doi: 10.25005/2074-0581-2019-21-3-467-471

# КОМПЛЕКСНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ МОКРОТЫ ВПЕРВЫЕ ВЫЯВЛЕННЫХ БОЛЬНЫХ ТУБЕРКУЛЁЗОМ ЛЁГКИХ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ПОЛИМЕРАЗНОЙ ЦЕПНОЙ РЕАКЦИИ И МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО КОНТРОЛЯ ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ МИКОБАКТЕРИЙ ТУБЕРКУЛЁЗА

Е.В. ДУДЕНКО, С. СЫДЫКОВА

*Лаборатория иммунологии и молекулярной биологии, Национальный центр фтизиатрии, Бишкек, Кыргызская Республика*

**Цель**: использование полимеразной цепной реакции (ПЦР) в комплексном исследовании мокроты впервые выявленных больных туберкулёзом лёгких (ТБЛ) при контроле жизнеспособности микобактерий туберкулёза (МБТ) микробиологическим методом.

**Материал и методы**: объект исследования – 59 впервые выявленных больных ТБЛ при поступлении на лечение и 28 больных ТБЛ через два месяца после начала противотуберкулёзной химиотерапии. Материал исследования – мокрота больных ТБЛ. Выявление погибших и персистирующих МБТ отмечалось при положительном результате ПЦР (ПЦР+) и отсутствии роста МБТ на плотной питательной среде Левенштейна-Йенсена. Применялись наборы для выделения ДНК M. tuberculosis complex: «ДНК-сорб-В» и «Литех». Для амплификации применялись наборы «Политуб» и «АмплиСенс МБТ». Детекция продуктов амплификации проводилась электрофорезом в 1,7% агарозном геле в присутствии бромистого этидия.

**Результаты**: до лечения ПЦР+ выявлен у 52 (88,1%) из 59 обследованных больных ТБЛ, положительный результат посева (посев+) – у 34 (57,6%) пациентов, отсутствие роста МБТ имело место у 25 (42,4%) из 59 больных ТБЛ. Через 2 месяца химиотерапии ПЦР+ выявлен у 23 (82,1%) из 28 больных ТБЛ, посев+ – у 13 (46,4%) пациентов, отсутствие роста МБТ отмечено в 15 (53,6%) из 28 случаев ТБЛ.

**Заключение**: содержание погибших и персистирующих МБТ на фоне химиотерапии повысилось от 36,5% до 52,2%. Показана эффективность использования ПЦР мокроты при контроле жизнеспособности МБТ микробиологическим методом.

**Ключевые слова**: *туберкулёз лёгких, полимеразная цепная реакция, микробиологический метод, жизнеспособность микобактерий туберкулёза, химиотерапия.*

**Для цитирования:** Дуденко ЕВ, Сыдыкова С. Комплексное исследование мокроты впервые выявленных больных туберкулёзом лёгких с использованием полимеразной цепной реакции и микробиологического контроля жизнеспособности микобактерий туберкулёза. *Вестник Авиценны.* 2019;21(3):467-71. Available from: https://doi.org/10.25005/2074-0581-2019-21-3-467-471.

# COMPLEX RESEARCH OF THE SPUTUM IN NEWLY DIAGNOSED PATIENTS WITH PULMONARY TUBERCULOSIS USING POLYMERASE CHAIN REACTION AND MYCROBIOLOGICAL CONTROL OF THE VIABILITY OF MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS

E.V. DUDENKO, S. SYDYKOVA

*Laboratory of Immunology and Molecular Biology, National Center for Phthisiology, Bishkek, Kyrgyz Republic*

**Objective**: The use of polymerase chain reaction (PCR) in a comprehensive study of sputum in newly diagnosed patients with pulmonary tuberculosis (PTB) in the control of mycobacterium tuberculosis (MTB) viability by the microbiological method.

