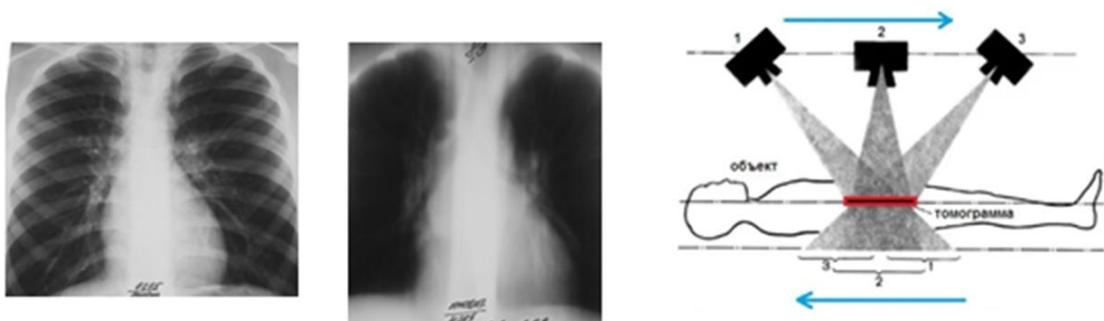


Рисунок 4 – Линейная томография органов грудной клетки

Основной недостаток ТМ – низкая контрастная чувствительность метода, что приводит к низкому уровню диагностики патологических образований в средостении, в корнях и в легочной ткани.

В настоящее время ТМ средостения у детей для диагностики туберкулеза внутригрудных лимфоузлов не применяются. При подозрении на туберкулез органов дыхания рекомендовано проведение компьютерной томографии органов грудной клетки [2].

Компьютерная томография органов грудной клетки

Компьютерная томография органов грудной клетки может включать в себя стандартное исследование, которое, при необходимости, может быть дополнено специальными методиками КТ, к числу которых относятся: КТ с внутривенным введением контрастного вещества, КТ-ангиография, динамическая КТ, полипозиционные КТ-исследования; экспираторная КТ.

Последовательность проведения КТ органов грудной полости

1. Стандартное исследование (нативное, без искусственного контрастирования);
2. Специальные методики, а именно:
 - высокоразрешающая КТ
 - КТ с внутривенным контрастированием

- полипозиционные исследования
- экспираторная КТ

Необходимо учитывать, что проведение специальных методик КТ требует дополнительных затрат времени, увеличивает лучевую нагрузку, нередко связано с введением контрастных веществ. Поэтому их применение должно быть обоснованным и направлено на решение конкретной клинической задачи.

Стандартное исследование груди является обязательным для всех больных, вне зависимости от характера выявленных или предполагаемых патологических изменений. Оно заключается в выполнении серии примыкающих томографических срезов от верхушек легких до задних отделов реберно-диафрагмальных синусов на высоте вдоха без применения контрастного усиления.

Следует иметь в виду, что при КТ могут быть выявлены патологические изменения, невидимые на обзорных рентгенограммах и томограммах. Чаще это наблюдается у больных с интерстициальными болезнями легких и эмфиземой, бронхоэктазами, метастазами злокачественных опухолей в легкие (небольших размеров), незначительной или умеренной внутригрудной лимфаденопатией.

КТ исследование начинают с выполнения обзорной цифровой топограммы, которая представляет собой обзорный снимок груди в прямой проекции, при необходимости выполняется вторая топограмма в боковой проекции. Оценка состояния органов грудной полости по топограмме не проводится. Обзорная топограмма предназначена только для определения зоны сканирования. Затем выполняют серию примыкающих томографических срезов от верхушек легких до задних отделов реберно-диафрагмальных синусов в положении больного на спине с заведенными за голову руками.

Сканирование проводят на высоте обычного (нефорсированного) вдоха. Толщина среза зачастую (в зависимости от модели компьютерного томографа) составляет 1 мм и 5 мм. При необходимости выполняют дополнительные реконструкции изображений (например, в жестком фильтре, который более удобен для анализа паренхимы легких). В зону интереса включается весь поперечный срез грудной клетки.

Существенной возможностью КТ является количественная оценка плотности исследуемых тканей и сред в условных единицах по шкале Хоунсфилда. Плотность воды по этой шкале составляет 0, воздуха (—)1000 ед., легкого (+)600 ед., кости (+)1000 ед.

Повышается разрешающая способность, улучшается качество изображения движущихся органов, создаются благоприятные условия для исследования детей и тяжелобольных. Спиральная КТ открыла пути реконструкции и создания объемных изображений высокого качества (Рисунок 5).

После сканирования врач анализирует полученные изображения на экране монитора с использованием различных электронных окон, из которых два: мягкотканое (средостенное) и легочное — являются обязательными и стандартными.

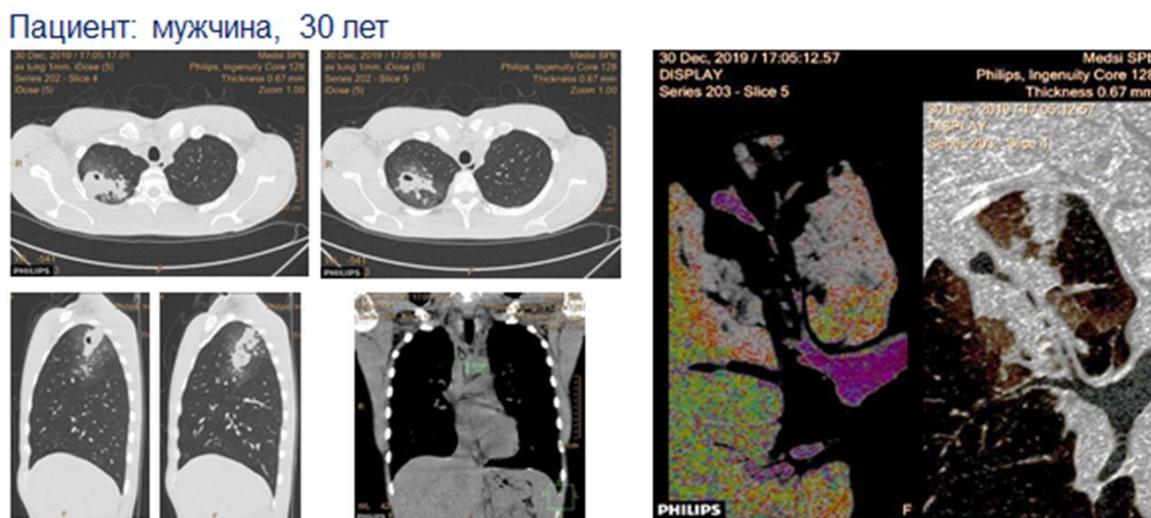


Рисунок 5 – Компьютерная томография органов грудной клетки мужчины с изменениями в верхней доле правого легкого

Первичный анализ изображений позволяет подтвердить, предположить или исключить наличие патологических изменений в грудной полости. При их отсутствии исследование может быть закончено уже на этом этапе.

В случае выявления на стандартных компьютерных томограммах патологических изменений определяют их локализацию, проводят анатомический и денситометрический анализ. Если необходимо уточнить характер патологии, применяют специальные методики КТ-исследования.

Компьютерная томография (КТ) органов грудной клетки рекомендована для подтверждения туберкулеза органов грудной клетки (внутригрудных лимфатических узлов, легких) [2, 3] (Рисунок 6).

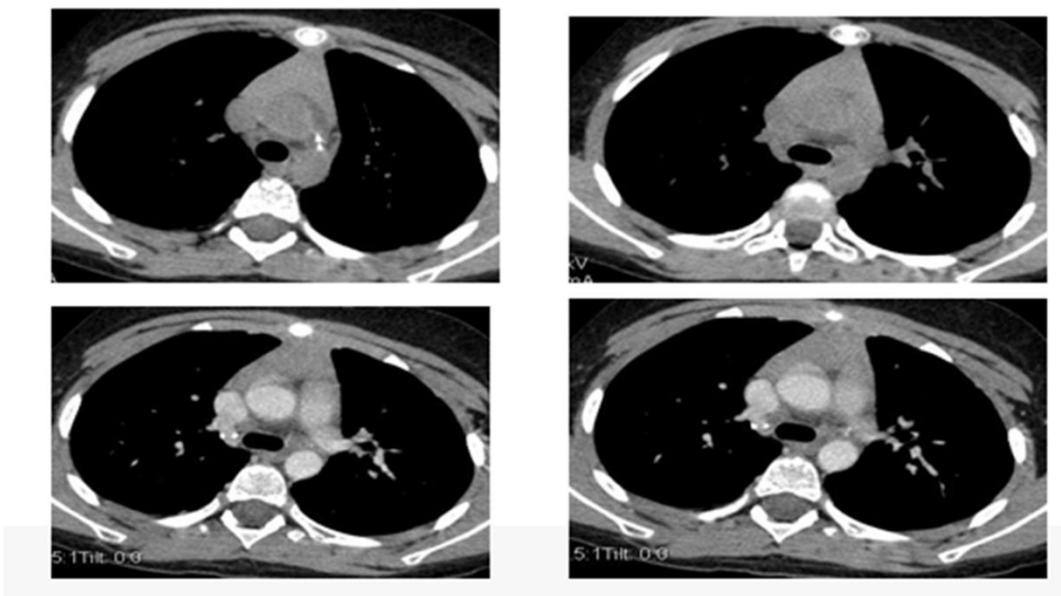


Рисунок 6 – КТ и КТ – ангиография органов грудной клетки ребенка 8 лет с изменениями во внутригрудных лимфоузлах, отложением извести в паратрахеальной группе лимфоузлов справа и кальцинатом аортальной связки

КТ с контрастным усилением обладает высокой информативностью при выявлении «малых» форм туберкулеза (небольших внутригрудных лимфатических узлов). Решение о проведении внутривенного контрастирования принимает врач рентгенолог, обосновывая это решение в протоколе исследования.

Показаниями к применению контрастирования при КТ органов грудной клетки

Показаниями к применению контрастирования при КТ органов грудной клетки являются:

- выявление при нативном исследовании патологических изменений, которые не могут быть интерпретированы без внутривенного контрастирования (аномалии и пороки развития, новообразования и кисты средостения, патология сосудов и камер сердца и др.);

- необходимость оценки лимфатических узлов корней легких в случаях, если правильный диагноз не может быть установлен другими методами и методиками

- с целью выявления признака «краевого усиления» в увеличенных некальцинированных лимфатических узлах при дифференциальной диагностике внутригрудной лимфаденопатии..

Приводимые ниже протоколы сканирования предназначены для максимальной стандартизации исследования и получения оптимального результата. Современные компьютерные томографы зачастую дополнительно оснащены автоматическими инъекторами для болюсного внутривенного введения контрастного вещества.

Исследование органов груди с контрастированием наиболее часто осуществляется при задержке дыхания на высоте вдоха пациента.

В зависимости от того, какие фазы сканирования врач-рентгенолог хочет получить, возможно применение нескольких методик:

1) введение контрастного препарата со скоростью 4 мл/с в количестве 0,8—1,5 мл/кг массы тела; болюс-триггер устанавливается на восходящую/нисходящую часть грудного отдела аорты; сканирование начинается через 6-8 с после «захвата болюса» для получения артериальной фазы сканирования; при необходимости можно дополнить исследование венозной фазой сканирования, которая выполняется через 40-50 с от «захвата болюса»;

2) введение контрастного препарата со скоростью 3 мл/с в том же объеме, болюс-треккинг отключен; начало сканирования через 55-60 с от момента начала введения контрастного вещества.

Ультразвуковые исследования в диагностике туберкулеза

Ультразвуковые (УЗИ) методы, в частности ультразвуковое сканирование, отличаются безопасностью, возможностью проведения многократных исследований, высокой разрешающей способностью. УЗИ исследования также применяют в диагностике туберкулеза [5]. Ультразвуковое исследование позволяет диагностировать раннюю стадию туберкулеза и выявлять образование туберкулезных гранулем (Рисунок 7).

У больных туберкулезом УЗИ проводят с целью:

- выявления плеврита;
- диагностики субплевральных объемных образований в легких;
- оценки состояния гемиторакса после хирургических вмешательств;
- диагностики внелегочного туберкулеза;
- оценки состояния различных органов и систем в процессе лечения.

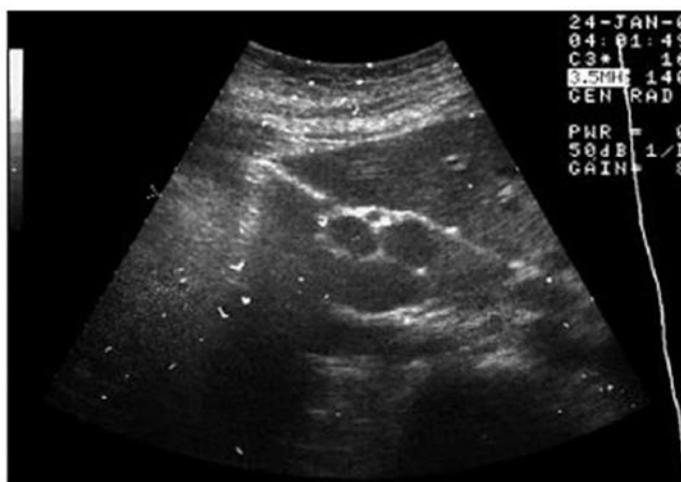


Рисунок 7– УЗИ - картина туберкулеза лимфатических узлов брюшной полости

УЗИ – диагностика, в том числе с возможностью забора диагностического материала для проведения гистологической верификации диагноза и молекулярно-генетического исследования лимфоузла (Рисунок 8).



Рисунок 8 – УЗИ - картина туберкулеза внутригрудных лимфоузлов ребенка 12 лет

Во фтизиатрической практике ультразвуковые методы полезны для точного определения и контроля за размерами периферических лимфатических узлов (шейных, подмышечных, паховых). С помощью ультразвука можно определить наличие жидкости в плевральной полости, так как при ее наличии между париетальной плеврой и легким отмечается

гипоэхогенная зона. Ультразвуковой контроль позволяет выбрать точку для пункции полости плевры. После пневмонэктомии динамическое определение уровня жидкости в плевральной полости часто может заменить рентгенологическое исследование.

Радионуклидные (радиоизотопные) методы

Проведение перфузионной сцинтиграфии легких у больных туберкулезом легких

Сцинтиграфия легких проводится с целью:

- определения нарушений микроциркуляции в легком;
- определения активности туберкулезного процесса;
- определение нарушений вентиляции легких;
- решения вопроса о необходимости хирургического лечения.

Радионуклидные (радиоизотопные) методы имеют ведущее значение для регионарной оценки вентиляции и кровотока в легких (Рисунок 9).

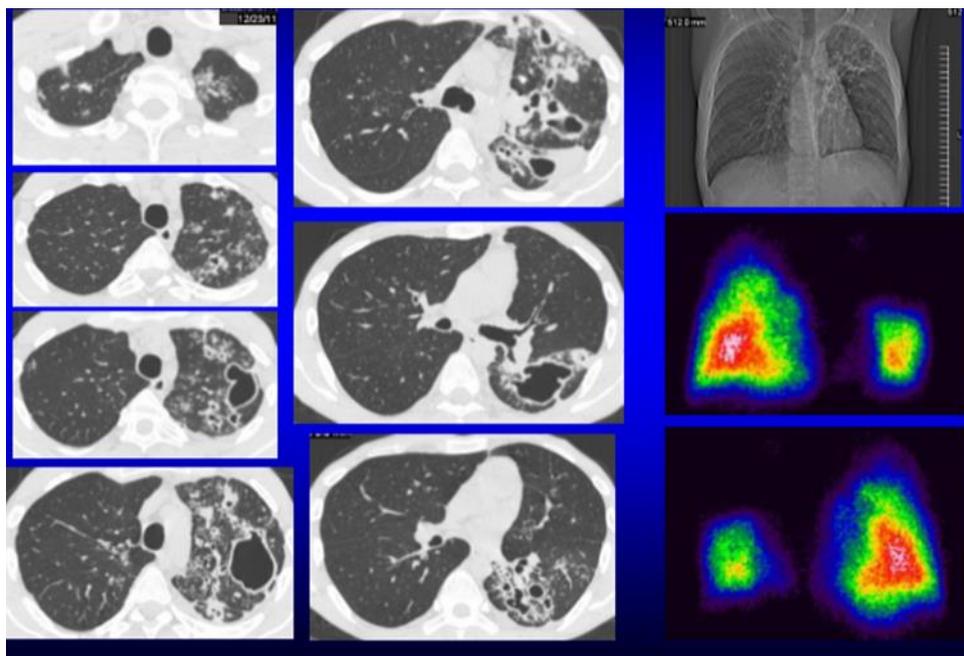


Рисунок 9 – сцинтиграфия органов грудной клетки у больного туберкулезом (из личного архива проф. Перфильева А.В.)

Они основаны на ингаляционном или чаще внутривенном введении радиофармацевтических препаратов, меченных гамма*излучающими радионуклидами. Это ксенонвоздушная смесь (^{133}Xe), макроагрегат альбумина (^{131}I или $^{99\text{m}}\text{Tc}$), индия цитрат ($^{133\text{m}}\text{In}$), микросферы альбумина

(^{99m}Tc или ^{133m}In) и др. Регистрацию распределения введенного препарата производят с помощью сцинтилляционной гаммакамеры с компьютером.

При этом возможна как статическая, так и динамическая сцинтиграфия в передней, задней и боковых проекциях. Все параметры обычно определяют в процентах соответственно делению легочных полей на верхнюю, среднюю и нижнюю зоны.

Позитронная эмиссионная томография

Позитронная эмиссионная томография (ПЭТ) получает распространение в дифференциальной диагностике внутрилегочных образований. В основе ПЭТ лежит оценка клеточного метаболизма.

Дифференциальный диагноз гранулематозов и онкологического процесса с использованием ФДГ – ПЭТ/КТ все еще представляется сложным в связи с высокой частотой ложно-положительных результатов (Huber, 2015) (Рисунок 10).

