

Современные технологии лабораторной диагностики туберкулёза

Т. Ю. Салина, Т. И. Морозова Государственный медицинский университет, областной противотуберкулёзный диспансер, Саратов.

Важной проблемой фтизиатрии остаётся диагностика и верификация диагноза туберкулёза у больных без выделения микобактерии. Туберкулёз без бактериовыделения часто труден для диагностики и дифференциальной диагностики [4]. До настоящего времени, несмотря на внедрение таких современных технологий, как компьютерная и магнитно-резонансная томография, и целый ряд инструментальных и инвазивных методов, диагноз туберкулёза и рака лёгких нередко ставится методом проб и ошибок. По-прежнему высок (34-40%) удельный вес ошибочной диагностики туберкулёза [3, 5]. Кроме того, существует определённая категория больных, у которых морфологическая верификация диагноза невозможна из-за возраста, тяжёлых сопутствующих заболеваний или отказа пациентов от применения инвазивных методов обследования. Разработка и внедрение в практику относительно простых, преимущественно нелучевых методов диагностики туберкулёза и его дифференциальной диагностики с другой лёгочной патологией позволяют обосновать реальные пути снижения смертности от этих заболеваний.

Целью исследования является изучение диагностической информативности прямых (молекулярно-генетических) и непрямых (серологических) методов в дифференциальной диагностике туберкулёза и других заболеваний лёгких, особенно онкологической природы.

Обследовано 96 больных с трудностями дифференциальной диагностики туберкулёза и другой лёгочной патологии, находившихся на стационарном обследовании и лечении в Саратовском областном противотуберкулёжном диспансере. Пациенты были в возрасте от 18 до 75 лет. Из них было 50 мужчин, 46 женщин. Отбор пациентов проводили слепым методом с последующей ретроспективной оценкой результатов обследования по окончательному диагнозу.

Для верификации диагноза применяли комплекс обследований, включающий микробиологические, рентгеномографические и в ряде случаев инструментальные методы (фибробронхоскопию, компьютерную томографию органов грудной клетки, УЗИ внутренних органов, диагностическую торакотомия, плевроскопию с биопсией и последующим гистологическим и цитологическим исследованием материала).

После комплексного клинко-рентгенологического и инструментального обследования диагноз активного туберкулёза установлен у 52 пациентов, онкологические заболевания - у 28, другие лёгочные заболевания - у 16. Морфологически при диагностической торакотомии и оперативном лечении диагноз верифицирован у 12 (12,5%) пациентов, посмертно по результатам патолого-анатомического вскрытия — у 2 (2,1%). В группе больных активным туберкулёзом у 25 пациентов установлен диагноз туберкуломы, у 21 больного - инфильтративного туберкулёза лёгких и у 6 - диссеминированного туберкулёза лёгких.

Среди онкологических больных периферический рак лёгкого установлен у 19 (67,9%) пациентов, центральный рак лёгкого - у 5 (17,9%), доброкачественные опухоли лёгких - у 3 (10,7%), метастатические поражения лёгких - у 1 (3,6%) пациента. Другие лёгочные заболевания были представлены пневмониями у 3 (18,8%) пациентов, саркоидозом у 2 (12,5%), паразитарными кистами лёгких у 2 (12,5%), хронической обструктивной болезнью лёгких у 8 (50%), лимфогранулематозом у 1 (6,3%) больного.

Всем пациентам проводили однократное исследование мокроты молекулярно-генетическим методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (ПЦР Real Time) и параллельное исследование сыворотки крови на антитела к микобактериям туберкулёза методом иммуноферментного анализа (ИФА). Забор материала для исследования проводили на догоспитальном этапе.

Базовая методология ПЦР в режиме реального времени основана на выделении очищенных нуклеиновых кислот, проведении ПЦР и гибридизации с высокоспецифичными ДНК-зондами, мечеными флуорохромами, совмещении этапов амплификации и детекции результатов исследования.

Реакцию проводили с использованием ДНК- амплификатора с оптическим блоком iCycler Q ("BioRad", США). Исключение в данной методике этапа гель-электрофореза для детекции результатов позволило значительно снизить риск внутрилабораторной контаминации продуктами реакции. Использовали отечественные наборы реагентов ("ДНК-технология", Москва). Для детекции специфического продукта применяли краситель FAM, для внутреннего контроля - HEX. Результаты оценивали в соответствии с числом циклов, после которых детектировался подъем флуоресценции от изолинии.

Специфические антитела к *M. tuberculosis* в сыворотке крови определяли методом твердофазного ИФА (тест-система "АТ-ТУБ-Бест-стрип" ЗАО "Вектор-Бест", Новосибирск). Учет результатов проводили на многоканальном оптическом компараторе марки "Линкей" (НПО "Научные приборы", Санкт-Петербург).

Для оценки диагностической значимости указанных выше методов проводили вычисление их операционных характеристик: диагностической чувствительности, диагностической специфичности, диагностической эффективности, прогностической ценности положительного результата и прогностической ценности отрицательного результата.