**Methods**: The object of the study – 59 newly diagnosed patients with PTB in admission for treatment and 28 patients with PTB two months after the start of anti-tuberculosis chemotherapy. The study material is the sputum of PTB patients. Identification of the dead and persistent MTB was noted with the positive result of PCR (PCR+) and the absence of growth of MTB on the dense of nutritional environment of Levenstein-Jensen. The DNA-Sorb-B and Litekh sets were used for DNA extraction of Mycobacterium tuberculosis complex. For amplification, Politub and AmpliSens MBT kits were used. Detection of amplification products was carried out with electrophoresis in 1.7% agarose gel in the presence of bromide ethidium.

**Results**: Before treatment, PCR was detected in 52 (88.1%) of the 59 PTB patients examined, 34 (57.6%) tested positive for inoculation (culture+). 25 (42.4%) of patients, lack of growth of MTB out of 59 PTB patients. After 2 months of chemotherapy, PCR+ was detected in 23 (82.1%) out of 28 patients with PTB, culture+ – in 13 (46.4%), no growth of MTB was revealed in 15 (53.6%).

**Conclusions**: The content of the dead and persistent MTB against the background of chemotherapy increased from 36.5% to 52.2%. The effectiveness of the use of PCR sputum in controlling the viability of MTB by the microbiological method is shown.

**Keywords**: *Pulmonary tuberculosis, polymerase chain reaction, microbiological method, mycobacterium tuberculosis viability, chemotherapy.*

**For citation:** Dudenko EV, Sydykova S. Kompleksnoe issledovanie mokroty vpervye vyyavlennykh bol'nykh tuberkulyozom lyogkikh s ispol'zovaniem polimeraznoy tsepnoy reaktsii i mikrobiologicheskogo kontrolya zhiznesposobnosti mikobakteriy tuberkulyoza [Complex research of the sputum in newly diagnosed patients with pulmonary tuberculosis using polymerase chain reaction and mycrobiological control of the viability of mycobacterium tuberculosis]. *Vestnik Avitsenny [Avicenna Bulletin].* 2019;21(3):467-71. Available from: https://doi.org/10.25005/2074-0581-2019-21-3-467-471.

## Введение

В настоящее время «золотым стандартом» лабораторной диагностики туберкулёза лёгких (ТБЛ), по-прежнему, является микробиологический метод [1]. Однако, диагноз ТБЛ не всегда может быть установлен на основе микробиологического исследования мокроты. Одним из методов обнаружения присутствия микобактерий туберкулёза (МБТ) в исследуемом материале является полимеразная цепная реакция (ПЦР) [2]. Метод ПЦР даёт возможность выявлять присутствие возбудителя в любой

ткани или жидкости [3]. В настоящее время ПЦР широко применяется для диагностики туберкулёза у человека и животных [4]. Применению ПЦР в лабораторной диагностике туберкулёза посвящено большое количество работ. Авторы отмечают высокую чувствительность и специфичность ПЦР в выявлении различных форм туберкулёза [5, 6]. Чувствительность ПЦР снижается из-за присутствия в образцах ингибиторов реакции, что приводит к ложноотрицательному результату. Основные ингибиторы ПЦР: гемоглобин и гепарин [7].

Результаты изучения ПЦР, как лабораторного метода диагностики ТБЛ и контроля противотуберкулёзной химиотерапии, противоречивы. По одним данным, эффективность ПЦР превышает эффективность традиционных микробиологических методов (микроскопии МБТ с окраской по методу Циля-Нильсена и посева на плотную яичную среду Левенштейна-Йенсена) [8-10], согласно другим источникам результаты ПЦР ниже по сравнению с микробиологическим методом посева [11, 12]. Кроме того, метод ПЦР не позволяет судить о жизнеспособности МБТ, так как определяет присутствие в биологическом материале как живого, так и погибшего микроорганизма [13, 14]. С использованием ПЦР в биологических образцах также могут быть выявлены персистирующие формы МБТ, не способные к размножению при внутриклеточном выживании [15].