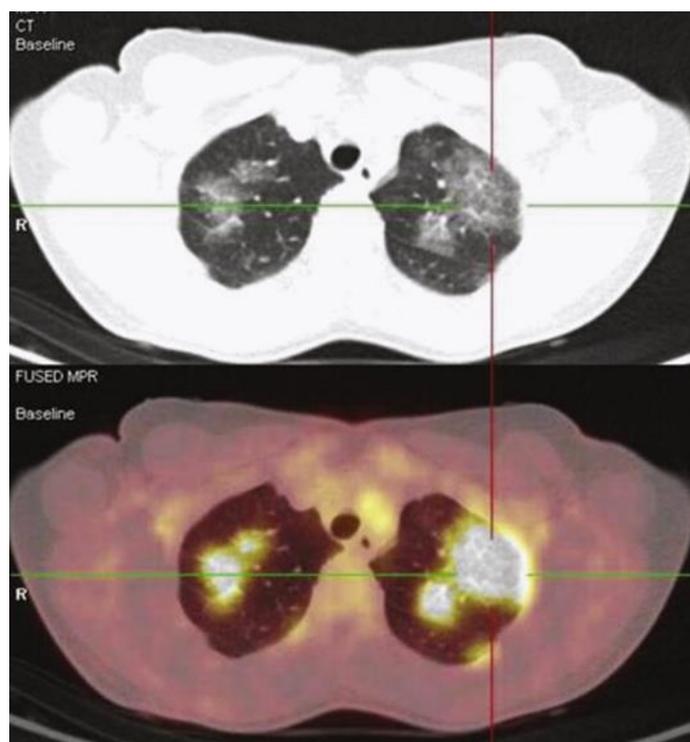


Рисунок 10 - ПЭТ/КТ у пациента с саркоидозом легких 3 стадии. Накопление РФП в паренхиме легкого в верхних долях обоих легких (SUV_{max} 12.5)

Обсуждается возможность применения ПЭТ/КТ с использованием L-3-18F-fluoro- α -methyltyrosine (FMT). У 100 % пациентов с саркоидозом в сравнении с онкологическими пациентами результат был отрицательным (Kaira K., 2007).

Внутривенно вводят радиофармакологический препарат FDG (1 8F — флюородезоксиглюкоза), который чувствителен к усиленному метаболизму глюкозы в раковых клетках и на сканах образует светлые пятна.

Раковые клетки могут быть распознаны в лимфатических узлах диаметром менее 1 см. Информативность ПЭТ увеличивается при ее сочетании с КТ и создании совмещенных изображений.

Список литературы

1. Приказ Министерства здравоохранения РФ от 21 марта 2017 г. N 124н "Об утверждении порядка и сроков проведения профилактических медицинских осмотров граждан в целях выявления туберкулеза" (с изменениями и дополнениями)
2. Клинические рекомендации «Туберкулез у детей», 2022.
3. Фтизиатрия. национальное руководство / под ред. М.И. Перельмана. - М. ГЭОТАР-Медна, 2007. - 512 с. SBN 978-5-9704-0497-3. Новиков Ю.К. Мукоцилиарный транспорт, как основной механизм защиты легких. РМЖ. 2007;5:357.
4. Туберкулез органов дыхания у детей и подростков: рук. для врачей/ под ред. А.Э. Эргешева, Е.С. Овсянкиной, М.Ф. Губкиной. М., 2019. - 524 с.
5. Сеницына А.В., Синельникова Е.В., Лозовская М.Э., Кривохиж В.Н., Гаврилов П.В., Осипова М.А. Возможности метода ультразвукового исследования в ранней дифференциальной диагностике туберкулеза лимфатических узлов. Лучевая диагностика и терапия. 2016;(1):58-63. <https://doi.org/10.22328/2079-5343-2016-1-58-63>

2.4. Методы этиологической диагностики туберкулеза

В соответствии с рекомендациями Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), быстрая диагностика туберкулеза и универсальное тестирование на лекарственную чувствительность (ТЛЧ) должны систематически проводиться для всех, у кого наблюдаются клинические симптомы туберкулеза [1, 2].

Для профилактики резистентности необходимо бактериологическое подтверждение туберкулеза с последующим выявлением лекарственной устойчивости возбудителя с использованием фенотипических (культуральных) методов, позволяющих наблюдать рост микобактерий в средах, содержащих лекарственные средства, или генотипических (молекулярных или основанных на секвенировании) методов [3].

Все методы диагностики заболеваний можно разделить на прямые, позволяющие выявить непосредственно этиологический агент заболевания, и косвенные, которые выявляют последствия воздействия этиологического агента на организм больного [4].

При туберкулезе к прямым методам относятся традиционные методы микробиологической диагностики (микроскопия и посев на питательные среды) и молекулярно-генетические (МГМ) методы, позволяющие определить наличие ДНК возбудителя в диагностическом материале.

На первом этапе обследования больного с клиническими и рентгенологическими проявлениями заболеваниями необходимо определить возбудитель заболевания (Рисунок 1).



Рисунок 1 – Этапы этиологической диагностики возбудителя у больного

Выявить микобактерии с применением существующих методов только в 48% случаев. В остальных случаях диагноз устанавливается эмпирически с подбором терапии с учетом данных ЛЧ микобактерий туберкулеза у контактного лица. Правильный забор диагностического материала и применение методов инвазивной диагностики позволяет получить данные о возбудителе и о лекарственной чувствительности микобактерий.

За последние годы методы этиологической диагностики существенно развиваются с целью сокращения срока диагностики возбудителя, определения видовой принадлежности и спектра лекарственной чувствительности к противотуберкулезным препаратам (Рисунок 2).



Рисунок 2 – Различные методы этиологической диагностики

Методы микроскопии

Микроскопическое исследование мазка мокроты для обнаружения кислотоустойчивых бактерий (КУБ) проводится с целью выявления наиболее эпидемически опасных пациентов, больных туберкулезом легких.

Метод микроскопии является наиболее быстрым, простым и менее затратным методом выявления и оценки содержания КУБ в нативном материале (чаще всего в мокроте) без предварительной его обработки и гомогенизации.

Преимущества микроскопии, заключающиеся в скорости получения результата, относительной простоте, доступности исследования и экономической эффективности, делают его незаменимым для выявления большинства пациентов, больных туберкулезом легких. Микроскопическое

исследование мазков мокроты, окрашенных по Цилю-Нильсену, позволяет выявить кислотоустойчивые бактерии (КУБ) в случае наличия их в количестве 10000 и более в 1 мл мокроты.

Отрицательный результат не исключает диагноз туберкулеза, так как в мокроте может содержаться количество микобактерий ниже предела обнаружения методом микроскопии.

В странах с низким и средним уровнем дохода (СНСД) микроскопия кислотоустойчивых бактерий (КУБ) остается краеугольным камнем диагностики туберкулеза. Однако этот метод ограничен низкой чувствительностью (60%), требует от 5000 до 10000 бацилл на мл в образце для выявления МТБ в окрашенных мазках и не позволяет определить лекарственную чувствительность возбудителя [2].

Чувствительность методов микроскопии для выявления туберкулеза невелика, поэтому при неудовлетворительном качестве собранного диагностического материала (мокроты) его эффективность снижается. Однако клиническая специфичность превышает 95% [6, 7].

Эффективность методов высока среди наиболее эпидемически опасной группы больных. Время оборота теста составляет от нескольких часов до суток. Результаты исследований этими методами, также как и требующие значительно большего времени выполнения методами посева, определяют классификацию больного как бациллярного или абациллярного. Методы микроскопии с кислото-устойчивым окрашиванием позволяют выявить, бактерии, обладающие таким свойством. К ним, помимо микобактерий туберкулезного комплекса, относятся и другие микобактерии. Однако доля таких бактерий невысока, поэтому влияние этого фактора на специфичность выявления туберкулеза невелика. Вместе с тем, это свойство теста выгодно отличает его от существующих в настоящее время молекулярно-генетических методов, выявляющих специфичные только для микобактерий туберкулезного комплекса фрагменты ДНК. Поэтому все случаи с положительным результатом микроскопического исследования для выявления кислотоустойчивых бактерий (КУБ) должны исследоваться на наличие у них нетуберкулезных микобактерий [4, 9].

Цитологические и гистологические исследования

Этиологическое подтверждение диагноза может быть проведено при выявлении *M.tuberculosis* в тканях цитологическим, гистологическим и иммуногистохимическим методами [10].

Материалом для цитологического исследования служат мазки и отпечатки из соскобов патологически измененных тканей и экссудатов, которые после фиксации тем или иным способом окрашиваются карболовым фуксином по Цилю-Нильсену, аурамино и др. методами [11, 12].

Для гистологического исследования кусочки органов фиксируются в 10% нейтральном формалине, проводятся через спирты и заливаются в парафин. После этого из них приготавливаются срезы толщиной 3-5 мкм, которые окрашиваются гематоксилином и эозином, по Романовскому-Гимза, по Цилю-Нильсену и другими методами, причем микобактерии определяются на фоне тех или иных морфологических изменений. Для характеристики морфологических изменений используются и дополнительные окраски, рекомендуемые в руководствах по патологической анатомии [13].

Как и при других микроскопических исследованиях с выявлением кислото-устойчивых бактерий, при цитологическом и гистологическом исследованиях выявляются кислотоустойчивые микроорганизмы, видовая принадлежность которых остается под вопросом. Так, по Цилю-Нильсену одинаково окрашиваются *M.tuberculosis*, *M.bovis*, *M.bovis BCG*, *M.avium-intracellulare*, ряд других нетуберкулезных микобактерий, нокардии, родококки, *Legionella micdade*, а также кортикальные шипики яиц шистосом, крючья эхинококков, споры криптоспоридий. Для их идентификации и точного определения видовой принадлежности результаты бактериоскопии сопоставляются с результатами посева, позволяющего выделять возбудителя в чистой культуре, или с результатами ПЦР.

В настоящее время с этой же целью используется иммуногистохимическое исследование, сущность которого состоит в визуализации антигенов *M.tuberculosis* с помощью меченых антител (resp. сывороток). Эти антитела могут иметь различную специфичность, и позволяют выявлять как *M.tuberculosis* так и микобактерии туберкулезного комплекса.

Часто этиологическим подтверждением диагноза «туберкулез» считают результаты гистологического исследования, при котором в легких и других органах обнаруживаются «специфические» микроскопические изменения в виде казеозно-некротических фокусов, эпителиоидно-клеточных бугорков, инфильтратов и других патологических изменений. Оценка их диагностического значения находится в компетенции патоморфолога. Однако необходимо учитывать, что такие «специфические», казалось бы, именно для туберкулеза гранулематозные изменения, как эпителиоидно-клеточные бугорки с гигантскими многоядерными клетками Лангханса,

встречаются при многих других гранулематозных болезнях и даже при неинфекционной патологии [14 – 16].

Это диктует необходимость проводить тщательную дифференциальную диагностику в каждом конкретном случае. Наличие «специфических» изменений является, необходимым, но недостаточным признаком туберкулеза. Его необходимым и достаточным признаком является совокупность характерных микроскопических изменений ткани и наличие *M.tuberculosis*.

Бактериологические методы исследования

Бактериологическое исследование является обязательным этапом в диагностике туберкулеза. Данные методы основываются на выращивание микобактерий, содержащихся в диагностическом материале, на искусственных средах [10]. В случае микобактерий туберкулеза эти методы применяются, начиная с первой половины двадцатого века. Микобактерии туберкулезного комплекса характеризуются длительным временем культивирования (до двух и более месяцев), специфическим требованиям к питательным свойствам питательной среды.

Для подтверждения диагноза туберкулез необходимо выделить культуру *M. tuberculosis* на искусственной питательной среде и идентифицировать ее, используя дифференциальные тесты *in vitro*.

Для культивирования микобактерий туберкулеза разработано множество различных питательных сред, которые делятся на три основные группы – яичные (плотные), агаровые (плотные и полужидкие) и жидкие (синтетические и полусинтетические).

Идеальная среда для выделения микобактерий туберкулеза должна:

- быть экономичной и простой в приготовлении, состоять из легкодоступных компонентов;
- угнетать рост сопутствующей микрофлоры (контаминантов);
- стимулировать рост микобактерий туберкулеза, содержащихся в исследуемом материале;
- позволять осуществлять предварительную дифференциальную диагностику выделенных культур по морфологии колоний.

Для выделения микобактерий туберкулеза яичные среды являются средами выбора, так как именно они удовлетворяют всем требованиям, перечисленным выше. Рутинному использованию жидких сред при исследовании мокроты препятствует их более высокая стоимость. Однако

при исследовании некоторых видов биологического материала жидкие питательные среды могут иметь преимущества.

Посев не используется в качестве первичной диагностики во многих странах, где бремя туберкулеза велико из-за высоких затрат, обременительных требований к инфраструктуре и неизбежной задержки в получении клинически действенных результатов (две-три недели для положительных результатов и до шести недель при отрицательном результате).

Длительное время выращивания микобактерий туберкулезного комплекса повышает частоту загрязнения засеянных сред быстрорастущей немикобактериальной флорой. В связи с этим, перед посевом диагностический материал подвергается дополнительной процедуре - деконтаминации. В результате этой обработки убивается большая часть нетуберкулезной флоры, однако при этом гибнет и часть клеток МБТ. Качество проведения этой процедуры существенно влияет на эффективность посева.

Наиболее распространенными средами для выделения микобактерий туберкулезного комплекса (МБТК) являются среды на основе куриных яиц – среда Левенштейна-Йенсена и более кислые среды Огавы и ФИНН II.

В Российской Федерации применяются и другие яичные среды. Эти среды дешевы, содержат в своем составе малахитовый зеленый, угнетающий рост немикобактериальной флоры. Главным недостатком этих сред является низкая скорость роста туберкулезных микобактерий – до 8 – 10 недель роста, а также относительно меньшая их пригодность для выделения нетуберкулезных микобактерий [7, 4].

Жидкие среды, и, особенно, среда Миддлбрук 7Н9 позволяют уменьшить сроки культивирования микобактерий (среднее время появления роста – 10-14 дней, увеличивают выход туберкулезных и нетуберкулезных микобактерий [11]. В то же время использование данных сред приводит к сравнительно большей доле проростов и предъявляет более высокие требования к системе биобезопасности в лаборатории и квалификации персонала. Кроме того, эти среды имеют большую стоимость, по сравнению с плотными средами.

Жидкие среды применяются в микробиологических автоматических анализаторах. Анализаторы, позволяющие значительно снизить время определения наличия роста микроорганизмов – анализаторы с флуоресцентной детекцией роста.

Подходящие жидкие среды для роста микобактерий включают бульон Миддлбрука 7Н9, который используется для автоматизированных методов

жидкостного культивирования (например, BACTEC MGIT, VersaTREK, MB/BacT ALERT) и метода ручного микроразведения (Sensititre).

При использовании твердых сред по сравнению с жидкими средами наблюдается заметно более низкий уровень выделения микобактерий и более длительное время выявления ЛУ-ТБ. Предел обнаружения (LoD) для жидкой культуры составляет до 10 жизнеспособных бацилл на миллилитр (мл), тогда как для твердой культуры необходимо 100 бацилл на мл [13, 14]. Несмотря на доступность множества различных культуральных методов, жидкостная культура остается наиболее часто используемым методом в мире.

Данный факт связан с несколькими причинами:

- 1) система высокоавтоматизирована и требует только подготовки и загрузки образца в прибор;
- 2) более быстрый рост микобактерий с возможностью предоставления результатов ТЛЧ за 4 – 24 дня в MGIT 960;
- 3) более высокая скорость восстановления штаммов МТВ по сравнению с твердыми средами;
- 4) очень низкий LoD, поскольку система использует флуоресценцию для отслеживать рост МТВ [4].

Культуральные или фенотипические методы определяют чувствительность или устойчивость выделенной культуры (штамма) МБТ по их росту на стандартной питательной среде в присутствии противотуберкулезного препарата в его критической концентрации. Рост микобактерии оценивается в сравнении с их ростом на среде без препарата. Критерии оценки роста зависят от применяемых методов [23].

Критические концентрации различаются для разных методов и сред, на которых проводятся исследования. Значения критических концентраций к основным и резервным препаратам определяются и регулярно пересматриваются в многоцентровых исследованиях Супранациональных лабораториях ВОЗ. В последние годы критические концентрации, рекомендуемые ВОЗ и Глобальной лабораторной инициативой, - концентрации, определенные для метода пропорций на плотных средах и в жидкой среде Миддлбрук 7Н9 с использованием автоматического анализатора с флуоресцентной детекцией Bactec MGIT 960/320 [35],

В рекомендациях ВОЗ указано, что к препаратам 4 й группы (пероральные бактериостатические препараты резервного ряда - этионамид, протионамид, циклосерин и ПАСК) и к препаратам 5й группы (противотуберкулезные препараты с неясной эффективностью, не рекомендованные ВОЗ для лечения МЛУ больных – клофазимин, амоксициллин/клавуланат, кларитромицин, линезолид) проводить

исследования лекарственной чувствительности в рутинном режиме не рекомендуется. При этом критические концентрации для циклосерина известны только для среды Левенштейна-Йенсена, для линезолида – только для системы Bactec MGIT 960/320.

Метод абсолютных концентраций

Метод абсолютных концентраций определяет концентрацию, к которой чувствительна выделенная от пациента культура. С этой целью тестируются не менее двух концентраций ПТП. В нашей стране применяется модифицированный метод абсолютных концентраций. В отличие от классического метода, применяемый в России метод использует более высокие критические концентрации к изониазиду и стрептомицину [4]. Культура МБТ считается устойчивой, если на питательной среде с определенным препаратом вырастает 20 и более колоний микроорганизмов. Время получения результата составляет 3 недели. При плохом росте МБТ на контрольной питательной среде время оценки результата задерживается еще на 1-2 недели.

Наиболее распространенным в мире вплоть до недавнего времени оставался **метод пропорций**.

Это исследование проводится на нескольких плотных средах: среде Левенштейна-Йенсена, агаризованных средах Мидлбрук 7Н10 и 7Н11. Международные мультицентровые исследования под эгидой ВОЗ определили и регулярно пересматривают критические концентрации для ПТП для этого метода.

Критерием устойчивости клинического изолята для этого метода является рост на среде с ПТП в критической концентрации более 1% колонии образующих единиц по сравнению с контролем – для препаратов первого ряда, и более 10% - для препаратов резервного ряда. Время на получение результата, позволяющего сделать заключение по устойчивости клинического изолята к ПТП [7].