Статистическую обработку результатов исследования проводили с помощью компьютерных программ "Microsoft Excel" для Windows и "Statistica". Использовали специальные статистические методики - критерий соответствия χ^2 на основе таблицы взаимной сопряженности ("четырёхпольной таблицы"), для оценки достоверности разности относительных величин рассчитывали величину p , указывающую вероятность безошибочного прогноза.

Сравнительный анализ эффективности ПЦР (Real Time) и метода ИФА показал, что ПЦР отличается большей чувствительностью и специфичностью получаемых результатов. Так, методом ПЦР (Real Time) было обнаружено 40 (76,9%) положительных результатов в группе из 52 больных активным туберкулезом, в то время как методом ИФА антитела к *M.tuberculosis* были выявлены только у 29 (55,8%) из 52 пациентов ($p = 0,0254$). Из них при туберкулемах ($n = 25$) методом ПЦР обнаружено 20 (80%) положительных результатов, методом ИФА — 13 (52%) ($p = 0,420$) Не получены достоверные различия при обследовании пациентов с инфильтративным туберкулёзом ($n = 21$), чувствительность ПЦР составила 16 (76,2%) из 21, ИФА - 13 (61,9%) из 21 ($p = 0,3325$). Ложноположительные результаты ПЦР (Real Time) получены у 1 (3,6%) из 28 пациентов с онкологическими заболеваниями лёгких, методом ИФА - у 4 (14,3%) больных (у 2 пациентов с центральным раком лёгкого и у 2 - с периферическим раком лёгкого). Среди пациентов с неспецифическими заболеваниями лёгких получен 1 (6,3%) ложноположительный результат методом ПЦР у пациентки с лимфогранулематозом и 1 (6,3%) - методом ИФА у больного с эхинококковой кистой. Совпадение результатов исследования при использовании обоих методов наблюдалось у 31 (59,6%) из 52 больных активным туберкулёзом, у 21 (75%) из 28 больных с онкологическими заболеваниями лёгких и у 15 (93,8%) из 16 больных с неспецифическими заболеваниями лёгких, всего у 67 (69,8%) из 96 диагностированных больных. Обращает на себя внимание высокий удельный вес (14,3%) ложноположительных результатов, полученных методом ИФА,

у больных с онкологическими заболеваниями лёгких.

По данным литературы [2], при постановке любых серологических проб у некоторых лиц, не больных туберкулёзом, могут определяться антитела к *M. tuberculosis*, что связано с возможностью перекрестных реакций на антигены других бактерий, общих с микобактериями туберкулёза, продукции антител в результате контакта с микобактериями окружающей среды, увеличением фонового уровня антител в результате поликлональной стимуляции и неспецифического связывания других сывороточных факторов. Кроме того, существуют некоторые виды опухолей (эпидермоидный рак лёгкого), которые, вероятно, обладают способностью экспрессировать антигены, сходные с антигенами микобактерий туберкулёза [1].

Сравнительная операционная характеристика ИФА и ПЦР (Real Time) представлена в таблице. Как следует из таблицы, метод ПЦР обладает большей чувствительностью (76,9%) и специфичностью (95,5%), чем метод ИФА (соответственно 55,8 и 88,6%). При обследовании онкологических больных специфичность метода ПЦР достигает 96,4%, тогда как специфичность ИФА на 10,7% ниже.

Заключение

В результате исследования установлено, что использование новой молекулярно-генетической технологии ПЦР (Real Time) позволяет улучшить качество диагностики туберкулёза за счёт увеличения прогностической ценности положительного результата до 95,2% против 85,3% в ИФА ($p = 0,0220$) и прогностической ценности отрицательного результата до 77,7% против 62,9% соответственно ($p = 0,0238$), что особенно важно при обследовании дифференциально-диагностических больных. Однако методы серологической диагностики туберкулёза очень важны при обследовании пациентов, не выделяющих мокроту.

Литература

1. Кноринг Б. Е., Ариель Б. М. Оценка клинической значимости туберкулиновой сенсibilизации у больных раком легкого // Пробл. туб. - 1996. - № 2. - С. 26-30.
2. Литвинов В. И., Гергерт В. Я., Мороз А. М. и др. Иммунология туберкулеза: современное состояние проблемы // Вестн. РАМН. -1999. - № 7. - С. 8-11.
3. Мишин В. Ю., Дейкина О. Н., Назарова Н. В. Дифференциальная диагностика туберкулеза легких и внебольничной пневмонии // Consilium Medicum. -2004. -Т. 6, № 4. -С. 232-238.
4. Хоменко А. Г. Туберкулез вчера, сегодня, завтра // Пробл. туб. — 1997. -№ 5. - С. 9-11.
5. ЮкелисЛ. И., Садиков П. В., Евфимьевский Л. В. Проблема раннего выявления и диагностики туберкулеза // Рус. мед. журн. - 2002. - Т. 10, № 16 (160). -С. 699-700.