Таким образом, лабораторный контроль эффективности химиотерапии с помощью ПЦР должен осуществляться в комплексе с посевами мокроты на выявление жизнеспособности МБТ [1, 10, 11, 16].

## Цель исследования

Использование ПЦР в комплексном исследовании мокроты больных ТБЛ при контроле жизнеспособности МБТ микробиологическим методом.

## Материал и методы

В исследовании приняли участие 87 впервые выявленных больных ТБЛ. Пациенты выявлялись «по обращаемости» с последующим обследованием. Данные больные распределены на две группы: I – 59 (67,8%) больных при поступлении на лечение в стационар Национального центра фтизиатрии и II группа – 28 (32,2%) больных через 2 месяца противотуберкулёзной химиотерапии. I группа состояла из 29 (49,2%) мужчин и 30 (50,85%) женщин (возраст – 17-75 лет; средний возраст 35,3±1,6 лет). II группа была представлена 13 (46,4%) мужчинами и 15 (53,6%) женщинами (возраст – 17-54 лет; средний возраст 29,8±1,8 лет). Распределение по клиническим формам в I группе было следующим: у 50 (84,7%) больных диагностирован инфильтративный ТБЛ, у 5 (8,5%) – диссеминированный ТБЛ, у 2 (3,4%) – фиброзно-кавернозный ТБЛ и у 2 (3,4%) – милиарный ТБЛ. Во II группе у 23 (82,2%) больных диагностирован инфильтративный ТБЛ, у 3 (10,7%) – фиброзно-кавернозный ТБЛ и у 2 (7,1%) – диссеминированный ТБЛ.

Материалом исследования служила мокрота больных ТБЛ. Всем пациентам проведены ПЦР, микроскопия мазков мокроты с окраской по Цилю-Нильсену, посев на плотную яичную питательную среду Левенштейна-Йенсена.

Методом ПЦР пробы мокроты исследовались в повторах до 3 раз, отмечался ПЦР+ при положительном результате в одном или более повторах. Для выполнения ПЦР использована аппаратура производства «Biometra» (Германия), амплификатор-термоциклер T1. Применялись наборы для выделения ДНК Mycobacterium tuberculosis complex: «ДНК-сорб-В» (ФГУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, Москва) для выделения ДНК из мокроты и набор для выделения ДНК («Литех», Москва). Для амплификации применялись наборы «Политуб» и «АмплиСенс МБТ». При использовании набора «Политуб» амплификация осуществлялась по следующей программе: 93°С – 30 секунд; 93°С – 10 секунд, 64°С – 10 секунд, 72°С – 20 секунд – 5 циклов; 93°С – 10 секунд, 62°С – 10 секунд, 72°С – 20 секунд – 35 циклов. При использовании набора «АмплиСенс МБТ» амплификация проводилась по следующей программе: 95°С – 15 минут; 95°С – 30 секунд, 70°С – 40 секунд – 42 цикла; 72°С – 2 минуты и хранение при 10°С. Детекция результатов ПЦР осуществлялась методом электрофореза в 1,7% агарозном геле в присутствии бромистого этидия. После завершения электрофореза гель помещался на стекло УФ трансиллюминатора с облучением ультрафиолетовым излучением с длиной волны 310 нм. Длина амплифицированных специфических фрагментов ДНК: «Политуб» – 357 п.н. (тысяч пар нуклеотидов), «АмплиСенс МБТ» – 390 п.н. В положительном контроле на электрофореграмме присутствовала специфическая полоса ДНК. В отрицательном контрольном образце эта полоса отсутствовала, в анализируемой пробе – соответственно. В каждой пробе – внутренний контроль для получения достоверного результата. При отсутствии полосы внутреннего контроля проводилась повторная постановка ПЦР.