ВАСТЕС MGIT — это широко используемая и полностью автоматизированная система обнаружения микобактерий для жидкостной культуры микобактерий и ТЛЧ. Система предлагает тестирование чувствительности микобактерий к противотуберкулезным препаратам первого и второго ряда, включая PZA, FQ, бедаквилин и линезолид [2, 13].

КК для претоманида еще не установлена, тогда как промежуточный КК для деламанида составляет 0,06 мг/л. Время обнаружения варьируется от

примерно десяти дней для образцов с положительным мазком до двух-шести недель для образцов с отрицательным мазком [15, 16].

Среднее время получения положительного результата посева и ТЛЧ с использованием жидких сред составляет около 23 дней, тогда как для твердой среды (Лёвенштейна-Йенсена) оно намного дольше (более 30 дней) [2].

ВОЗ рекомендовала систему BACTEC MGIT для фенотипического ТЛЧ и поддерживает ее внедрение в периферийных лабораториях. Тестирование на лекарственную чувствительность с использованием непосредственно образцов пациентов с помощью этой автоматизированной системы обеспечивает дополнительную экономию времени и быстрое и надежное выявление лекарственно-устойчивого туберкулеза. Результаты являются качественными для жидких культур (положительные/отрицательные для обнаружения МТВ) и количественными для твердых культур (количество колоний) [16]

Хотя методы rDST на основе твердых и жидких культур считаются эталонным стандартным методом выделения МТВ и выявления устойчивости ко многим противотуберкулезным препаратам, они не могут дать клинически действенных результатов практически в реальном времени. Поэтому для поддержки усилий по борьбе с туберкулезом необходимы альтернативные методы быстрой диагностики туберкулеза и точного определения профиля резистентности.

Плотные и жидкие среды могут применяться для исследования любых диагностических материалов, включая бронхо-легочный материал (мокроту, промывные воды бронхов, аспирационный материал, БАЛ, браш-биоптат, биоптат, экссудат и др), биопсийные и операционные материалы (лимфатических узлов, паренхиматозных органов, гной, грануляции, секвестры, фрагменты межпозвоночных дисков и костей кожи, костей), моча и другие. Наибольшая эффективность метода посева достигается при применении нескольких сред, одна из которых – жидкая.

Эффективность применения различных комплектов сред с учетом времени получения результатов различна для различных материалов. Для бронхолегочных материалов оптимальным является применение среды Левенштейна-Йенсена и среды Миддлбрук 7Н9 с флуоресцентной детекцией роста, для большинства внелегочных материалов – плотные яичные среды Левенштейна-Йенсена и ФИНН II и среды Миддлбрук 7Н9 с применением детекцией роста [12].

Разработаны и селективные жидкие среды для выделения туберкулезных и нетуберкулезных микобактерий из крови. Применение этих

методов имеет большое значение, особенно для диагностики этиологии бактериемии у ВИЧ-инфицированных больных [13]. Для посевов мочи в настоящее время рекомендуется только посев на две плотные яичные среды.

Этиологические исследования методом посева требуют дорогостоящего оснащения лаборатории и высокой квалификации ее сотрудников. Стоимость внедрение метода посева на жидкие среды, и особенно автоматических микробиологических анализаторов, также как и стоимость самого исследования, высока.

Стоимость посева на яичные среды значительно ниже. Несмотря на это, большая эффективность исследований с использованием жидких сред и флуоресцентной детекцией роста значительное сокращение получения результата для большинства бронхо-легочных образцов, обеспечивает стандартизацию процесса и достоверность полученных результатов.

Кроме того, культура микобактерий, полученная при посеве диагностического материала, необходима для проведения дальнейшего изучения спектра лекарственной чувствительности микроорганизмов.

Однако определение ЛЧ возбудителя можно проводить только после выявления положительной культуры, а получение результатов может занять до шести недель для твердых сред и 24 дней для MGIT [14].

Метод с использованием автоматического анализатора с флуоресцентной детекцией Bactec MGIT 960/320.

Используется жидкая среда Миддлбрук 7H9. Все реагенты и расходные материалы для проведения исследования изготавливаются и поставляются единственным производителем в мире, что и обуславливает их высокую стоимость. Преимущества автоматизированной системы культивирования ВАСТЕС MGIT 960/320 перед культуральными исследованиями на ППС обеспечиваются высокой эффективностью стандартизованных и сертифицированных по ISO9001 производств реагентов и сред, а также поддержанием стандартных протоколов исследований.

Биохимические, иммунологические и молекулярно-биологические исследования микобактерий туберкулеза привели к выявлению нескольких антигенов, которые оказались полезны для разработки более совершенных методов и коммерческих тестов идентификации *M. tuberculosis*.

Микобактерии туберкулезного комплекса (*M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum*, *M. microti*), как известно, продуцируют, то есть выделяют в питательную среду, более 30 различных белков, один из преобладающих - МРТ64 (МРВ64).

Этот метод используется как референтный метод во всех Супранациональных лабораториях ВОЗ. Результаты применения этого метода для определения лекарственной чувствительности МБТ к препаратам первого и резервного ряда опубликованы во многих исследованиях [39- 42]. В основе метода – модифицированный для жидких сред метод пропорций. Время получения результата – 10-14 дней. При применении выделения культуры из диагностического материала и последующего определения лекарственной чувствительности в системе **Vactec MGIT 960/320** в абсолютном большинстве случаев исследования респираторных диагностических материалов удается провести весь цикл исследований от выделения культуры до получения спектра лекарственной чувствительности за 1 месяц. Критические концентрации для большинства ПТП определены в международных мультицентровых исследованиях.

Нитрат-редуктазный метод (метод Грисса)

Метод основан на детекции роста микобактерий туберкулеза по окислению нитрата ферментом, продуцируемым МБТ (но не *M. bovis*) последующей цветной реакцией с образовавшимся нитритом [. Метод используется в нескольких странах, в нашей стране налажено промышленное производство тест-наборов для этого метода. Критические концентрации для этого метода в многоцентровых международных исследованиях не проводились. Время получения результата – до 12-14 дней.

Принцип метода заключается в определении активности нитратредуктазы по количеству нитрита, восстановленного из нитрата, что сопровождается цветной реакцией. Реакция восстановления нитратов дает возможность дифференцировать *M. tuberculosis*, у которых нитратредуктазная активность наиболее выражена из всех микобактерий, от *M. bovis*, *M. avium* и некоторых нетуберкулезных микобактерий, у которых этот фермент отсутствует.

Определение лекарственной чувствительности микобактерий

Исследования лекарственной чувствительности микобактерий – является обязательным для всех больных туберкулезом, в диагностическом материале которых выявлены ДНК или микобактерии туберкулеза.

В настоящее время в арсенале микробиологических лабораторий имеются две группы тестов исследования лекарственной чувствительности/устойчивости: культуральные или фенотипические и генотипические.

Культуральные методы позволяют выявить проявление генетических изменений микобактерий, приводящих к их устойчивости к действию тех или иных противотуберкулезных препаратов (ПТП) – фенотипическое проявления генетических особенностей штамма. Традиционно говорят об определении чувствительности микобактерий туберкулеза к ПТП, определенной культуральным методом.

На жидких питательных средах с использованием анализатора ВАСТЕС MGIT 960/320 проводят определение ЛЧ МБТ к ПТП первого ряда (изониазид, рифампицин, этамбутол, стрептомицин, пиразинамид) и к ПТП второго ряда (амикацин, канамицин, офлоксацин, левофлоксацин, моксифлоксацин, этионамид, протионамид, капреомицин, ПАСК, линезолид) [2]

На плотной питательной среде Левенштейна-Йенсена проводят определение ЛЧ МБТ методом абсолютных концентраций к ПТП первого ряда (изониазид, рифампицин, этамбутол, стрептомицин) и к ПТП второго ряда (канамицин, офлоксацин, этионамид, протионамид, капреомицин, циклосерин, ПАСК).

Генотипический метод основан на выявлении мутаций, приводящих в устойчивости микобактерий к определенным ПТП. Генетические методы основаны на выявлении уже идентифицированных мутация, поэтому их результаты не всегда совпадают с результатами фенотипических методов. Например, результаты выявления устойчивости к рифампицину варьирует при применении современных молекулярно-генетических методов от 97,8 до 98,7% по сравнению с фенотипически определенными устойчивыми штаммами, для изониазида этот показатель составляет 90-92% для фторхинолонов – 90 – 92%, для группы антибиотиков амикацин-капреомицин – 85%, а для этамбутола – 69,2%. определением устойчивости [7, 14].

Время получения данных о наличии или исключении МЛУ туберкулеза не должно превышать трех рабочих дней. В случае выявления МЛУ должен быть поставлен молекулярно-генетический тест на устойчивость к фторхинолонам как индикатору пре-ШЛУ. На основании этих данных должен быть выбран соответствующий режим химиотерапии.

Для всех больных, от которых была выделена культура возбудителя, должен быть определен спектр лекарственной чувствительности возбудителя методом, позволяющим провести исследование в кратчайшие сроки и с наибольшей достоверностью. При выявлении лекарственной устойчивости к препарату молекулярно-генетическим методом дважды, проводить культуральное исследование чувствительности к этому препарату не следует.

Исключением являются случаи, когда по данным производителя или опубликованных мета-анализов, молекулярно-генетический метод позволяет выявить более 95% случаев устойчивости к препарату, определенных фенотипическим методом [17, 18]. Однако, если молекулярно-генетические методы не выявили мутации, приводящие к устойчивости к препаратам, исследование чувствительности культуральным методом следует провести.

Идентификация микобактерий

Несмотря на большие сроки получения результатов методом посева по сравнению с методами ПЦР, на сегодняшний день методы посева, по имеющимся опубликованным данным, имеют большую чувствительность. Кроме того при посеве диагностического материала удастся выделить и культуры нетуберкулезных микобактерий в случае микобактериозов, что не позволяют сделать основанные на выявлении специфичных для микобактерий туберкулезного комплекса фрагментов ДНК ПЦР-методы. Большинство молекулярно-генетических тест-систем позволяют выявлять в диагностическом материале ген, общий для всех микобактерий туберкулезного комплекса. При подозрении на наличие нетуберкулезных микобактерий (НТМБ), *M. bovis*, *M.bovis BCG* необходимо проводить дополнительные исследования.

В случае выделенных культур, их принадлежность к комплексу микобактерий туберкулеза должна подтверждаться иммунохроматографическими или молекулярно-генетическими тестами.

Большая часть нетуберкулезных микобактерий может быть идентифицирована молекулярно-генетическими тест-системами или с применением масс-спектрометров. Применение культуральных и биохимических тестов должно применяться в исключительных случаях, если указанные выше методы не позволили однозначно идентифицировать выделенные микобактерии. Подтверждение принадлежности культуры к *M. bovis* и *M.bovis BCG* должно проводиться молекулярно-генетическими методами.

Молекулярно-генетические методы диагностики

Метод полимеразной цепной реакции (ПЦР) – молекулярно-генетический метод, позволяющий добиться значительного увеличения (амплификации) малых концентраций определённых (специфичных) фрагментов нуклеиновой кислоты (ДНК/РНК) возбудителя в биологическом

материале (пробе) и подтвердить наличие этиологического агента в материале даже при его незначительном количестве. В результате последовательных циклов удвоения специфического фрагмента ДНК возбудителя число копий возрастает экспоненциально, и всего за несколько часов можно получить более 100 млрд. копий.

На начальных этапах развития ПЦР диагностических систем детекция амплифицированного продукта реакции была связана с этапом электрофореза. Большие количества копий амплифицированной ДНК создавали угрозу перекрестной контаминации образцов в процессе их внесения в гель и загрязнения самой лаборатории. Этим обуславливались жесткие требования к разграничению зон проведения разных этапов теста [18].

Современные ПЦР-технологии - ПЦР в режиме «реального времени» (Real-Time PCR, ПЦР-РВ) позволяют регистрировать количество специфического фрагмента ДНК параллельно с его амплификацией. Эта технология позволяет не только выявить ДНК возбудителя в образце, но определить его количество в реальном времени после каждого цикла амплификации.

Дополнительным преимуществом ПЦР-РВ является отсутствие стадии электрофореза в процедуре исследования, что позволяет минимизировать риск контаминации образцов и лаборатории продуктами ПЦР и таким образом резко уменьшить число ложноположительных результатов. Это снижает требования к организации ПЦР - лаборатории, становятся возможны автоматическая регистрация и интерпретация полученных результатов. Примером автоматизированной системы ПЦР-РВ является картридная технология Gene-Xpert, рекомендованная Всемирной организацией здравоохранения для лабораторной диагностики туберкулеза [18]. Эта система позволяет одновременно выявлять ДНК возбудителя в диагностическом материале и подтверждать/исключать наличие мутаций в groV гене, приводящих к устойчивости бактерий к рифампицину.

Данные клинических испытаний ПЦР-РТ известны только для Gene-Xpert [18]. По результатам мета-анализа диагностическая чувствительность этой тест-системы для диагностики туберкулеза легких составляет 88% (84%-92%), специфичность – 99% - в сравнении с результатами посева на плотные и жидкие среды. Средняя чувствительность для образцов с положительным результатом микроскопии составила 88% (84-92), для образцов с отрицательным результатом микроскопии – 68% (61-74). Данные о клинических испытаниях отечественных тест-систем для диагностики туберкулеза легких найти не удалось.

Данные клинических испытаний Gene-Xpert для выявления возбудителя во внелегочных материалах дают среднюю чувствительность, варьирующую от 43,7% для плевральной жидкости до 84,9% - для лимфоузлов (данные мета-анализа). Применение отечественной ПЦР-РВ тест-системы позволило выявить микобактерии туберкулезного комплекса в 14,6% из 80 больных ВИЧ с симптомами сепсиса, тогда как наиболее эффективные методы посева – в 6,9% образцов [18]. Значительным преимуществом всех методов ПЦР-РВ является малое время оборота теста. Для Gene-Xpert это время составляет два часа, время выдачи результата определяется мощностью прибора. Для отечественных тест-систем это время также составляет 4 – 4,5 часа. Среднее время выдачи результата не должно превышать одного рабочего дня.

Таким образом, по результатам анализа многочисленных публикаций, ПЦР-РТ (на примере Gene-Xpert) имеет значительно большую чувствительность, чем метод микроскопии, имея сравнимую с ней диагностическую специфичность. Он несколько уступает в чувствительности методу посева, но позволяет получить результат в течение одного рабочего дня. Gene-Xpert позволяет с большой вероятностью подтвердить наличие у больного МЛУ туберкулеза.

Молекулярно-генетические методы выявления лекарственной устойчивости.

Генотипические методы определения лекарственной устойчивости представлены тремя основными технологиями:

- 1) гибридизационные технологии, основанные на гибридизации продуктов ПЦР со специфическими олигонуклеотидами, иммобилизованными на матрице, которая может представлять собой биологический микрочип, или ДНК-стрип;
- 2) мультиплексная ПЦР в режиме реального времени;
- 3) «картриджная» технология (выделение ДНК и амплификация идут автоматически в специальном картридже).

К гибридизационным технологиям отечественные тест-системы «ТБ-Биочип-1» «ТБ-Биочип-2», «ТБ-Тест» позволяющие обнаружить точечные мутации, приводящие к лекарственной устойчивости, методом гибридизации на биологическом микрочипе. Набор «ТБ-Биочип-1» предназначен для определения устойчивости возбудителя туберкулеза к

рифампицину и изониазиду. Специфичность не менее 95% для рифампицин- и свыше 80% для изониазид-устойчивых штаммов возбудителя туберкулеза. Время проведения анализа менее 1 суток. «ТБ-Биочип-2» позволяет определять устойчивость к фторхинолонам с чувствительностью не менее 85% (ген *gyrA*). Чувствительность не менее 500 геном-эквивалентов микобактерий (100-300 КОЕ в 1мл мокроты). Время проведения анализа менее 1 суток. «ТБ-Тест» - позволяет провести идентификацию ДНК возбудителя туберкулеза, установления его генотипа с одновременным определением генетических детерминант лекарственной устойчивости к рифампицину, изониазиду, фторхинолонам, инъекционным препаратам второго ряда (канамицину, амикацину и капреомицину) и этамбутолу. Время проведения анализа не более 2 суток.

Технология с применением ДНК-стрипов позволяет определять лекарственную устойчивость к рифампицину, изониазиду (набор **GenoType MTBDRplus**), фторхинолонам, этамбутолу, аминогликозидам/циклическим пептидам (набор **GenoType MTBDRls**) и рекомендована ВОЗ для быстрой диагностики МЛУ-туберкулеза [4, 7]. Время оборота теста составляет не более 2 суток.

Мультиплексная ПЦР в режиме реального времени основана на использовании оригинальной методики ПЦР в реальном времени, позволяющей выявлять мутации в генах микобактерий туберкулеза, ответственных за устойчивость к конкретным антибиотикам. Данный метод позволяет определить не только наличие мутации, но и долю устойчивого мутантного штамма МБТ в выделенной от больного популяции. Использование зарегистрированных наборов позволяет с высокой чувствительностью и специфичностью (94% и 99%, соответственно) выявлять мутации в генах *rpoB*, *katG* и *inhA*, ассоциирующиеся с устойчивостью к рифампицину и изониазиду [13].

Картриджная технология GeneXpert MTB/RIF Использование этой системы позволяет непосредственно из нативной мокроты в течение двух часов одновременно проводить выявление ДНК МБТ и с высокой достоверностью определять устойчивость МБТ к рифампицину (чувствительность – 95%, специфичность -98%) [4].

Видовая идентификация возбудителя

1. Принадлежность выделенных из диагностического материала культур к *M. tuberculosis* определяется методами иммунохроматографии или молекулярно-генетическими методами.

2. При обследовании больных с поствакцинальными осложнениями, включая костные поражения, во всех случаях подтверждения наличия МБТК МГМ и/или выделения культуры МБТК, или в случае выявления устойчивости выделенной культуры к пипразинамиду у других больных ТБ, необходимо исключить наличие *M.bovis* или *M.bovis* BCG в диагностическом материале. Для этого необходимо провести идентификацию возбудителя в диагностическом материале (выделенной культуры) МГМ или биохимическими методами. *Уровень доказательности: С, сильная рекомендация.*

3. В случае выявления возбудителя, относящегося к микобактериям иным, чем микобактерии туберкулёзного комплекса необходимо провести определение видовой (групповой) принадлежности НТМБ – в течение не более трех рабочих дней с момента поступления в лабораторию диагностического материала или выделения культуры микобактерий. *Уровень доказательности: С, сильная рекомендация*

Исследование лекарственной чувствительности

1. Для всех пациентов, у которых было подтверждено наличие микобактерий туберкулёзного комплекса в диагностическом материале РТ-ПЦР, при наличии достаточного количества ДНК в пробе, должно быть проведено молекулярно-генетическое исследование для исключения/подтверждения наличия МЛУ возбудителя.

2. Для всех пациентов, у которых были обнаружены мутации, ассоциированные с МЛУ МБТ должно быть проведено молекулярно-генетическое исследование для исключения/подтверждения наличия устойчивости к фторхинолонам, как предшественника ШЛУ возбудителя.

3. Время предоставления результатов молекулярно-генетических исследований, проведенных для исключения/подтверждения наличия МЛУ возбудителя в диагностическом материале не должно превышать двух рабочих дней.

4. Для всех пациентов, у которых были выделены клинические штаммы *M.tuberculosis*, должны быть проведены исследования спектра лекарственной устойчивости микробиологическими методами – на жидких средах с применением автоматического анализатора Bactec MGIT 960/320, или методом пропорций (для препаратов, для которых критические концентрации установлены только для этого метода [20], или нитрат-редуктазным методом.

Время получения спектра лекарственной чувствительности возбудителя не должно превышать 6 недель с начала обследования.

5. В случае выявления устойчивости к изониазиду и рифампицину дважды МГМ, исследования лекарственной чувствительности к этим препаратам не должны дублироваться методом посева.

6. При выявлении устойчивости дважды любыми методами к любому препарату, при дальнейших исследованиях лекарственной чувствительности образцов от этого пациента, чувствительность к этим препаратам исследоваться не должна.

Список литературы

1. The Costly Burden of Drug-Resistant TB Disease in the U.S. | Fact Sheets | Newsroom | NCHHSTP | CDC Available online: 730. <https://www.cdc.gov/nchhstp/newsroom/fact-sheets/tb/costly-burden-drug-resistant.html> (accessed on Aug 30, 2023).

2. WHO consolidated guidelines on tuberculosis: Module 3: diagnosis – rapid diagnostics for tuberculosis detection [Internet] 732. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33999549/> (accessed on Aug 28, 2023)

3. Seung, K.J.; Keshavjee, S.; Rich, M.L. Multidrug-resistant tuberculosis and extensively drug-resistant tuberculosis. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* 2015, 5, a017863.

4. Яблонский П.К. Фтизиатрия. Национальные клинические рекомендации. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2015; 240.

5. WHO. Definitions and reporting framework for tuberculosis—2013 revision Geneva: World Health Organization, 2013. revision: updated December 2014 and January 2020. -40p. ISBN-9789241505345.

6. WHO operational handbook on tuberculosis. Module 3: diagnosis. Tests for tuberculosis infection. Geneva: World Health Organization; 2022.

7. Клинические рекомендации по этиологической диагностике туберкулеза. Скорняков С.Н., Шульгина М.В., Ариэль Б.М., Баласанянц Г.С., Вахрушева Д.В., Владимиров А.В., Галкин В.Б., Гринберг Л.М., Журавлев В.Ю., Кравченко М.А., Красноборова С.Ю., Мордык А.В., Петренко Т.И. Медицинский альянс. 2014. № 3. С. 39-58.

8. Фтизиатрия. Перельман М.И., Корякин В.А., Богодельникова И.В., 2004. ОАО "Издательство Медицина", 520 с. ISBN 5-225-04082-9
9. Фтизиатрия. национальное руководство / под ред. М.И. Перельмана. - М. ГЭОТАР-Медна, 2007. - 512 с. SBN 978-5-9704-0497-3.
10. Культуральные методы диагностики туберкулеза. Учебное пособие для проведения базового курса обучения специалистов бактериологических лабораторий учреждений противотуберкулезной службы. Под редакцией чл.-корр. РАМН, профессора В.В. Ерохина. Москва, 2007.
11. Балабанова Я.М., Дробниевский Ф. и др. Оптимизация лабораторной диагностики туберкулеза с использованием современных бактериологических и молекулярно-биологических методов// Пробл. туб. и болезн. легких – 2011- № 2- стр. 36-42
12. Use of liquid TB culture and drug susceptibility testing (DST) in low and medium income settings. Summary of the report of the expert group meeting on the use of liquid culture media. Geneva, Switzerland: WHO, 2007 www.who.int/entity/tb/dots/laboratory/
13. WHO global lists of high burden countries for TB, multidrug/rifampicin-resistant TB (MDR/RR-TB) and TB/HIV, 2021–2025. – 2021 – 16p. ISBN 978-92-4-002943-9.
14. Technical report on critical concentrations for drug susceptibility testing of medicines used in the treatment of drug-resistant tuberculosis Available online: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/260470> (accessed on Sep 13, 2023).
15. WHO consolidated guidelines on drug-resistant tuberculosis treatment. - 2019. – 96p. ISBN 978-92-4-155052-9.
16. Siddiqi, S.; Ahmed, A.; Asif, S.; Behera, D.; Javaid, M.; Jani, J.; Jyoti, A.; Mahatre, R.; Mahto, D.; Richter, E.; et al. Direct drug 800 susceptibility testing of Mycobacterium tuberculosis for rapid detection of multidrug resistance using the Bactec MGIT 960 801 system: a multicenter study. J. Clin. Microbiol. 2012, 50, 435–440, doi:10.1128/JCM.05188-11.
17. Salman H. Siddiqi. Guidelines for Second-line Drug Susceptibility Testing in MGIT Based on Published Studies. Critical Concentrations and Procedures – Рекомендации по тестированию чувствительности микобактерий туберкулеза к противотуберкулезным препаратам второго ряда с использованием MGIT, основанные на опубликованных результатах исследований. Критические концентрации и процедуры. – 2014. – 28 с.

18. Hilleman D., Rusch-Gerdes S., Richter E. et al. Feasibility of genotype MTBDRsl assay for fluoroquinolone, amikacin-capreomycin, and ethambutol resistance testing of *Mycobacterium tuberculosis* strains and clinical specimens. *J Clin Microbiol.* 2009; 47:1767-1772
19. Ариэль Б.М., Ковальский Г.Б., Блюм Н.М., Беллендир Э.Н. Туберкулез (рабочие стандарты патологоанатомического исследования). Библиотека патологоанатома. 2009.- Вып. 101.- 80 с.
20. Hanna B A, Ebrahimzadeh A, Elliott L B, et al. Multicenter evaluation of the BACTEC MGIT 960 system for recovery of mycobacteria. *J Clin Microbiol* 1999; 37: 748–752.

2.5 Инструментальные диагностические исследования

В настоящее время для диагностики поражения трахеобронхиальных изменений широко используют бронхоскопию, значительно реже — торакоскопию и медиастиноскопию [1].

Применяемые методы инвазивные методы:

- трансbronхиальная биопсия легкого,
- трансbronхиальная пункционная биопсия,
- трансbronхиальная игольная аспирация лимфоузлов средостения под контролем ультразвука (ультразвуковая бронхоскопия с биопсией лимфоузлов средостения),
- конфокальная эндомикроскопия,
- различные виды пункций (плевральная, люмбальная пункция, заднего свода влагалища и т.д.),
- лапароскопия, гистероскопия, аспирационная биопсия.

Хирургические методы:

- медиастиноскопия,
- видеоторакоскопия с биопсией лимфатического узла и легкого,
- открытая биопсия легкого,
- иные лечебно-диагностические операции и биопсия тканей пораженного органа.

Фибробронхоскопия

Бронхоскопию всегда сочетают с осмотром трахеи, т.е. производят трахеобронхоскопию. Для бронхоскопии используют гибкий бронхоскоп со стекловолоконной оптикой — фибробронхоскоп.

По специальным показаниям, обычно связанным с некоторыми эндоскопическими вмешательствами, используют жесткий (металлический) бронхоскоп (Рисунок 1).



Рисунок 1 – Проведение бробрехоскопии

Фибробронхоскоп имеет небольшой диаметр (5—6 мм и меньше) и хорошо изгибается. Углом изгиба его концевой части можно управлять. Благодаря малому диаметру и хорошей управляемости фибробронхоскопом можно осмотреть не только главные, долевые и сегментарные, но и субсегментарные бронхи.

При осмотре бронхов оценивают состояние и кровоточивость слизистой оболочки, характер бронхиального содержимого, диаметр просвета бронхов, эластичность, тонус и подвижность бронхиальной стенки.

При диагностическом исследовании его заканчивают забором материала для бактериологического и патоморфологического исследования. У больных туберкулезом легких бронхоскопия позволяет не только оценить состояние бронхиального дерева, но и получить материал для гистологической верификации диагноза туберкулеза при отрицательных данных бактериологического исследования.

Бронхоскопия играет решающую роль в дифференциальной диагностике туберкулеза легких (ТБЛ), микобактериоза, рака легких, саркоидоза и многих других заболеваний, которые врач может ошибочно принять за туберкулез (ТБ). Современная бронхоскопия также может дать цитопатологическое, микробиологическое и молекулярное подтверждение заболевания, тем самым давая врачу окончательный диагноз и профиль лекарственной чувствительности микобактерий. При эндобронхиальном туберкулезе (ЭТББ), особенно при его сочетании с бронхиальной обструкцией, только бронхоскопия позволяет добиться быстрого,

эффективного и безопасного излечения инфекционных поражений бронхиального дерева [2,3].

При необходимости бронхолог может получить цитопатологические образцы из легочной паренхимы, бронхиальной стенки (щетка, щипцы, игольная биопсия) и из средостения (с использованием традиционной трансбронхиальной игольной аспирации или эндоскопических вмешательств под контролем УЗИ). Все полученные образцы могут быть направлены на цитопатологическое, культуральное исследование и обнаружение микобактерий методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) [2].

При проведении диагностики можно провести исследование лаважа бронхов и забрать жидкость с клетками из нижних отделов дыхательных путей для лабораторного исследования, которое имеет значение в диагностике (Рисунок 2).

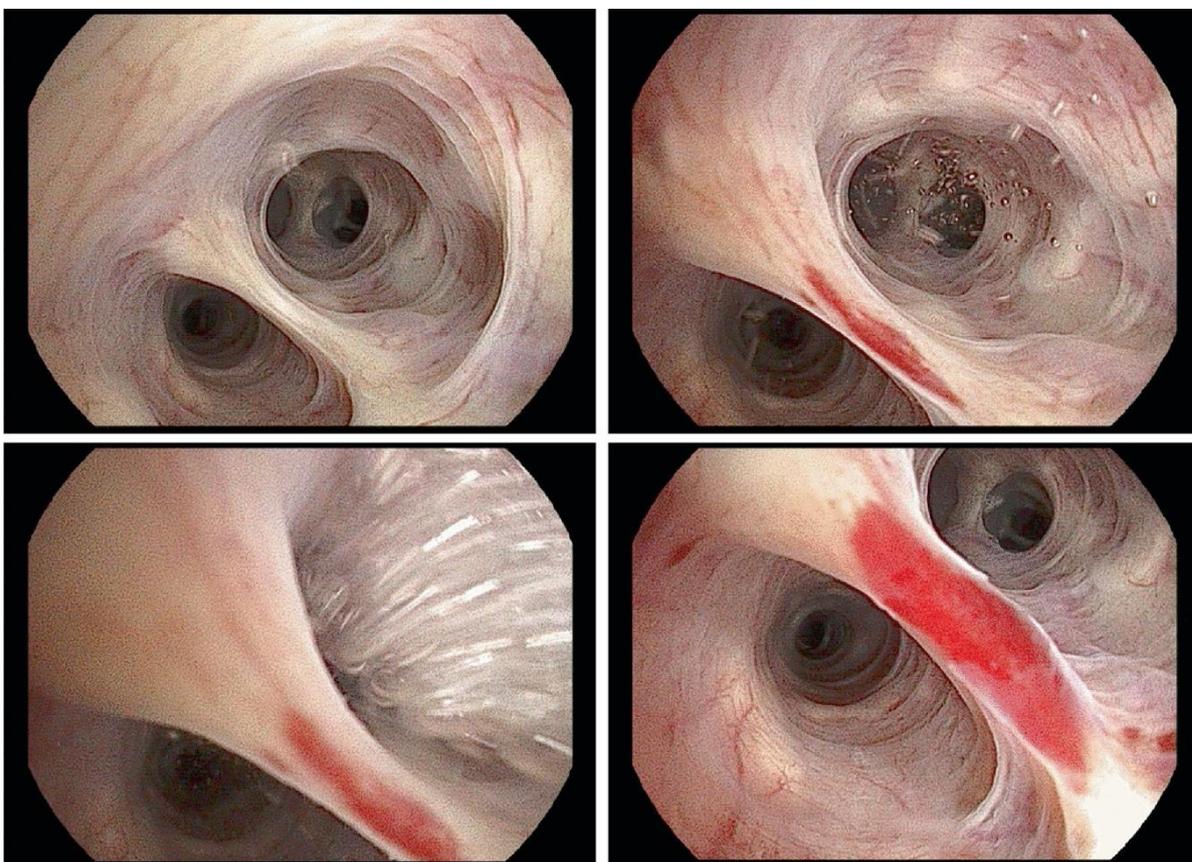


Рисунок 2 - Эндоскопическая картина бронхоальвеолярного лаважа и промываний бронхов (видеобронхоскоп Pentax EB15 J10) [2]

Изучение цитограммы, определение числа Т - лимфоцитов и их субпопуляций осуществляют у больных с диффузными заболеваниями легких. По протеолитической и антипротеолитической активности лаважной жидкости судят о фазе легочного процесса, а по уровню липидов и фосфолипидов оценивают состояние сурфактантной системы легких [4].

Можно также провести лаваж бронхов и забрать жидкость с клетками из нижних отделов дыхательных путей для лабораторного исследования, которое имеет значение в диагностике. Изучение цитограммы, определение числа Т-лимфоцитов и их субпопуляций осуществляют у больных с диффузными заболеваниями легких.

По протеолитической и антипротеолитической активности лаважной жидкости судят о фазе легочного процесса, а по уровню липидов и фосфолипидов оценивают состояние сурфактантной системы легких.

Браш биопсия

Технически браш биопсию выполняют при бронхоскопии цитологической щеткой, покрытой внешней оболочкой или непокрытой (рисунок 3).

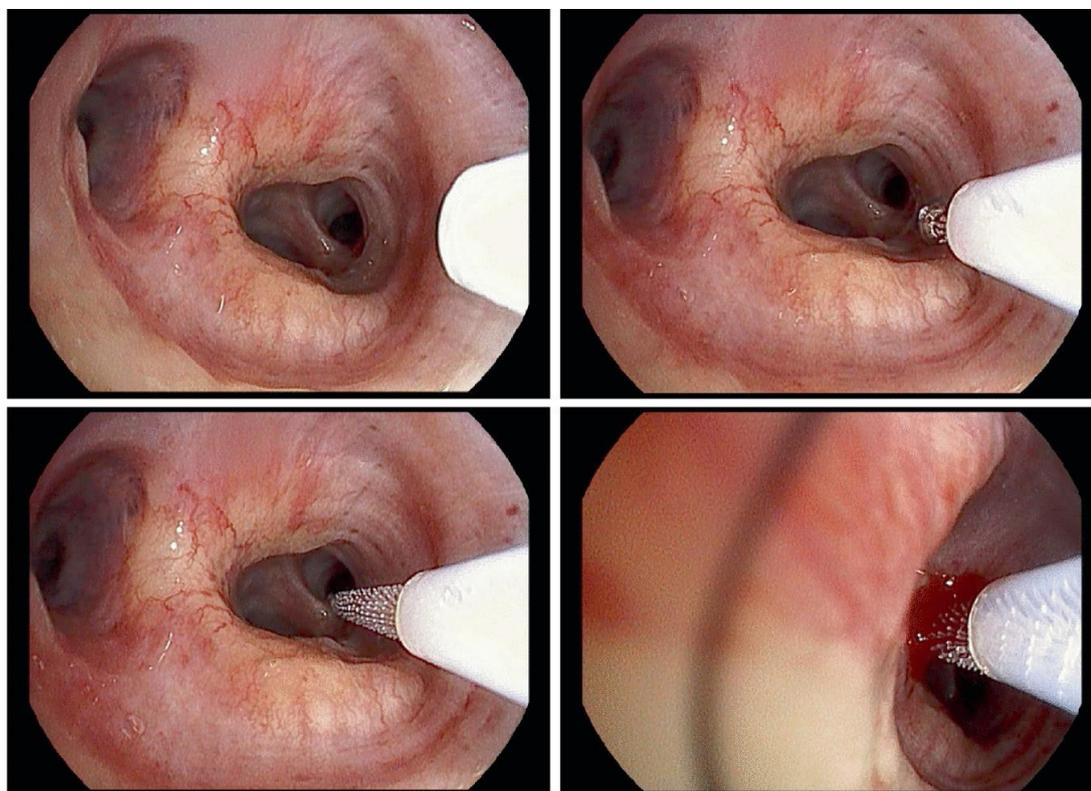


Рисунок 3 - Эндоскопическая картина проведения браш биопсии (видеобронхоскоп Pentax EB15 J10) [2]

Этот метод биопсии позволяет получать цитологические мазки и/или погружать их в физиологический раствор для дальнейшей ПЦР или культурального обнаружения микобактерий. Эту технику можно использовать для периферической части легкого или видимых эндобронхиальных поражений.

Торакоскопия (плевроскопия) и видеоторакоскопия

Для проведения видеоторакоскопии нужны торакоскопы с разным углом зрения, видеокамера, осветитель, мониторы с цветным изображением, записывающая аппаратура. Необходимо также дополнительное хирургическое оснащение, так как, кроме осмотра и биопсии, часто показаны различные лечебные манипуляции (Рисунок 2).