Настоящее исследование соответствует этическим стандартам, разработанным в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» с поправками 2000 года. Исследование было одобрено Комитетом по биоэтике при Министерстве здравоохранения Кыргызской Республики (протокол заседания № 12 от 27 марта 2013 года).

Использовались непараметрические методы математической статистики. Отмечено абсолютное количество n обследованных больных ТБЛ по группам, абсолютное количество n+ больных ТБЛ с положительным результатом анализов. Определены доли относительных величин P (%), доверительный интервал ДИ (95%). Проведено вычисление достоверной разницы по двустороннему точному критерию Фишера p. Уровень значимости p=95%.

## Результаты и их обсуждение

В рамках изучаемой проблемы выполнялось обнаружение МБТ методом ПЦР в мокроте 59 впервые выявленных больных ТБЛ до лечения (I группа) и 28 пациентов через 2 месяца химиотерапии (II группа).

В I группе ПЦР+ мокроты выявлена у 52 (88,1%), БК+ – у 33 (55,9%), посев+ отмечен у 34 (57,6%) обследованных. Во II группе эти цифры распределились соответственно следующим образом: 23 (82,1%); 10 (35,7%) и 13 (46,4%).

Выполнено определение влияния содержания жизнеспособных МБТ, выявленных с помощью посева, на уровень выявления МБТ с использованием ПЦР. До лечения достоверная разница по точному критерию Фишера p=0,04. Также по точному критерию Фишера определена статистическая достоверность зависимости результата ПЦР от результата микроскопии (p=0,04) до лечения. Полученные данные представлены в табл.

При выявлении МБТ у больных ТБЛ в некоторых случаях ПЦР дал положительный результат, а посев – отрицательный.

***Таблица*** *Выявление МБТ в биологических пробах впервые выявленных больных ТБЛ*

| Группа | n+ | P (%) | ДИ (95%) | Двусторонний точный критерий Фишера p | |
|---|---|---|---|---|---|
| I (ПЦР) n=59 | 52 | 88,1 | 79,7-96,5 | ко II (ПЦР) | 0,51 |
| | | | | к I (БК) | 0,04 |
| | | | | к I (посев) | 0,04 |
| II (ПЦР) n=28 | 23 | 82,1 | 67,3-96,9 | ко II (БК) | 0,63 |
| | | | | ко II (посев) | 0,99 |
| I (БК) n=59 | 33 | 55,9 | 42,9-68,9 | ко II (БК) | 0,08 |
| II (БК) n=28 | 10 | 35,7 | 17,3-54,1 | | |
| I (посев) n=59 | 34 | 57,6 | 44,7-70,5 | ко II (посев) | 0,36 |
| II (посев) n=28 | 13 | 46,4 | 27,2-65,6 | | |

Примечания: n – абсолютное количество обследованных больных ТБЛ по группам; n+ – абсолютное количество больных ТБЛ с положительным результатом анализов; P (%) – доли относительных величин; ДИ (95%) – доверительный интервал; p – достоверная разница по двустороннему точному критерию Фишера

Была проведена выборка по совпадению результатов ПЦР и посева.

В I группе совпадение результата ПЦР+ и посев+ выявлено у 33 (55,9%) из 59 больных. В одном случае (1,7%) при посев+ результат ПЦР был отрицательным. У 6 (10,2%) больных этой группы МБТ не были обнаружены ни методом ПЦР, ни посевом. В целом, ПЦР мокроты показала более высокий процент выявления МБТ по сравнению с посевом. Результат ПЦР+ зафиксирован у 52 пациентов; при этом посев+ отмечен у 33 (63,5%) и отрицательный результат посева – у 19 (36,5%) больных с ПЦР+.

Во II группе совпадение ПЦР+ и посева+ отмечено у 11 (39,3%) из 28 человек. В 2 случаях (7,1%) ПЦР дал отрицательный результат при посеве+. У 3 (10,7%) больных МБТ не обнаружены ни методом ПЦР, ни посевом. Результат ПЦР+ зафиксирован у 23 больных; при этом посев+ отмечен у 11 (47,8%) и отрицательный результат посева – у 12 (52,2%) пациентов с ПЦР+.