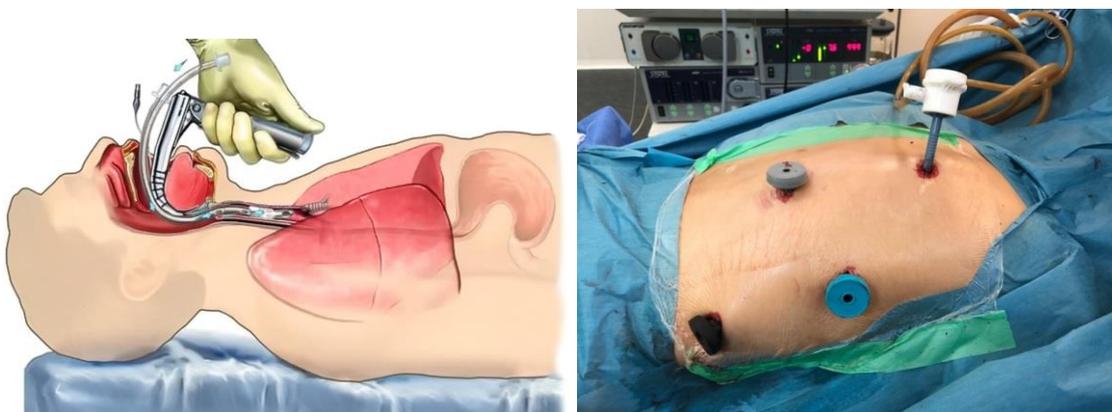


Рисунок 2 – Доступы при проведении видеоторакоскопии

Свободный осмотр и манипуляции в плевральной полости требуют спадения легкого на $1/2$ — $1/3$ своего объема, поэтому искусственный пневмоторакс иногда накладывают перед видеоторакоскопией. У больных с экссудативным плевритом необходимы разгрузочные пункции с замещением жидкости воздухом. Анестезия общая — эндотрахеальный наркоз с раздельной интубацией бронхов и ИВЛ. В полость плевры проколами грудной стенки вводят 2 или 3 специальных троакара. Через один троакар (торакопорт) вводят оптический торакоскоп и соединяют его с видеокамерой для передачи изображения на один или два монитора.

Другие торакопорты служат для проведения инструментов. Плевральные листки, легкое, средостение осматривают, при показаниях производят биопсию — чаще щипцовую или пункционную. Торакоскопическую картину

плевральной полости можно фотографировать, передавать на экран и проводить видеозапись.

Осложнениями видеоторакоскопии могут быть кровотечение, подкожная эмфизема, длительное просачивание воздуха из легкого после биопсии.

Основными причинами для отказа от видеоторакоскопии являются дыхательная недостаточность, облитерация плевральной полости.

Недостатки метода связаны с необходимостью отдельной вентиляции легких и невозможностью пальпации легкого и других структур грудной полости.

Трансбронхиальная криобиопсия легких

Трансбронхиальная криобиопсия легких (ТБЛК) внедрена как альтернатива хирургической биопсии легких в диагностике интерстициальных заболеваний легких (ИЗЛ) и туберкулеза органов дыхания [1] (Рисунок 4).



Рисунок 4 – Проведение криобиопсии

Биоптаты получены под рентгеноскопическим контролем с помощью гибкого бронхоскопа. Датчики охлаждаются диоксидом углерода, под температурой до -75°C в течение нескольких секунд [9].

Минимальное число возможных осложнений: пневмоторакс, кровотечение более 3 минут.

Эндоскопическая биопсия средостения и легочной ткани под контролем ультразвукового аппарата

В последние годы широкое распространение получили методы навигационной бронхоскопии как для средостения, так и для паренхимы легких. Первоначально ФБС под контролем ультразвука (EBUS-TBNA) широко применялась в онкологии и радикально изменила подход к стадированию в торакальной онкологии.

В диагностике туберкулеза органов дыхания EBUS-TBNA также оказался достаточно чувствительным (80%) и специфичным (100%) при выявлении туберкулеза средостения [2].

Помимо взрослых пациентов с подозрением на ТБЛА, существуют некоторые фундаментальные ограничения подхода EBUS-TBNA в педиатрической популяции по анатомическим причинам (т. е. диаметру трахеи).

В этой ситуации может быть эффективно использован подход EUS-b-FNA при чреспищеводном размещении эхобронхоскопа (рисунок 5).

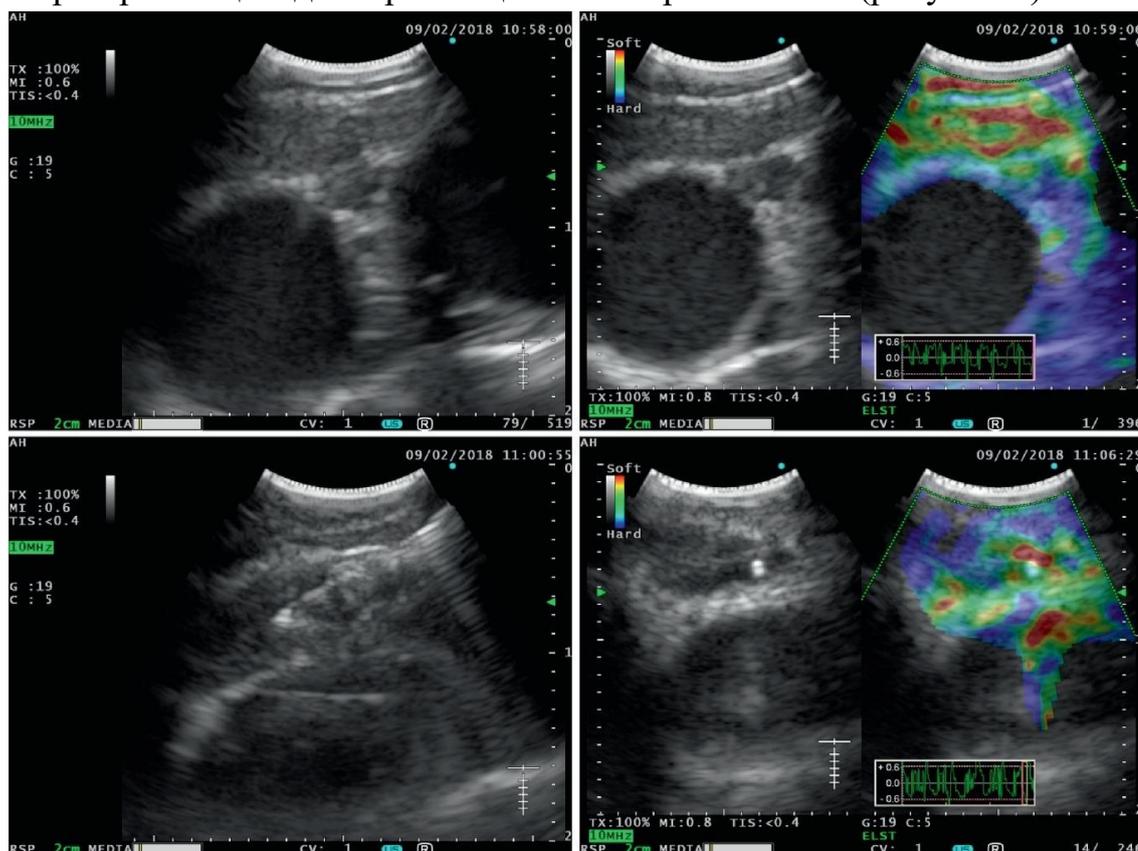


Рисунок 5 - Ультразвуковая картина ЭУЗИ-б-ФНА у четырехлетнего ребенка с подозрением на ТБЛА (эхобронхоскоп Olympus BF UC180F, американский центр Olympus EU ME2) [2]

Другой ультразвуковой метод, радиальное эндобронхиальное ультразвуковое исследование (rEBUS), позволяет осуществлять навигацию по периферическим очагам легочной паренхимы.

После локализации поражения ультразвуковой мини-зонд можно снять и регулярно проводить биопсию. Недостатком этого метода является невозможность гарантировать, что биопсия будет выполнена в том же месте, где поражение было обнаружено с помощью rEBUS. Другой вариант — использовать расширенный рабочий канал «направляющий интродьюсер», позволяющий снять мини-зонд и зафиксировать место для дальнейшей биопсии.

Медиастиноскопия

Медиастиноскопия представляет диагностическую операцию с осмотром переднего средостения. Операцию выполняют под наркозом. Делают небольшой разрез над яремной вырезкой грудины, затем вдоль трахеи разделяют ткани до ее бифуркации. После этого в средостение вводят клинок или тубус медиастиноскопа и под прямым контролем зрения или мониторным контролем производят пункцию, выкусывание, удаление паратрахеальных и бифуркационных лимфатических узлов.

Медиастиноскопия представляет диагностическую операцию с осмотром переднего средостения (Рисунок 6). Используют специальный аппарат — медиастиноскоп. Последний может быть соединен с монитором (видеомедиастиноскоп).

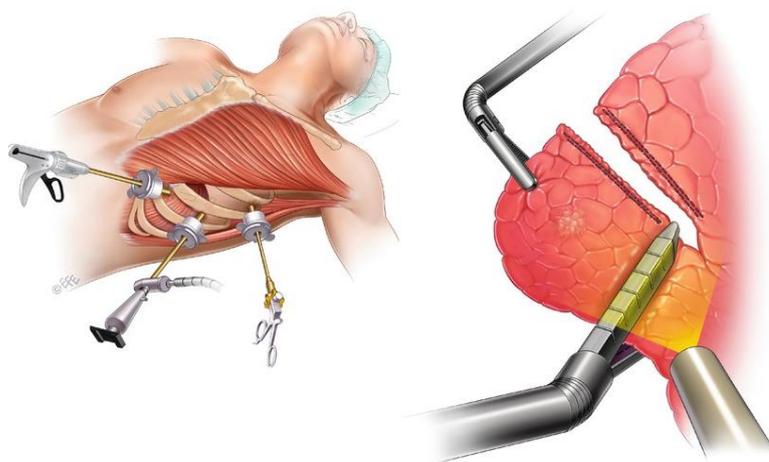


Рисунок 6 – Проведение медиастиноскопии

Операцию выполняют под наркозом. Делают небольшой разрез над яремной вырезкой грудины, затем вдоль трахеи разделяют ткани до ее бифуркации. После этого в средостение вводят клинок или тубус медиастиноскопа и под прямым контролем зрения или мониторным контролем производят пункцию, выкусывание, удаление паратрахеальных и бифуркационных лимфатических узлов.

При проведении процедуры возможны следующие осложнения: кровотечение, пневмоторакс, повреждение нервов гортани.

При расширенной медиастиноскопии: из переднего средостения проникают медиастиноскопом и специальными инструментами в область корней легких, намеренно перфорируют медиастинальную плевру и входят в плевральную полость.

В результате такой медиастиноплевроскопии для биопсии оказываются доступными глубоко расположенные лимфатические узлы, легкие, плевра. даление доли легкого проводится при: туберкулезе, включая фиброзно-кавернозную, кавернозную форму, туберкулему легкого и казеозную пневмонию; центральном и периферическом раке легкого, карциноиде; неспецифических заболеваниях легких, к числу которых принадлежат бронхоэктатическая болезнь, буллезная эмфизема и абсцесс легкого; врожденных заболеваниях легких, в частности при секвестрации, гипоплазии, кисте; паразитарных заболеваниях легких и средостения, в особенности эхинококкозе.

Пункция плевральной полости

Пункция плевральной полости является одним из важных диагностических мероприятий, в том числе нередко имеет лечебное значение [1,2] (Рисунок 7).

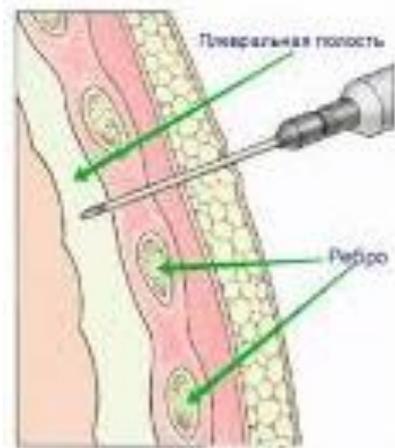


Рисунок 7 - Проведение пункции плевральной полости

Перед плевральной пункцией необходимо физикальное и многоплоскостное рентгенологическое обследование больного для уточнения наличия и локализации жидкости, газа и возможных патологических образований в плевральной полости.

Обычно пункцию производят в сидячем положении больного. Плечо на стороне пункции отводят вверх и вперед для расширения межреберных промежутков. Голову и руку больного лучше поддерживать. При рубцовых изменениях плевры и легких, когда при ранении вен возможна воздушная эмболия, пункцию безопаснее делать в положении лежа с опущенным головным концом стола или кровати.

Классическим местом для удаления жидкости из плевральной полости является седьмой или восьмой межреберный промежуток между средней подмышечной и лопаточной линиями. Воздух из полости плевры обычно отсасывают при пункции во втором межреберном промежутке по среднеключичной линии. Под местной анестезией прокол грудной стенки делают достаточно длинной и толстой иглой. Ее продвигают по верхнему краю ребра во избежание повреждения сосудов и нерва, которые проходят вдоль нижнего края. Игла должна быть соединена со шприцем посредством крана или силиконовой трубки. При отсасывании жидкости перед отсоединением шприца кран закрывают или накладывают зажим на трубку.

Большое количество жидкости из плевральной полости следует удалять медленно во избежание быстрого смещения органов средостения. В сложных и нетипичных ситуациях плевральную пункцию можно производить под рентгенотелевизионным, ультразвуковым или КТ контролем.

Осложнениями плевральной пункции могут быть внутриплевральное кровотечение, воздушная эмболия сосудов головного мозга, прокол легкого, желудка.

Биопсия плевры, легких и лимфатических узлов

В некоторых случаях биопсия является единственным методом, позволяющим установить точный морфологический диагноз. Получение биоптатов легкого, бронхов, плевры, лимфатических узлов в некоторых случаях является единственным способом диагностики заболевания. Часто используют трансбронхиальную, трансторакальную, видеоторакоскопическую, медиастиноскопическую, прескаленную, открытую биопсию, а также пункционную биопсию лимфатических узлов. Для получения биоптата из прилежащих к бифуркации трахеи и бронхам лимфатических узлов широко применяют пункцию специальной иглой через бронхоскоп.

Трансбронхиальную щипцовую биопсию можно производить и для исследования легочной ткани. Бронхофиброскопию предпочтительно делать под местной анестезией в рентгеноэндоскопическом кабинете под контролем рентгенотелевидения.

При локальных процессах биопсию производят из зоны рентгенологически определяемой патологии, при диффузных или диссеминированных процессах — из наиболее измененной зоны. Бронхоскоп проводят в нужную зону «до упора», а затем его чуть извлекают и выдвигают щипцы. На высоте вдоха их продвигают возможно глубже, чуть преодолевая легкое сопротивление. В 3—4 см от грудной стенки щипцы раскрывают и на выдохе смыкают бранши. Обычно такими приемами удается получить 2—3 кусочка легочной ткани, достаточных для гистологического исследования. Осложнений, как правило, не бывает. Небольшое кровохарканье опасности не представляет. В единичных случаях при повреждениях висцеральной плевры может возникнуть пневмоторакс.

Аспирационную и щеточную биопсию из сегментарных, субсегментарных и даже более мелких бронхов можно производить и без бронхоскопии. Для этого рентгеноконтрастный управляемый катетер вводят под местной анестезией через нос и под контролем рентгенотелевидения продвигают к патологической тени. Специальными инструментами скарифицируют прилежащую ткань и забирают материал для цитологического исследования. При наличии в легком полости распада целесообразно в конце исследования ее промыть и ввести антибиотики.

Список литературы

1. Яблонский П.К. Фтизиатрия. Национальные клинические рекомендации. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2015; 240.
2. Sivokozov, I., Ergeshov, A. (2023). Role of Bronchoscopy in Diagnostics and Treatment of Tuberculosis. In: Rezaei, N. (eds) Tuberculosis. Integrated Science, vol 11. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-031-15955-8_9.
3. Фтизиатрия. Перельман М.И., Корякин В.А., Богодельникова И.В., 2004. ОАО "Издательство Медицина", 520 с. ISBN 5-225-04082-9
4. Davidsen JR, Skov IR, Louw IG, Laursen CB. Implementation of transbronchial lung cryobiopsy in a tertiary referral center for interstitial lung diseases: a cohort study on diagnostic yield, complications, and learning curves. *BMC Pulm Med.* 2021 Feb 25;21(1):67. doi: 10.1186/s12890-021-01438-1. PMID: 33632180; PMCID: PMC7908747.
5. Клинические рекомендации «Туберкулез у взрослых», 2022.
6. Клинические рекомендации «Туберкулез у детей», 2022.
7. Туберкулез органов дыхания у детей и подростков: рук. для врачей/ под ред. А.Э. Эргешова, Е.С.Овсянкиной, М.Ф.Губкиной. М., 2019. -524 с.
8. Внелегочный туберкулез. Руководство для врачей» (под ред. Н.А. Браженко). Спб., СпецЛит, 2013. - С.14-37.
9. Casoni GL, Tomassetti S, Cavazza A, Colby TV, Dubini A, Ryu JH, Carretta E, Tantalocco P, Piciocchi S, Ravaglia C, Gurioli C, Romagnoli M, Gurioli C, Chilosi M, Poletti V. Transbronchial lung cryobiopsy in the diagnosis of fibrotic interstitial lung diseases. *PLoS One.* 2014 Feb 28;9(2):e86716. doi: 10.1371/journal.pone.0086716.

2.6 Морфологические методы диагностики туберкулеза органов дыхания

В настоящее время инфекционная патология признана одной из наиболее важных проблем общественного здравоохранения. По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), в 2016 г в десятке наиболее частых причин смерти находятся ишемическая болезнь сердца, инсульт, хроническая обструктивная болезнь легких, пневмония, болезнь Альцгеймера и рак органов дыхания, сахарный диабет, кишечные инфекции [1].

Патологическая анатомия является своего рода связующим звеном между клиникой и эпидемиологией туберкулеза и в настоящее время стоит на достаточно высоком уровне благодаря богатейшим возможностям, открытым перед нею современными медицинскими технологиями. Патологическая анатомия изучает воспалительный процесс у больных туберкулезом на *семи структурных уровнях*: организменном, системном, органном, тканевом, клеточном, субклеточном и молекулярном [2].

С *организменного уровня* начинается изучение туберкулёзного больного в клинике и тела умершего в секционном зале. Это позволяет рассматривать туберкулез интегрально как болезнь целостного организма в ее многообразных проявлениях и во взаимосвязи всех его органов и систем.

Примером *системного уровня* изучения туберкулеза может служить сопоставление изменений, найденных при исследовании в отдельности дыхательной системы и системы лимфатических узлов при разных формах туберкулёза, с изменениями сердечно-сосудистой, выделительной и других систем организма.

Органный уровень позволяет обнаруживать изменения легких, сердца, печени и других органов как таковых и сочетается, как правило, с изучением тканей и клеток микроскопическими методами, будучи тогда уже, в сущности, *тканевым и клеточным* уровнем. Подавляющая масса фактического материала, которым располагает в настоящее время патологическая анатомия туберкулеза, – это результаты микроскопического и гистохимического исследования тканей и клеток. Как подробно сказано ниже, при туберкулёзном воспалении они подвергаются многообразным структурным нарушениям, - погибают, формируют необычные тканевые и клеточные комплексы, например, специфическую грануляционную ткань, замещаются фиброзными разрастаниями и т.п.

Большой вклад в изучение туберкулеза на тканевом и клеточном уровне внесен отечественными патологоанатомами и прежде всего А.И. Абрикосовым, А.И. Струковым, В.Г. Штефко и А.Н. Чистовичем, чьи работы вошли в золотой фонд фтизиатрии и получили признание в качестве классических. Важнейшие гистохимические работы были выполнены В.И. Пузик, О.А. Уваровой и З.С. Земсковой.

Субклеточный уровень позволяет наблюдать клеточные ультраструктуры, подвергающиеся тем или иным изменениям при туберкулёзе, с помощью трансмиссионных и сканирующих электронных микроскопов. При оценке патологической анатомии туберкулеза этим изменениям принадлежат решающая роль, поскольку они являются наиболее ранними, первоначальными проявлениями заболевания, во многом определяющими его дальнейшее развитие и прогноз. Кроме того, при больших увеличениях, получаемых с помощью электронного микроскопа, хорошо виден сам возбудитель туберкулеза – *Mycobacterium tuberculosis* и можно детально проследить его взаимодействие с клетками и ультраструктурными органеллами вплоть до гибели в фагосомах. В этой связи трудно обойти вниманием работы московского патологоанатома В.В. Ерохина и его школы, проследивших персистенцию в организме невидимых в обычный микроскоп L-форм туберкулезных микобактерий и их роль в развитии заболевания. Методами электронной микроскопии и гистохимии была изучена сурфактантная система легких при туберкулёзе и ее место в его патогенезе, а также доказана возможность развития сурфактант-зависимых ателектазов и их предупреждения препаратами сурфактанта.

И, наконец, *молекулярный уровень* изучения туберкулеза выделяется в последние годы в результате достижений молекулярной биологии и создания молекулярной медицины. Для патологической анатомии туберкулеза важнейшее значение имеет то обстоятельство, что молекулярная биология стирает привычные структурно-функциональные границы между регуляторными системами организма – нервной, эндокринной и иммунной и вскрывает общий «молекулярный язык» обмена сигнальной информацией между клетками, тканями и органами. Выяснилось, что нервные, эндокринные и иммунные клетки синтезируют идентичные сигнальные молекулы и другие биологически активные вещества - медиаторы межклеточных взаимодействий. «Все более актуальной и многообещающей проблемой современной медицины становится выявление поликомпонентного и многоуровневого механизма единой нейроиммуноэндокринной регуляции физиологических функций, которой

принадлежит роль универсального дирижера всех процессов жизнедеятельности» (Пальцев М.А., Кветной И.М., 2014).

Как у секционного стола, так и при анализе операционного и биопсийного материала специалисты порою сталкиваются с определенными трудностями. Это касается, прежде всего, диагностики туберкулеза на ранних его стадиях, когда специфичность морфологических изменений еще не сформировалась. Много сложностей возникает и в трактовке терминальных поражений, в решении вопросов о причине смерти туберкулезных больных. Наконец, надо иметь в виду, что в настоящее время патологоанатомическая диагностика туберкулёза проходит в условиях его патоморфоза, обусловленного изменениями биологических свойств микобактерий и реактивных свойств макроорганизма.

Об этом необходимо помнить при сопоставлении патологоанатомического диагноза с клиническим, что далеко не просто в условиях, когда в ряде учреждений пользуются собственными классификациями, возможно, удобными по ряду соображений, но неприемлемыми с точки зрения объективного учета различных форм заболевания.

Макроскопическое исследование

Определение формы туберкулеза является результатом точного определения локализации, распространенности и характера поражений. Главная трудность заключается в том, что лишь в исключительно редких случаях поражения носят ограниченный характер и сосредоточиваются в части одного органа. У большинства больных имеются поражения одного, двух и даже многих органов. К моменту исследования они достигают больших или меньших размеров в разных органах, так что наиболее мелкие, иногда самые важные, имеющие наибольшее значение для диагностики, выявляются лишь при самом тщательном исследовании. Определенные препятствия возникают и при обширных генерализованных поражениях, так как в этих случаях надо не только констатировать их наличие, что сделать относительно просто, но и выявить источник генерализации; последний же может располагаться в органах, обычно исследуемых лишь в исключительных случаях (например, в позвонках или в придатке яичка). Пристальное внимание ко всем органам является, стало быть, непременным условием макроскопического исследования.

Хотя о распространенности патологоанатомических изменений при туберкулезе легких можно составить общее, достаточно полное

представление по рентгенограмме, техника вскрытия должна предусматривать ряд особенностей, позволяющих установить топографические соотношения изменений в легких с ребрами, ключицами, фрагментами грудной клетки. Топография туберкулезных изменений определяется лучше всего при том условии, что исследование проводится через 1 сутки после фиксации, когда все легкое можно разрезать на серию срезов толщиной 0,5-1,0 см, тщательно изучая каждый срез. В случае вовлечения лимфатических узлов корня можно иссекать en masse весь комплекс прикорневой зоны, включающий, наряду с лимфатическими узлами, крупные стволы бронхов, сосудов и клетчатку средостения

4.2. Клинико-анатомические параллели при туберкулезе

Как видно из вышеизложенного, обилие клинико-анатомических особенностей туберкулёза поражает своим разнообразием. Каждую его форму можно рассматривать как отдельное заболевание, поскольку она имеет разительные отличия от иных форм. Укажем в качестве примера всего лишь на две формы туберкулеза - тифобациллез Ландузи и милиарный туберкулез. В первом случае заболевание заканчивается фатально в считанные дни, а во внутренних органах имеются только распространенные мелкоочаговые некротические изменения, по которым крайне затруднительно высказаться однозначно о нозологической сущности патологического процесса. При милиарном же туберкулезе вся патология сводится к формированию характерных бугорков в легких, хотя эта специфика вызывает большие сомнения, поскольку аналогичные изменения обнаруживаются при многих гранулематозных болезнях.

Клинико-анатомическое разнообразие туберкулёза сохраняется на протяжении не одного десятилетия. Какая-либо одна из его форм, в определенный промежуток времени занимающая главенствующие позиции в распределении частот, уступает свое место другим, а может быть даже совершенно вытесненной из распределения. Именно это относится к казеозной пневмонии и генерализованному гематогенному туберкулезу, которые в 70-80-е годы прошлого столетия оказались исключенными из клинической классификации.

Проведение клинико-анатомических параллелей обращает внимание на то, что одна и та же форма туберкулеза легкого или какого-либо иного органа может стать итогом патогенетически различных процессов. Доказательством

сказанного служат: а) морфогенез туберкулом легких; б) морфогенез фиброзно-кавернозного туберкулеза легких.

В случае «а» речь идет либо о ранней генерализации первичного туберкулеза с формированием очагового туберкулеза (в большинстве наблюдений), либо о туберкуломе как самостоятельной форме туберкулеза легких взрослых (в меньшинстве наблюдений). В случае «б» факты свидетельствуют о том, что фиброзно-кавернозный туберкулез легких есть на самом деле совокупность двух форм туберкулеза, различных по морфогенезу: первичного туберкулеза легких взрослых и собственно фиброзно-кавернозного туберкулеза, или вторичного (реинфектного) туберкулеза. Первичный туберкулез легких, будь то острый, подострый или хронический, имеет, как показано выше, яркие макро- и микроскопические особенности, что обусловлено последовательным вовлечением в патологический процесс легочной паренхимы (прежде всего), лимфатических сосудов и бронхопупльмональных лимфатических узлов. Сочетание туберкулеза легких, лимфоузлов, костей, серозных оболочек и глаз – это морфологические стигмы хронически текущего первичного туберкулеза.

В настоящее время нельзя проходить мимо этого обстоятельства. При недостаточно тщательном клинико-анатомическом анализе фиброзно-кавернозный туберкулез легких в строгом смысле слова и хронически текущий первичный туберкулез легких смешиваются. Между тем дифференциальная диагностика этих форм является крайне ответственной, поскольку они отличаются как в клинико-эпидемиологическом плане, так и по прогнозу.

Говоря о микроскопических особенностях первичного туберкулеза, следует иметь в виду как специфические особенности туберкулезной гранулемы самой по себе, так и клеточные реакции в интерстициальной соединительной ткани, которые можно рассматривать как морфологический эквивалент общей иммунологической реактивности, то есть сравнительной способности организма отвечать иммунологической реакцией на адекватное антигенное раздражение. «Сущность инфекционной болезни – это иммуногенез, то есть выработка новых форм взаимоотношения организма с соответствующим микроорганизмом» (И.В. Давыдовский). В этом смысле легко протекающая инфекция и нормальный иммуногенез суть синонимы. При неблагоприятно протекающем первичном туберкулезе наблюдается всего лишь неудачная попытка формирования иммунитета. Это не первичный и не вторичный иммунодефицит, а именно несовершенный иммуногенез, отличающий первичный туберкулез у данного больного.

Именно несовершенство иммуногенеза объясняет прогрессирование туберкулеза с формированием генерализованных форм и развитием органных поражений. Общая иммунологическая реактивность к моменту генерализации и даже еще раньше является ущербной, и, следовательно, формирование специфического противотуберкулезного иммунитета становится проблематичным.

Нельзя пренебрегать анамнезом. Мы наблюдали больную с клиническим диагнозом туберкулеза молочной железы, подтвержденным при гистологическом исследовании. Из анамнеза выяснилось, что больная, школьная учительница, получила травму молочной железы, когда какой-то ученик налетел на нее на лестнице и сильно ударил в грудь. В данном случае речь идет о гранулематозном мастите, а совсем не о туберкулезе молочной железы. Как известно, в молочной железе много жировой ткани, при повреждении которой развивается продуктивная реакция, в морфологическом отношении сходная с туберкулезным гранулематозом.

При проведении клинико-анатомических параллелей важнейшая роль принадлежит морфологическому исследованию прежде всего в том отношении, что оно позволяет дать объективную характеристику структурных изменений уже на ранних стадиях заболевания, то есть задолго до развития глубоких структурных изъянов. Это обусловлено тем, что морфологические изменения значительно опережают клинические проявления туберкулеза. Примером может служить распространенная далеко зашедшая гематогенная генерализация при отсутствии каких-либо жалоб или же когда бугорки, состоящие из эпителиоидных клеток и клеток Лангханса, обнаруживаются в легких совершенно случайно при появлении жалоб на осипший голос.

Диагностика туберкулеза не может ограничиваться морфологическим исследованием как таковым. Она должна быть комплексной, причем микроскопическое исследование является лишь одной из ее составных частей. Иными словами, патологоанатомическое исследование является, наряду с рентгенологическим, биохимическим, серологическим и другими, начальным или одним из промежуточных этапов в комплексной диагностике туберкулеза.

Это связано с тем, что в случае прижизненной диагностики патологоанатому попадает небольшой кусочек пораженного органа. В пораженном органе есть участки с еле заметными изменениями, а есть и здоровые участки. Поэтому априори трудно рассчитывать на то, что мы

рассматриваем именно тот участок, который является наиболее информативным в диагностическом отношении. Для диагностики туберкулеза как системной патологии необходимо знать, какие морфологические изменения имеются во всех органах. Кроме того, следует иметь в виду, что прижизненная диагностика проводится на ранних этапах развития патологического процесса, когда специфика заболевания еще не сформировалась, а на первый план выходят морфологические проявления аллергии. Это бывает, например, при туберкулезно-аллергических синовитах или при туберкулезном менингите, клинико-морфологические особенности которого в условиях патоморфоза туберкулеза прекрасно охарактеризованы Н.В. Корнетовой. Бесспорно, большое значение для правильной диагностики туберкулезного менингита имеют данные о составе ликвора, состоянии глазного дна и рентгеноскопии легких. Не следует, однако, переоценивать эти данные в ущерб клинической характеристике болезни. Неправомерно ставить диагноз туберкулезного менингита даже при наличии явных, казалось бы, специфических микроскопических изменений: при других гранулематозных болезнях эти изменения могут быть такими же. По сути дела, врач не должен стремиться «к механизированию» диагностики и предпочтению так называемых «точных» лабораторных исследований перед клиническим опытом» (М.И. Аствацатуров).

Таким образом, проведение клинико-анатомических параллелей предполагает теснейший контакт патологоанатомов и клиницистов с исчерпывающим обсуждением рентгенологических данных, результатов биохимического, иммунологического и бактериологического исследования. Так, с эпидемиологической точки зрения контакт с больным туберкулезом – немаловажный момент. Но если контакт и был, это еще не означает, что при отсутствии четкого морфологического подтверждения заболевание у данного больного именно туберкулез.

Говорить о специфичности серологических и других иммунологических методов диагностики туберкулеза также не приходится. Не так уж редко приходится иметь дело не с «чистым» туберкулезом, а с его сочетанием с другой патологией, в свою очередь накладывающей отпечаток на иммунный статус. А потому явные иммунологические сдвиги обусловлены не только туберкулезом, но и сопутствующей патологией, наличием осложнений и т.п.

Положительные иммунологические реакции на туберкулез наблюдаются иногда у больных раком легкого. Это обусловлено тем, что микобактерии и опухолевые клетки имеют родственные антигены (особенно

в случае эпидермоидного рака) и дают перекрестные иммунологические реакции.

Проведение клинико-анатомических параллелей не обходится без поиска в тканях микобактерий бактериоскопическими и бактериологическими методами. Как ни парадоксально, бактериологическое исследование может сыграть отрицательную роль в диагностике, коль скоро выявление возбудителя в ткани рассматривается формально, вне конкретной ситуации. Для диагностики туберкулеза надо иметь, прежде всего, морфологический субстрат. Если он налицо, мы с большой долей вероятности считаем, что туберкулез есть даже при отсутствии возбудителей.

В противном случае диагноз туберкулеза следует подвергнуть сомнению вплоть до получения и оценки всей дополнительной информации.

Клинический пример

У больной с периферической лимфаденопатией проводилось многократное биопсийное исследование шейных, подмышечных и паховых лимфоузлов; никаких специфических изменений не обнаруживалось. В очередной раз наряду с гистологическим было проведено бактериоскопическое исследование, и в мазках выявлено обилие микобактерий. Очевидно, такие результаты – вещи несовместные. В самом деле, при контрольном бактериологическом исследовании были получены отрицательные результаты, а положительные результаты бактериоскопии признаны ошибочными. В ходе дальнейшего клинического исследования была диагностирована злокачественная опухоль малого таза.

Обнаружение микобактерий в тканях не дает оснований считать диагноз туберкулеза неопровержимым. На это обращали внимание и выдающиеся патологоанатомы, и выдающиеся клиницисты. И. Орт, ученик и преемник Р. Вирхова, писал, что бактериология туберкулеза и многих других заболеваний приобрела такую власть над врачебными дискуссиями и самим врачебным мышлением, что не лишним будет напомнить, что для патологии бактериология является всего лишь одним из источников познания; она отнюдь не господствует над другими источниками, а находится в равноправных отношениях с ними.

Выдающийся клиницист А.А. Кисель по данному поводу высказал следующую мысль: «Я отнюдь не умаляю значения лабораторных исследований, напротив, постоянно говорю, что эта сторона дела должна быть поставлена в наших учреждениях наилучшим образом. Лаборант должен давать нам самые точные ответы на все интересующие нас вопросы, его указания для нас весьма и весьма интересны. Но распознавание болезни,

диагностика должны ставиться главным образом на основании клинической картины болезни. Не следует увлекаться тем, что при некоторых болезнях известен возбудитель. При этих болезнях избежать крупнейших ошибок можно только пользуясь одновременно клиникой и данными лабораторного исследования. Последнее всегда должно играть роль подсобного для клиники служебного метода».

Это касается и результатов ПЦР. При ПЦР выявляется всего лишь ДНК микобактерий, и положительные результаты могут быть получены при отсутствии туберкулеза как такового. Например, микобактерии порою задерживаются в лимфоузлах, даже обызвествленных, или в каком-либо старом легочном очаге. Если возникает острое воспаление или опухоль, вовлекающие этот очаг, в мокроте появляются туберкулезные палочки, однако речь идет все же не о туберкулезе, а о пневмонии, раке или какой-либо иной патологии. Это предостерегает от стандартной диагностики туберкулеза исключительно по бактериологическим данным. Диагностика должна быть строго индивидуализированной.

Говоря о клинико-анатомических параллелях, естественно не проходить мимо еще одного немаловажного обстоятельства. Невозможно не остановиться специально на этих элементарных, казалось бы, вещах, потому что в погоне за получением быстрого патологоанатомического заключения некоторые врачи не придают им должного значения.

Материал, предназначенный клиницистом для гистологического исследования, ни при каких обстоятельствах нельзя делить на части и посылать для исследования в разные учреждения. Известны случаи, когда врачи поступали именно так в погоне за быстрым ответом, заявляя, что в одном учреждении гистологическое исследование проводится быстрее, чем в другом. Это – грубейшая ошибка с непредсказуемыми последствиями. Допустим, что у больного туберкулезный спондилит. Не исключено, что, разделяя операционный материал пополам и посылая в разные учреждения, вы получите разные ответы: от одного патологоанатома, - что обнаружены неспецифические воспалительные изменения, от другого же – что обнаружена опухолевая ткань. И оба заключения вполне правомочны, поскольку у данного больного была сочетанная патология, и каждый патологоанатом имел дело с разным материалом.