При использовании ПЦР в мокроте выявляются не только жизнеспособные МБТ (способные к размножению на питательной среде), но и большое количество погибших микроорганизмов. Происходит обнаружение и персистирующих в лейкоцитах внутриклеточных МБТ, которые не способны к размножению [15]. В данной работе проводилось выявление содержания погибших и персистирующих внутриклеточных МБТ методом сопоставления результата ПЦР мокроты с результатом посева МБТ на жизнеспособность при лабораторном контроле эффективности химиотерапии впервые выявленных больных ТБЛ. Если отмечалась ПЦР+ при отсутствии роста МБТ, это означало выявление погибших и персистирующих МБТ при использовании ПЦР.

Эффективность выявления МБТ в I группе составила 88,1% при использовании ПЦР мокроты. Положительные результаты микроскопии получены у 55,9% больных, а посева (жизнеспособные МБТ) – в 57,6% случаев. Использование точного критерия Фишера в этой группе обнаружило статистически значимую разницу между ПЦР+ и БК+ (p=0,04) и ПЦР+ и посевом+ (p=0,04). Выявление МБТ методом ПЦР на 36,5% превысило результат посева мокроты. Согласно литературным источникам [17], исследование мокроты 150 больных ТБЛ показало следующие результаты: ПЦР – 85,8±2,9%, микроскопия – 39,4±4,0%, посев на среду Левенштейна-Йенсена – 72,0±3,7%.

Информативность ПЦР у больных II группы составила 82,1%. Положительные БК+ получены у 35,7%, жизнеспособные МБТ методом посева+ выявлены в 46,4% наблюдений. При использовании сочетания ПЦР и посева погибшие и персистирующие МБТ выявлены у 12 (52,2%) из 23 больных ТБЛ с ПЦР+. Таким образом, с помощью технологии ПЦР в этой группе выявление МБТ возросло на 52,2% сравнительно с результатом посева мокроты. По литературным данным [18] совпадение положительных результатов ПЦР и посева отмечено у 60 (64,9±5,0%) из 92 больных ТБЛ.

## Заключение

Комплексное исследование мокроты больного ТБЛ с использованием ПЦР при контроле жизнеспособности МБТ традиционными бактериологическими методами способствует повышению выявления МБТ на фоне проводимой химиотерапии.

## Литература

1. Серёгина ВА, Будрицкий АМ. Современные возможности диагностики туберкулёза лёгких. *Вестник ВГМУ.* 2016;15(4):7-17.
2. Соловьёва ТН, Козлова НВ, Елькин АВ, Барнаулов АО. Диагностика инфильтративного туберкулёза лёгких в современных условиях. *Вестник СЗГМУ им. И.И. Мечникова*. 2013;5(3):79-83.
3. Селиванов ЕВ, Звягинцев ЕН. Место ПЦР исследований в своевременной и точной диагностике туберкулёза. *Вестник лаборатории ДНК-диагностики.* 2011;10:12-7.

## References

1. Seryogina VA, Budritsky AM. Sovremennye vozmozhnosti diagnostiki tuberkulyoza lyogkikh [Modern possibilities of diagnosis of pulmonary tuberculosis]. *Vestnik VGMU.* 2016;15(4):7-17.
2. Solovyova TN, Kozlova NV, Elkin AV, Barnaulov AO. Diagnostika infil'trativnogo tuberkulyoza lyogkikh v sovremennykh usloviyakh [Diagnosis of infiltrative pulmonary tuberculosis in modern conditions]. *Vestnik SZGMU im. I.I. Mechnikova.* 2013;5(3):79-83.
3. Selivanov EV, Zvyagintsev EN. Mesto PTSR-issledovaniy v svoevremennoy i tochnoy diagnostike tuberkulyoza [Place of PCR studies in the timely and accurate diagnosis of tuberculosis]. *Vestnik laboratorii DNK-diagnostiki.* 2011;10:12-7.

4. Costa P, Botelho A, Couto I, Viveiros M, Inacio J. Standing of nucleic acid testing strategies in veterinary diagnosis laboratories to uncover Mycobacterium tuberculosis complex members. *Front Mol Biosci.* 2014;1:1-18.
5. Galimi R. Extrapulmonary tuberculosis: tuberculous meningitis new developments. *Eur Rev Med Pharmaco.* 2011;4:365-86.
6. Sivokozov I, Shumskaya I, Lovacheva O, Evgushenko E, Chernousova L. Efficacy of endoscopic diagnostics in smear-negative TB. *Eur Respire J.* 2014;44:26-30.
7. Иванов ПЛ, Леонов СЛ. Методика получения ДНК, пригодной для молекулярно-генетического исследования, из гепаринизированных образцов крови. *Судебно-медицинская экспертиза.* 2010;6:21-3.
8. Севастьянова ЭВ, Пузанов ВА, Смирнова ТГ, Ларионова ЕЕ, Черноусова ЛН. Оценка комплекса микробиологических и молекулярно-генетических методов исследований для диагностики туберкулёза. *Туберкулёз и болезни лёгких.* 2015;1:35-41.
9. Севастьянова ЭВ, Ларионова ЕЕ, Смирнова ТГ, Андриевская ИЮ, Андреевская СН, Черноусова ЛН. Оценка результатов выявления микобактерий, полученных различными методами исследования. *Медицинский альянс.* 2018;3:25-30.
10. Singh S, Saluja TP, Kaur M, Khilnani GC. Comparative evaluation of FASTP assay with PCR and other conventional in vitro diagnostic methods for the early detection of pulmonary tuberculosis. *J Clin Lab Anal.* 2008;22(5):367-74.
11. Севастьянова ЭВ, Черноусова ЛН. Современные алгоритмы микробиологической диагностики туберкулёза. *Туберкулёз и болезни лёгких.* 2018;96(7):11-7.
12. Ekrami A, Samarbaf-Zadeh AR, Khosravi A, Zardar B, Alavi M, Amin M. Validity of bioconjugated silica nanoparticles in comparison with direct smear, culture and polymerase chain reaction for detection of mycobacterium tuberculosis in sputum specimens. *Int J Nanomed.* 2011;6:2729-35.
13. Miotto P, Bigoni S, Migliori GB, Mattelli A, Cirillo DM. Early tuberculosis treatment monitoring by Xpert® MTB/RIF. *Eur Respire J.* 2012;39(5):1269-71.
14. Velayat AA, Farnia P, Masiedi MR. Recurrence after treatment success in pulmonary multidrug resistant tuberculosis: predication by continual PCR positivity. *Int J Clin Exp Med.* 2012;5(3):271-2.
15. Кондратьева ТК, Ажикина ТЛ, Шлеева МО, Капрельянц АС, Апт АС. Генетический контроль латентной туберкулёзной инфекции. *Туберкулёз и социально-значимые заболевания.* 2013;2:61-7.
16. Попов СА, Сабгайда ТП, Можокина ГН. Лабораторная диагностика больных туберкулёзом с лекарственной устойчивостью возбудителя. *Проблемы социальной гигиены, здравоохранения и истории медицины.* 2016;24(5):272-6.
17. Хоменко ДС, Тигиев АВ, Кампос ЕД. Эпидемиологические и клинико-рентгенологические особенности инфильтративного туберкулёза лёгких в Ростовской области. *Журнал фундаментальной медицины и биологии.* 2014;3:49-51.
18. Савинцева ЕВ, Яковлева ЕА, Шевелёва СЛ, Гринько ОВ, Светлакова АА. Ретроспективный анализ методов диагностики – BACTEC, классический метод, ПЦР-метод. *European Science.* 2019;2:46-9.