Мы неоднократно подчеркивали, что полное знание клинико-рентгенологических данных – необходимое и достаточное условие успешной морфологической диагностики туберкулеза, а неудачная и тем более ошибочная диагностика связана, как правило, именно с отсутствием таких

данных. Каждый клиницист должен непременно помнить об этом, направляя материал на микроскопическое исследование.

Особенности микроскопической диагностики туберкулеза и его активности

Какова бы ни была форма туберкулеза, при гистологическом исследовании в любом органе обнаруживается чередование однотипных изменений: инфильтратов, казеозно-некротических фокусов, бугорков, участков рубцевания, обызвествления, окостенения, полостных образований и др. С учетом ряда ограничений, главным образом, сходства туберкулезных гранулем с продуктивными изменениями другой этиологии, этого вполне достаточно для постановки диагноза и уточнения данных, касающихся формы туберкулёза, найденных на вскрытии.

Следует подчеркнуть, что речь идет именно о подтверждении данных вскрытия, сопоставленных с результатами клинического исследования, притом о подтверждении их всем комплексом гистологических изменений, а не каким-то одним из них и, конечно, не какой-то деталью. Между тем иногда диагноз «туберкулез кожи» ставится на основании того, что в инфильтрате обнаруживается гигантская многоядерная клетка.

При оценке гистологических изменений необходимо помнить о терапевтическом патоморфозе и выяснять, использовалась ли при лечении данного больного специфическая терапия (соотв. в каких дозах) (Рисунок 1).

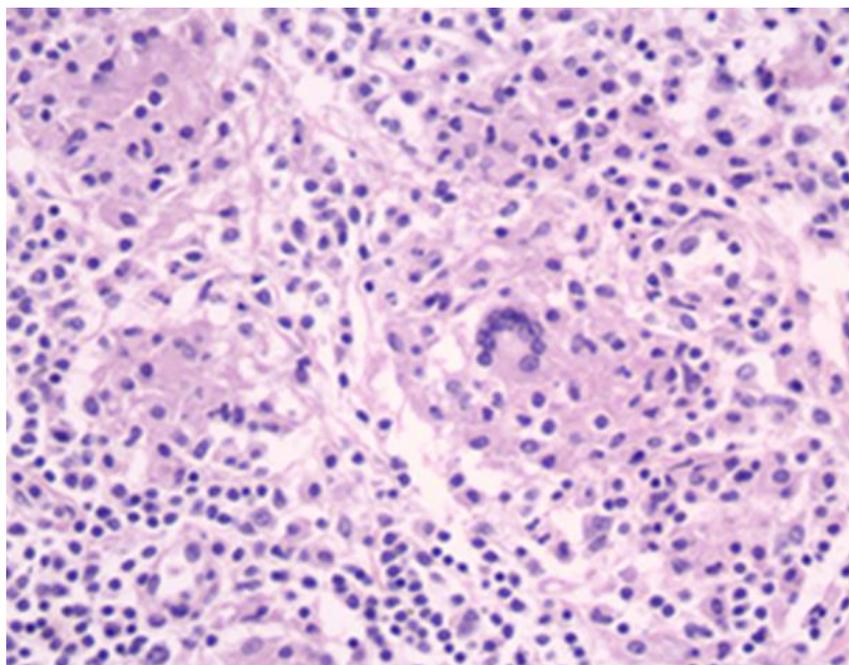


Рисунок 1 - Микроскопическая структура туберкулезного бугорка

Другие методы лечения также могут влиять на морфологию туберкулезных изменений, так что и это надо принимать во внимание.

На основании результатов гистологического исследования можно составить впечатление о давности процесса в каждом очаге поражения и во всем пораженном органе, если суммировать данные, полученные при изучении каждого очага в отдельности. Вопрос о давности поражения довольно часто ставится клиницистами, и от правильного ответа патологоанатома зависит достоверность клинико-рентгенологических и морфологических сопоставлений.

Когда речь идёт об отдельно взятом очаге, вопрос о давности поражения решается элементарно. Так, инфильтраты и экссудативные изменения – это, несомненно, ранние изменения, тогда как фиброзные рубчики, обызвествленные очаги – это изменения поздние. Трудности возникают при оценке давности поражения, когда рассматриваются казеозно-некротические очаги.

Весь многолетний опыт клинико-рентгенологических и патологоанатомических сопоставлений свидетельствует о том, что казеозному некрозу могут подвергаться свежие инфильтраты, с одной стороны, и длительно существующие продуктивные изменения – с другой. Иными словами, если исследуется необызвествленный казеозно-некротический фокус, нельзя правильно ответить на вопрос, какова его давность, ограничившись исследованием срезов, окрашенных

гематоксилином и эозином (Рисунок 16). Чтобы ответ был правильным, следует применить ряд дополнительных окрасок.

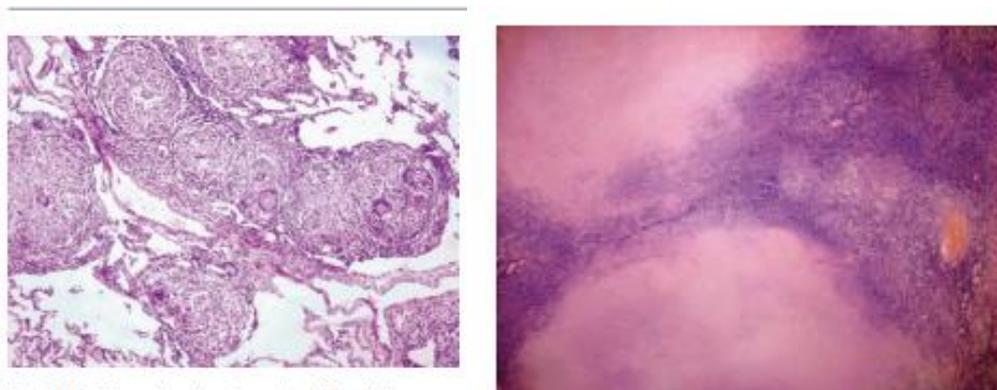


Рисунок 16 - Туберкулезный лимфангит и туберкулезный казеозный лимфаденит

Наиболее простой является окраска по ван Гизону в сочетании с выявлением эластических волокон. Очевидно, если в очаге казеозного некроза выявляются предсуществующие структуры, более или менее сохранившиеся, речь идет о свежих туберкулезных изменениях. Пусть, например, на препаратах, окрашенных этим методом, в казеозном фокусе выявляется правильный альвеолярный каркас, контуры бронхов и сосудов. Из этого следует, что изменения в легких свежие (не более 3-4 недель). Если же в очаге казеоза определяются лишь следы бронхов, сосудов и альвеолярного каркаса в виде обрывков эластических волокон, лежащих совершенно беспорядочно, то это свидетельствует о том, что данный очаг сформировался уже давно (более 1-1,5 месяцев).

Большую помощь при оценке давности специфических изменений может оказать импрегнация серебром по Футу. В свежих казеозно-некротических изменениях никаких волокнистых аргирофильных структур не определяется, тогда как при известной давности воспалительного процесса в очаге выявляются новообразованные ретикулярные волокна. На раннем этапе (3-4 недели) они довольно тонкие, нежные, позднее, по прошествии 1-1,5 месяцев становятся более толстыми и грубыми.

Микроскопическому исследованию принадлежит, несомненно, ведущая роль в диагностике туберкулеза, определении его формы и фазы, а также активности воспалительного процесса. Ее оценка является важным условием правильного прогностического заключения. Туберкулез является

типичным гранулематозным заболеванием; по современным представлениям, гранулема при туберкулезе (соотв. туберкулезный бугорок) представляет собой компактное скопление эпителиоидных клеток и макрофагов, в котором находятся также другие клеточные элементы воспалительного инфильтрата. В каждом случае они представлены разным абсолютным числом и в разных соотношениях.

Макрофаги и эпителиоидные клетки являются, несомненно, типичными и преобладающими в количественном плане клетками бугорка. Помимо них, в туберкулезных бугорках определяются нейтрофильные и эозинофильные гранулоциты, лимфоциты, плазматические клетки. В полностью сформированных бугорках нередко отмечается упорядоченное расположение клеток. Так, лимфоидные элементы сосредоточены, главным образом, в периферических отделах бугорков, нейтрофилы – в центральных. Если в бугорках есть казеозный некроз, он обычно лежит в центральной зоне. Эпителиоидные клетки располагаются частоколом по окружности некротических фокусов. В туберкулезных бугорках имеются и фибробласты. В свежих бугорках они единичны, с течением времени их становится все больше и больше, и в конце концов бугорок «уходит» в склероз, или рубцуется.

По соотношению казеозно-некротических и фиброзных изменений, а также по относительному числу клеток того или иного типа судят об активности специфического воспалительного процесса.

Различают 5 степеней активности:

I степень – затихшие воспалительные изменения.

При этом отмечается полное очищение каверны от гнойно-некротических масс и грануляций. Ее стенка представляет собой однослойное фиброзное образование, на внутренней поверхности которого местами имеются лишь немногочисленные макрофаги. Миллиарные и более крупные очаги диссеминации представляются в виде рубцов, состоящих из более или менее зрелых коллагеновых волокон, между которыми располагаются немногочисленные лимфогистиоцитарные элементы, лежащие либо поодиночке, либо в виде мелких скоплений. В центральных отделах рубцующихся бугорков определяются единичные макрофаги и клетки Лангханса.

II степень – ограниченные активные воспалительные изменения. В отличие от вышеописанного, здесь речь идет о частичном очищении каверн от гнойно-некротических масс и грануляций, которые местами могут оставаться обильными. Порою очищение сопровождается частичной

эпителизацией внутренней поверхности полости, где определяются скопления макрофагов. Свежие воспалительные изменения в окружности полостей и очагов не обнаруживаются, а грануляции находятся в стадии рубцевания. В капсулах, окружающие очаги, казеозно-некротические изменения и другие признаки активности отсутствуют.

III степень – распространенные активные воспалительные изменения без прогрессирования. В этом случае стенки каверн на всем протяжении сохраняют характерную трехслойную структуру. Перикавернозные воспалительные изменения специфического и неспецифического порядка отсутствуют, бугорки и диффузные специфические изменения в капсулах очагов находятся в стадии рубцевания, свежих бугорков нет.

IV степень – распространенные активные воспалительные изменения с начинающимся прогрессированием. Стенка каверны сохраняет трехслойность, однако имеются активные воспалительные изменения в перикавитарной зоне, где располагаются свежие бугорки и очаги катарально-десквамативной пневмонии.

V степень – наиболее острые прогрессирующие изменения. В очагах поражения имеются скопления нейтрофильных гранулоцитов и крупных вакуолизированных макрофагов, а также фибринозный экссудат. Очаги обычно многочисленные, без четких границ, а то и сливающиеся друг с другом. Имеются формирующиеся и уже сформированные казеозно-некротические фокусы, свежие и рубцующиеся бугорки.

При наличии качественно разнообразных изменений, отличающихся по степени активности, как это бывает при прогрессирующих формах туберкулеза, итоговая степень активности дается с учетом наиболее выраженных специфических изменений.

Таким образом, патологическая анатомия туберкулёза разработана в настоящее время на самом высоком уровне, в частности, благодаря трудам отечественных ученых. Она дает клиницисту богатый фактический материал и помогает осознать, каким образом структурные нарушения, обнаруженные в органах и тканях, определяют прогрессирование, стабилизацию или обратное развитие болезни (при реконвалесценции). Это далеко не формальное, не механическое расчленение туберкулезного процесса на отдельные звенья, а логически безупречный системный анализ, когда каждому изменению, обнаруженному морфологическими методами, находится место в общей картине патологической анатомии туберкулеза.

Структурные изменения легких, лимфоузлов и других органов туберкулезного больного детально изучены патологоанатомами с учетом их

происхождения, функционального значения, условий становления и исходов. Исследовалось влияние на клинико-анатомические особенности туберкулеза и внешних факторов (нарушения труда, быта, питания), примером чего служит изучение «блокадного туберкулеза» у жителей Ленинграда во время Великой Отечественной войны. Вместе с тем оценка характера макро- и микроскопических изменений исключительно морфологическими методами было бы, очевидно, ошибочным; известно ведь, что органы и ткани, составляющие целостный организм, «не растворены в нем. Наоборот, они в своем роде тоже как бы целостные образования, имеющие свою структуру и функцию, свой нервно-регуляторный, воспринимающий раздражения аппарат и свою внутреннюю среду, обеспечивающую выполнение специфических органных функций» (И.В. Давыдовский).

Патологоанатом и клиницист работают разными методами, но имеют немало общего в задачах и характере мышления, равноправно участвуя в проведении клинико-анатомических параллелей на основе известных научных предпосылок. Так полагали известные терапевты и патологоанатомы, например, С.П. Боткин и С.С. Вайль, согласные с тем, что «успех и прочное развитие практической медицины будут обуславливаться уменьшением значения в ней инстинкта и большего подчинения науке и разуму».

Для диагностики и лечения туберкулеза одного только знания его патологической анатомии явно недостаточно. Клиницист должен применять это знание с учетом индивидуальных анатомических и физиологических особенностей каждого больного, его общей иммунологической реактивности и реактивности в отношении туберкулёза – в частности. Иными словами, совместная работа клинициста и патологоанатома требует проведения таких клинико-анатомических параллелей, какие позволяют проследить преломление общих закономерностей патологии в различных условиях внешней среды и при разных индивидуальных особенностях организма. Контролируя себя на основе морфологических данных, клиницист устанавливает, какие ошибки диагностики и лечения туберкулеза были допущены на том или ином этапе наблюдения, тем самым накапливая опыт для избежания подобных ошибок в будущем. Все это успешно реализуется лишь при условии самокритичного отношения к своим ошибкам и при теснейшем контакте патологоанатомов с лечащими врачами.

Список литературы

1. V. Zinserling, Infectious Pathology of the Respiratory Tract, https://doi.org/10.1007/978-3-030-66325-4_13
2. The top 10 causes of death. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death>
3. Литусов Н.В. Микобактерии туберкулеза. Иллюстрированное учебное пособие. – Екатеринбург: Изд-во ГБОУ ВПО УГМУ, 2015. - 52 с.
4. Клинические рекомендации «Туберкулез у взрослых», 2022
5. Клинические рекомендации «Туберкулез органов дыхания у детей»- 2016. – 45с.
6. Фтизиатрия. национальное руководство / под ред. М.И. Перельмана. - М. ГЭОТАР-Медна, 2007. - 512 с. SBN 978-5-9704-0497-3. Туберкулез органов дыхания у детей и подростков: рук. для врачей/ под ред. А.Э. Эргешева, Е.С.Овсянкиной, М.Ф.Губкиной. М., 2019. -524 с.
7. Внелегочный туберкулез. Руководство для врачей» (под ред. Н.А.Браженко). Спб., СпецЛит, 2013. - С.14-37.
8. Клинические рекомендации по этиологической диагностике туберкулеза. Скорняков С.Н., Шульгина М.В., Ариэль Б.М., Баласанянц Г.С., Вахрушева Д.В., Владимиров А.В., Галкин В.Б., Гринберг Л.М., Журавлев В.Ю., Кравченко М.А., Красноборова С.Ю., Мордык А.В., Петренко Т.И. Медицинский альянс. 2014. № 3. С. 39-58.
9. Значение диагностики локальных изменений бронхиального дерева в комплексном обследовании больных туберкулезом легких. Бюллетень сибирской медицины. Серов О.А., Колпакова Т.А., Краснов В.А. Том: 12 Номер: 1 - 2013. –С. 136-138
10. Marques FZ, Nelson E, Chu PY, Horlock D, Fiedler A, Ziemann M, Tan JK, Kuruppu S, Rajapakse NW, El-Osta A, Mackay CR, Kaye DM. High-Fiber Diet and Acetate Supplementation Change the Gut Microbiota and Prevent the Development of Hypertension and Heart Failure in Hypertensive Mice. *Circulation*. 2017 Mar 7;135(10):964-977. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.116.024545. Epub 2016 Dec 7. PMID: 27927713.
11. Цинзерлинг В.А. Школа инфекционной патологии А.В. Цинзерлинг: достижения и перспективы. Архив Патологии. 2014;76(1):3–9.

2.6 Функциональные методы исследования

Функциональная диагностика необходима для определения функционального состояния органов и систем, оценки тяжести осложнений специфического процесса и сопутствующей патологии [1, 2].

Применяются ЭКГ, ЭХО-ЭКГ, спирография, по показаниям бодиплетизмография, исследования диффузионной способности легких, нейрофизиологических показателей и другие исследования различных органов и систем.

Применение функциональных методов у больных туберкулезом могут быть полезны при наличии сопутствующей патологии на этапе выявления заболевания, а также при диагностике изменений на фоне проводимой терапии.

Известно, что туберкулез легких (ТЛ), особенно хронический и распространенный, как правило, сопровождается нарушениями дыхательной функции и изменениями сердечно-сосудистой системы [2, 3].

Структурные изменения при туберкулезе легких приводят к обструктивному, рестриктивному или смешанному характере поражений легких. Исследования у больных туберкулезом легких продемонстрировали, что в 30- 50% случаев у пациентов развились функциональные нарушения легких [3,4].

Многие исследования показали, что наличие различных сопутствующих патологий, в том числе ВИЧ-инфекции, оказывает существенное влияние на эффективность лечения туберкулеза и смертность от туберкулеза [5, 6, 7]. По имеющимся данным коморбидная патология различной степени тяжести встречались в 68% случаев. Показано, что у больных туберкулезом со множественной и широкой лекарственной устойчивостью возбудителя имели место хроническая обструктивная болезнь легких (32%), хронические вирусные гепатиты (24%) и сердечно-сосудистая патология (12%) [6].

Хотя курение признано основным фактором риска развития ХОБЛ, однако по оценкам экспертов, в 25-45% случаев больные ТЛ с ХОБЛ никогда не курили [8]. В то же время по данным проведенного мета-анализа было показано, что курение является фактором риска развития туберкулеза [9].