4. Costa P, Botelho A, Couto I, Viveiros M, Inacio J. Standing of nucleic acid testing strategies in veterinary diagnosis laboratories to uncover Mycobacterium tuberculosis complex members. *Front Mol Biosci.* 2014;1:1-18.
5. Galimi R. Extrapulmonary tuberculosis: tuberculous meningitis new developments. *Eur Rev Med Pharmaco.* 2011;4:365-86.
6. Sivokozov I, Shumskaya I, Lovacheva O, Evgushenko E, Chernousova L. Efficacy of endoscopic diagnostics in smear-negative TB. *Eur Respire J.* 2014;44:26-30.
7. Ivanov PL, Leonov SL. Metodika polucheniya DNK, prigodnoy dlya molekulyarno-geneticheskogo issledovaniya, iz geparinizirovannykh obraztsov krovi [Method obtaining DNA suitable for molecular genetic research from heparinized blood samples]. *Sudebno-meditsinskaya ekspertiza.* 2010;6:21-3.
8. Sevastyanova EV, Puzanov VA, Smirnova TG, Larionova EE, Chernousova LN. Otsenka kompleksa mikrobiologicheskikh i molekulyarno-geneticheskikh issledovaniy dlya diagnostiki tuberkulyoza [Assessment of a set of microbiological and molecular genetic studies for the diagnosis of tuberculosis]. *Tuberkulyoz i bolezni lyogkikh.* 2015;1:35-41.
9. Sevastyanova EV, Larionova EE, Smirnova TG, Andrievskaya IU, Andreevskaya SN, Chernousova LN. Otsenka rezul'tatov vyyavlenia mikobakteriy, poluchennykh raznymi metodami issledovaniya [Evaluation of the result of Mycobacterium detection, obtained by different studies methods]. *Meditsinskiy al'yans.* 2018;3:25-30.
10. Singh S, Saluja TP, Kaur M, Khilnani GC. Comparative evaluation of FASTP assay with PCR and other conventional in vitro diagnostic methods for the early detection of pulmonary tuberculosis. *J Clin Lab Anal.* 2008;22(5):367-74.
11. Sevastyanova EV, Chernousova LN. Sovremennye algoritmy mikrobiologicheskoy diagnostiki tuberkulyoza [Modern algorithms of microbiological diagnostics of tuberculosis]. *Tuberkulyoz i bolezni lyogkikh.* 2018;96(7):11-7.
12. Ekrami A, Samarbaf-Zadeh AR, Khosravi A, Zardar B, Alavi M, Amin M. Validity of bioconjugated silica nanoparticles in comparison with direct smear, culture and polymerase chain reaction for detection of mycobacterium tuberculosis in sputum specimens. *Int J Nanomed.* 2011;6:2729-35.
13. Miotto P, Bigoni S, Migliori GB, Mattelli A, Cirillo DM. Early tuberculosis treatment monitoring by Xpert® MTB/RIF. *Eur Respire J.* 2012;39(5):1269-71.
14. Velayat AA, Farnia P, Masiedi MR. Recurrence after treatment success in pulmonary multidrug resistant tuberculosis: predication by continual PCR positivity. *Int J Clin Exp Med.* 2012;5(3):271-2.
15. Kondratyeva TC, Azhikina TL, Shleeva MO, Caprelyants AS, Apt AS. Genetichеskiy kontrol' latentnoy tuberkulyoznoy infektsii [Genetic control of latent tuberculosis infection]. *Tuberkulyoz i sotsial'no-znachimye zabolevaniya.* 2013;2:61-7.
16. Popov SA, Sabgayda TP, Mozhokina GN. Laboratornaya diagnostika bol'nykh tuberkulyozom s lekarstvennoy ustoychivost'yu vozbuditelya [The laboratory diagnostic of patients with tuberculosis with medicinal resistance of agent]. *Problemy sotsial'noy gigieny, zdravookhraneniya i istorii meditsiny.* 2016;24(5):272-6.
17. Khomenko DS, Tigiev AV, Campos ED. Epidemiologicheskie i kliniko-rentgenologicheskie osobennosti infil'trativnogo tuberkulyoza lyogkikh v Rostovskoy oblasti [Epidemiological and clinicoroentgenological features of infiltrative pulmonary tuberculosis in Rostov region]. *Zhurnal fundamental'noy meditsiny i biologii.* 2014;3:49-51.
18. Savintseva EV, Yakovleva EA, Shevelyova SL, Grinko OV, Svetlakova AA. Retrospektivnyy analiz metodov diagnostiki – BACTEC, klassicheskiy metod, PTSR-metod [Retrospective analysis of methods of diagnostics – BACTEC, classical method, PCR-method]. *European Science.* 2019;2:46-9.


## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ


**Дуденко Елена Вячеславовна,** старший научный сотрудник лаборатории иммунологии и молекулярной биологии, Национальный центр фтизиатрии
ORCID ID: 0000-0001-8948-3659

**Сыдыкова Салтанат,** научный сотрудник лаборатории иммунологии и молекулярной биологии, Национальный центр фтизиатрии
ORCID ID: 0000-0001-6479-2770


## AUTHOR INFORMATION


**Dudenko Elena Vyacheslavovna,** Senior Researcher, Laboratory of Immunology and Molecular Biology, National Center for Phthisiology
ORCID ID: 0000-0001-8948-3659

**Sydykova Saltanat,** Researcher, Laboratory of Immunology and Molecular Biology, National Center for Phthisiology
ORCID ID: 0000-0001-6479-2770

**Информация об источнике поддержки в виде грантов, оборудования, лекарственных препаратов**
Работа выполнялась в соответствии с планом НИР Национального центра фтизиатрии (номер государственной регистрации 0003059). Финансовой поддержки со стороны компаний-производителей лекарственных препаратов и медицинского оборудования авторы не получали.

**Конфликт интересов:** отсутствует.

**Information about the source of support in the form of grants, equipment, and drugs**
The work was carried out according to the plan of scientific research works of National Center for Phthisiology (state registration number – 0003059). The authors did not receive financial support from manufacturers of medicines and medical equipment.

**Conflicts of interest:** The authors have no conflicts of interest

АДРЕС ДЛЯ КОРРЕСПОНДЕНЦИИ:

**Дуденко Елена Вячеславовна**
старший научный сотрудник лаборатории иммунологии и молекулярной биологии Национального центра фтизиатрии

720020, Кыргызская Республика, г. Бишкек, ул. Ахунбаева, 90а
Тел.: +996 (554) 044011
E-mail: dudenko-1963@mail.ru

ADDRESS FOR CORRESPONDENCE:

**Dudenko Elena Vyacheslavovna**
Senior Researcher, Laboratory of Immunology and Molecular Biology, National Center for Phthisiology

720020, Kyrgyz Republic, Bishkek, Akhunbaev Street, 90a
Tel.: +996 (554) 044011
E-mail: dudenko-1963@mail.ru

ВКЛАД АВТОРОВ

Разработка концепции и дизайна исследования: ДЕВ
Сбор материала: СС
Статистическая обработка данных: СС
Анализ полученных данных: ДЕВ
Подготовка текста: ДЕВ, СС
Редактирование: ДЕВ
Общая ответственность: ДЕВ

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Conception and design: DEV
Data collection: SS
Statistical analysis: SS
Analysis and interpretation: DEV
Writing the article: DEV, SS
Critical revision of the article: DEV
Overall responsibility: DEV

*Поступила* *09.06.2019*
*Принята в печать* *26.09.2019*

*Submitted* *09.06.2019*
*Accepted* *26.09.2019*