Проведенные исследования показали, что больным ТЛ необходимо проведение исследований с определением функции легких, несмотря на отсутствие официальных рекомендаций [4].

Функциональные методы диагностики необходимо проводить на этапе диагностики туберкулеза для подбора адекватности терапии, при наличии жалоб и наличии данных анамнеза, по результатам физикального обследования [2].

Функциональные методы исследования легких

К методам диагностики функционального состояния легких относятся:

- Спирометрия
- Бронходилатационный тест
- Пикфлоуметрия
- Импульсная осциллометрия
- Бодиплетизмография
- Спирометрия с пневмотахометрией

Спирометрия

Спирометрия представляет собой неинвазивный метод измерения воздушных потоков и объемов при выполнении спокойных и форсированных дыхательных маневров. В зависимости от конструктивных особенностей оборудования, первично измеряемыми параметрами могут быть либо объем, либо поток (объемная скорость) [10, 11].

Спирометрия состоит в графической регистрации дыхательных движений, которые отражают изменения объема легких во времени. В процессе спирографии может быть осуществлена и проба Вотчала—Тиффно для оценки трахеобронхиальной проходимости. Она заключается в определении объема воздуха, выдыхаемого больным за первую секунду форсированного выдоха после максимального вдоха (в норме не менее 70 %) [2].

Основные показатели, оцениваемые при проведении спирометрии:

- ЖЁЛ — жизненная ёмкость легких. Оценивается как разница между объёмами воздуха в лёгких при полном вдохе и полном выдохе.
- ДО — дыхательный объём — объём воздуха, проходящего через лёгкое во время спокойного вдоха и спокойного выдоха.
- ФЖЕЛ — форсированная жизненная ёмкость лёгких. Разница между объёмами воздуха в лёгких в точках начала и конца манёвра форсированного выдоха.

- РОВд — Резервный объем вдоха. Максимальный объем воздуха, который способен вдохнуть человек после спокойного вдоха. Величина РОВд составляет 1,5—1,8 л.
- РОВыд — Резервный объем выдоха. Максимальный объем воздуха, который человек дополнительно может выдохнуть с уровня спокойного выдоха.
- ОО — Остаточный объем. Объем воздуха, который остается в легких после максимального выдоха. Величина остаточного объема равна 1,0—1,5 л.
- ОЕЛ — Общая емкость легких. Объем воздуха в легких по окончании полного вдоха. Рассчитывают двумя способами: $ОЕЛ = ОО + ЖЕЛ$ или $ОЕЛ = ФОЕ + РОВд$.
- ОФВ1 — Объем форсированного выдоха за первую секунду манёвра форсированного выдоха. Отношение $ОФВ1/ЖЕЛ$, выраженное в процентах — индекс Тиффно — является чувствительным индексом наличия или отсутствия ухудшения проходимости дыхательных путей. в норме 75-80 %.
- ПОС — Пиковая объёмная скорость. Максимальный поток, достигаемый в процессе выдоха.
- МОС — Мгновенные объёмные скорости. МОС — скорость воздушного потока в момент выдоха определённой доли ФЖЕЛ (чаще всего 25,50 и 75 % ФЖЕЛ).
- ФОЕ — Функциональная остаточная емкость. Объем воздуха в легких после спокойного выдоха. Рассчитывается по формуле: $ФОЕ = РОВыд + ОО$.

Границы основных показателей, оцениваемых при проведении спирометрии (таблица 1).

Таблица 1 - Границы нормальных значений основных спирографических показателей (в % по отношению к расчетной должной величине)

Показатели	Норма	Условная норма	Отклонения		
			Умеренные	Значительные	Резкие

ЖЕЛ	>90	85-89	70-84	50-69	<50
ОФВ1	>85	75-84	55-74	35-54	<35
ОФВ1/ФЖЕЛ	>70	65-69	55-64	40-54	<40
ООЛ	90-125	126-140 85-89	141-175 70-84	176-225 50-69	>225 <50
ОЕЛ	90-110	110-115 85-89	116-125 75-84	126-140 60-74	>140 <60
ООЛ/ОЕЛ	<105	105-108	109-115	116-125	>125

Пациентам с нормальными показателями функции дыхания рекомендовано проведение бронхоконстрикторного теста и бронходилатационного теста для выявления гиперреактивности бронхов

Противопоказания к проведению спирометрии

Абсолютными противопоказаниями для проведения спирометрии:

- любые острые состояния, при которых выполнение форсированных дыхательных маневров чреваты угрозой жизни больного.
- наличие у пациента когнитивных нарушения,
- отсутствие возможности пациенту воспринять условия проведения исследования (иностранцы, дети младшей возрастной группы);
- наличие травм и заболеваний челюстно-лицевого аппарата, не позволяющих пациенту герметично подсоединиться к загубнику или специальной маске.
- наличие трахеостомы, если существует возможность герметизации трубки на время исследования.

Относительные противопоказания к проведению спирометрии связаны с необходимостью выполнения форсированных дыхательных маневров. Значительное изменение внутригрудного, внутрибрюшного и интракраниального давлений при дыхании с максимальным усилием может влиять на органы грудной клетки и брюшной полости, венозный возврат и системное артериальное давление [10].

Проведение спирометрии пациентам с признаками острых респираторных или других инфекционных заболеваний, включая туберкулез, возможно при условии строго соблюдения существующих санитарно-эпидемиологических норм. Наличие бактериовыделения может быть противопоказанием для проведения спирометрии.

Следует также учитывать высокий риск заражения пациентов с кровохарканьем, большим количеством мокроты и наличием повреждений в ротовой полости.

Решение о назначении спирометрии принимает лечащий врач с учетом всех рисков и необходимости проведения спирометрии.

Бронходилатационный тест

Цель проведения бронходилатационного теста - оценить обратимость бронхиальной обструкции (что в некоторой степени помогает в разграничении БА и ХОБЛ), максимально «раскрыть» функциональные возможности легких для исследования диффузионной способности.

Показания к проведению бронходилатационного теста

Тест проводится при необходимости:

- определения реакции на бронходилататор;
- выявления положительной реакции на бронходилататор у пациентов с исходно нормальными показателями спирометрии;
- оценки потенциального эффекта бронходилатационной терапии;
- при мониторинговании динамики легочной функции у больных с хроническими заболеваниями органов дыхания при длительном (многолетнем) наблюдении.

Принцип проведения теста заключается в сравнении спирометрических показателей до и после ингаляции бронхолитика.

Для диагностики применяются:

- β_2 -агонисты короткого действия - Сальбутамол (Вентолин) или Фенотерол (последний менее предпочтителен в силу его более выраженного кардиотоксичного действия) 400 мкг (4 дозы), с оценкой бронходилатационного ответа через 15-30 мин (в среднем через 20 мин);
- антихолинэргические препараты - обычно ипратропиум бромид (Атровент) 80 мкг (4 дозы) с оценкой бронходилатационного ответа через 30-45 мин (в среднем через 40 мин).

Бронходилатационный тест считается положительным, если после ингаляции бронходилататора коэффициент бронходилатации по объему форсированного выдоха за 1 сек (ОФВ₁) составляет не менее 12%, и при этом абсолютный прирост составляет 200 мл и более.

Отсутствие положительной реакции на короткодействующий бронхолитик в условиях бронходилатационного теста не нецелесообразности означает нецелесообразности назначения этих препаратов пациенту с терапевтической целью.

Бронходилатационный тест не позволяет дифференцировать бронхиальную астму и хроническую обструктивную болезнь легких, так как при обоих этих заболеваниях могут встречаться больные как с положительной реакцией на бронхолитик, так и ее отсутствием.

Бронхоконстрикторный тест

Бронхопровокационный тест или синоним бронхоконстрикторный тест — это современная методика, позволяющая проводить дифференциальную диагностику ХОБЛ и бронхиальной астмы.

Позволяет диагностировать гиперреактивность бронхов. Проводится при использовании препарата метахолин.

Рекомендован для проведения у пациентов с нормальными показателями спирометрии и отрицательным бронходилатационным тестом для подтверждения диагноза БА.

Ответ рассчитывается в виде концентрации (или дозы) провокационного агента, вызывающего 20% падение показателя ОФВ₁.

Бодиплетизмография

Бодиплетизмография («измерение легочного объема») – метод оценки функции легких (функции внешнего дыхания) (рисунок 1).

Методика позволяет определять все дыхательных объёмы, включая те, которые нельзя получить при спирографии, а именно: остаточный объем легких, общую емкость легких, функциональную остаточную емкость.

Бодиплетизмография – «золотой стандарт» измерения легочных объемов, с 2016 года бодиплетизмограф входит в стандарт оснащения отделения функциональной диагностики (Приказ от 26 декабря 2016 г. № 997н) и входит в перечень оснащения / модернизации первичного звена (ПРИКАЗ от 19 октября 2020 года N 1112н).

Метод базируется на принципе взаимосвязи между давлением и объемом

при постоянной температуре фиксированного количества газа. Данный принцип гласит: объем определенного количества газа (V) при постоянной температуре изменяется обратно пропорционально давлению (P) (закон Бойля — Мариотта), т. е. $P \times V = \text{const}$.



Рисунок 1 – Проведение бодиплетизмографии

Показания к проведению бодиплетизмографии:

- дифференциальная диагностика обструктивного и рестриктивного типов нарушений механики дыхания;
- диагностика вариантов обструктивного синдрома (бронхитический, обструкция на фоне эмфиземы);
- дифференциальная диагностика внутри и внеbronхиальных механизмов ухудшения проходимости дыхательных путей (деструкция эластических структур паренхимы легких и/или стенок периферических бронхов; пневмофиброз, уменьшение объема паренхимы легких, нарушение кровообращение в малом круге);
- поражение дыхательных мышц (истощение вследствие хронической перегрузки, центральные и периферические параличи);
- изменение податливости грудной клетки.

Во время исследования пациент находится в закрытой камере и дышит через загубник. С помощью пневмотахографа регистрируется вдыхаемый и выдыхаемый поток воздуха пациента, а датчики давления фиксируют изменения давления в камере ($P_{\text{кам}}$) и давления в ротовой полости ($P_{\text{рот}}$).

Пневмотахометрия

Пневмотахометрия – это метод исследования скоростей воздушного потока через бронхи и трахею при форсированном выдохе и вдохе с изображением их в графическом виде (Рисунок 2).

Это важный метод определения состояния проходимости трахеобронхиального дерева.

Исследование выполняется при помощи спирометра – прибора для проведения спирографии. Данные исследования функции внешнего дыхания часто проводятся совместно.



Рисунок 2 – Проведение пневмотахометрии

Импульсная осциллометрия

Импульсная осциллометрия (ИО) — один из методов оценки проходимости дыхательных путей на основе измерения различных видов бронхиального сопротивления.

Установлены наиболее информативные и коррелируемые с ОФВ₁, показатели ИО — резонансная частота (Fr), общий дыхательный импеданс (Zrs) и его компоненты — резистанс и реактанс на 5 Гц ($Rrs5$, $Xrs5$).

Наиболее чувствительными для диагностики обструктивного синдрома оказались реактанс на 5 Гц ($Xrs5$) и резонансная частота (Fr).

Данный чувствительный и информативный метод может быть полезным для мониторингования функции внешнего дыхания у детей до шести лет, когда применение рутинных методов исследования невозможно.

Считается, что дети старше шести лет могут качественно выполнить спирометрию [10].

Пикфлоуметрия

Пикфлоуметрия - это тест на предельную скорость потока воздуха (ПСВ) при выдохе, который позволяет оценить состояние работы органов дыхания при таких заболеваниях лёгких, как хронический бронхит или

бронхиальная астма, а также применяется в целях анализа эффективности принимаемых препаратов.

Пикфлоуметрия проводится при помощи специального устройства — пикфлоуметра.

Исследование фракции оксида азота в выдыхаемом воздухе (FeNO)

Показатель FeNO повышен при эозинофильной БА и ассоциируется с хорошим краткосрочным ответом на ИГКС.

Уровень FeNO также повышен при эозинофильном бронхите, атопии и аллергическом рините, снижен у курильщиков, вовремя бронхоспазма и ранней фазы аллергической реакции.

Нормальные значения FeNO, особенно в момент, когда симптоматика отсутствует, не исключают диагноз БА.

В качестве дополнительных маркеров эозинофильного воспаления при необходимости рекомендуется исследовать фракцию оксида азота в выдыхаемом воздухе (FeNO) и уровень эозинофилов в мокроте.

Функциональные исследования сердечно-сосудистой системы

Нарушения со стороны сердечно-сосудистой системы при туберкулезе легких чаще всего могут быть обусловлены туберкулезной интоксикацией, развитием гипертензией малого круга кровообращения, побочными явлениями на фоне применения противотуберкулезной терапии.

Электрокардиографическое исследование

При электрокардиографическом исследовании интоксикация проявляется синусовой тахикардией, снижением зубца Т, нарушениями возбудимости и проводимости.

Изменения в сердце, вызванные перегрузкой правого желудочка и его гипертрофией, на ЭКГ чаще выявляют при физической нагрузке в виде увеличения зубца Р во II и III отведениях с одновременным снижением зубца Т и уменьшением интервала S—T. Однако ЭКГ не всегда позволяет выявить легочную гипертензию и гипертрофию правого желудочка [12].

Всем пациентам с изменениями на ЭКГ необходимо проведение эхокардиографии, с помощью которой можно лучше оценить состояние камер сердца и толщину их стенок.

Список литературы

1. Яблонский П.К. Фтизиатрия. Национальные клинические рекомендации. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2015; 240.
2. Федеральные клинические рекомендации "Бронхиальная астма" - 2021-144с
3. Chushkin MI, Ots ON. Impaired pulmonary function after treatment for tuberculosis: the end of the disease? J Bras Pneumol. 2017 Jan-Feb;43(1):38-43. doi: 10.1590/S1806-37562016000000053.
4. Stepanian IE. Bronchial impotence in patients with pulmonary tuberculosis. Tuberk Biolezn Legkih. 2013;4(1):6-11.
5. Lecai, J.; Mijiti, P.; Chuangyue, H.; Qian, G.; Weiguo, T.; Jihong, C. Treatment outcomes of multidrug-resistant tuberculosis patients receiving ambulatory treatment in Shenzhen, China: A retrospective cohort study. Front. Public Health 2023, 11, 1134938.
6. Ставицкая Н.В., Фелькер И.Г., Жукова Е.М., Тлиф А.И., Докторова Н.П., Кудлай Д.А. Многофакторный анализ результатов применения бедаквилина в терапии МЛУ/ШЛУ-туберкулеза легких. Туберкулез и болезни легких. 2020;98(7):56-62.
7. Беляева Е.Н., Чернохаева И.В., Сапожникова Н.В., Назаренко М.М., Старшинова А.А., Яблонский П.К. Факторы, предрасполагающие к развитию широкой лекарственной устойчивости микобактерий туберкулеза. Медицинский альянс. 2017; 4:51-56.
8. Salvi SS, Barnes PJ. Chronic obstructive pulmonary disease in non-smokers. Lancet. 2009;374(9691):733–743. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(09\)61303-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(09)61303-9)
9. Bates MN, Khalakdina A, Pai M, Chang L, Lessa F, Smith KR. Risk of tuberculosis from exposure to tobacco smoke: a systematic review and meta-analysis. Arch Intern Med. 2007;167(4):335–342. <https://doi.org/10.1001/archinte.167.4.335>.
10. Методические рекомендации «Спирометрия». 2023:58с
11. 2021 Global strategy for prevention, diagnosis and management of COPD: <https://goldcopd.org/2021-gold-reports>.
12. Фтизиатрия. Перельман М.И., Корякин В.А., Богодельникова И.В., 2004. ОАО "Издательство Медицина", 520 с. ISBN 5-225-04082-9

3. КОНТРОЛЬ ПОЛУЧЕННЫХ ЗНАНИЙ

1. Основные методы диагностики заболеваний органов дыхания?
 - а) Клинический метод;
 - б) Лабораторные методы диагностики;
 - в) Методы лучевой диагностики;
 - г) Методы функциональной диагностики;
 - д) **Все перечисленные методы имеют значение +**

2. Какие основные методы диагностики заболеваний органов дыхания?
 - а) Клинический метод;
 - б) Лабораторные методы диагностики;
 - в) Методы лучевой диагностики;
 - г) Методы функциональной диагностики;
 - д) **Все перечисленные методы имеют значение +**

3. Тревожными симптомами при одышке являются
 - а) одышка в покое
 - б) угнетение сознания или спутанность сознания
 - в) участие дополнительных групп мышц в акте дыхания и слабая экскурсия воздуха
 - г) боли в грудной клетке
 - д) выраженное сердцебиение
 - е) **все перечисленные +**

4. Основные принципы диагностики заболеваний органов дыхания включают:
 - а) сбор жалоб
 - б) данные анамнеза пациента
 - в) результаты физикального обследования
 - г) данные лабораторных методов
 - д) результаты рентгенологического комплекса обследования
 - е) результатов функциональных методов обследования
 - г) данные специфического аллергологического обследования
 - д) **все перечисленные +**

5. Какие методы иммунодиагностики туберкулезной инфекции применяются в настоящее время:
 - а) проба Манту с 2 ТЕ;
 - б) проба с Диаскинтестом (аллергеном туберкулезным рекомбинантным);
 - в) IGRA – тесты;
 - г) **все перечисленные**

6. Какие основные характеристики микроорганизмов в настоящее время
 - а) вирулентность;
 - б) патогенность;
 - в) формирование лекарственной устойчивости;
 - г) **все перечисленные +**

8. **Перечислите основные характеристики туберкулезного процесса:**

- а) локализация и протяженность процесса
- б) фаза процесса
- в) бактериовыделение
- г) **все перечисленное** +

13. С какого возраста применяется проба с Диаскинтестом для скрининга туберкулезной инфекции в РФ?

- а) с 3 лет;
- б) с 14 лет;
- в) **с 7 лет;** +
- г) с 1 года жизни;

14. Получение ДНК МБТ методом ПЦР при туберкулезе органов дыхания:

- а) **в 90%;** +
- б) в 50%;
- в) в 15-20%;
- д) никогда