

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ
Кафедра микробиологии

МИКОЛУЦКАЯ
Елизавета Вячеславовна

МЕТОДЫ ДИАГНОСТИКИ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ
ТУБЕРКУЛЕЗА

Аннотация к дипломной работе

Научный руководитель:
Кандидат химических наук, доцент
Д.О. Герловский

Минск, 2025

АННОТАЦИЯ

Дипломная работа изложена на 66 страницах машинописного текста, содержит 17 рисунков, 9 таблиц, 6 диаграмм, основана на 35 использованных источниках.

Ключевые слова: туберкулёз, диагностика, пцр, бактериоскопия, культуральный посев, флуорохромное окрашивание, микобактерии, чувствительность, специфичность, идентификация, эффективность.

Объектом исследования являются методы диагностики туберкулеза, а предметом – их микробиологические аспекты, включая чувствительность, специфичность и скорость получения результатов.

Целью данной работы является анализ современных микробиологических методов диагностики туберкулеза, их сравнительная оценка и выявление наиболее эффективных подходов для практического применения.

В результате работы был проведён всесторонний анализ методов бактериоскопии, культурального посева, флуорохромного окрашивания и молекулярно-генетической диагностики (ПЦР) на примере 150 образцов мокроты, поступающих в лабораторию УЗ «МОКБ» от пациентов с подозрением на туберкулез.

Бактериоскопия по Цилю-Нильсену выявила кислотоустойчивые бактерии в 72 из 150 образцов (48%). Культуральный посев на среду Левенштейна-Йенсена дал положительный результат в 96 случаях (64%), а на жидкой среде Финна-2 – в 22 из 30 исследованных образцов (73,3%). Флуорохромное окрашивание позволило обнаружить микобактерии в 21 из 30 образцов (70%), показав более высокую чувствительность при низкой бактериальной нагрузке по сравнению с классической бактериоскопией. Наибольшую чувствительность показал метод ПЦР, с выявлением ДНК микобактерий в 40 из 50 исследованных образцов (80%), включая те, где бактериоскопия и посев дали отрицательный результат. Это подтверждает эффективность молекулярной диагностики при низком содержании возбудителя в материале. Использование жидкой среды Финна-П позволило получить результаты уже на 10-14 день, в то время как среда Левенштейна-Йенсена давала рост через 28-35 дней, что сокращает срок постановки диагноза более чем в 2 раза.

Проведенная морфологическая, тинкториальная, культуральная и биохимическая идентификация изолятов показала соответствие всем признакам *M. tuberculosis* (ниациновая проба – положительная; нитратредуктазная – положительная; термостабильная каталаза – отрицательная), подтверждая клиническую значимость выделенных культур.

Эти данные, полученные на базе УЗ «МОКБ», подтверждают актуальность внедрения современных молекулярных технологий в практику. Но, несмотря на их высокую эффективность, их широкое использование ограничено рядом факторов:

- стоимость оборудования и реагентов превышает 2,5 – 3 тыс. руб. на каждый ПЦР-блок;
- требуется обучение персонала;
- не во всех районных лабораториях имеется необходимая техническая база.

Это подчеркивает необходимость развития централизованных диагностических платформ и государственной поддержки лабораторий.

АНАТАЦЫЯ

Дыпломная праца выкладзена на 66 старонках машынапіснага тэксту, змяшчае 17 малюнкаў, 9 табліц, 6 дыяграм, заснавана на 35 выкарыстаных крыніцах.

Ключавыя словы: сухоты, дыягностыка, пцр, бактэрыяскапія, культуральнай пасеў, флуорохромное афарбоўванне, мікабактэрый, адчувальнасць, спецыфічнасць, ідэнтыфікацыя, эфектыўнасць.

Аб'ектам даследавання з'яўляюцца метады дыягностыкі туберкулёзу, а прадметам – іх мікрабіялагічныя аспекты, уключаючы адчувальнасць, спецыфічнасць і хуткасць атрымання вынікаў.

Мэтай дадзенай працы з'яўляецца аналіз сучасных мікрабіялагічных метадаў дыягностыкі туберкулёзу, іх параўнальная ацэнка і выяўленне найбольш эфектыўных падыходаў для практычнага прымянення.

У выніку працы быў праведзены ўсебаковы аналіз метадаў бактэрыяскапіі, культуральнай пасеву, флуорохромнага афарбоўвання і малекулярна-генетычнай дыягностыкі (ПЦР) на прыкладзе 150 узораў мокроты, якія паступаюць у лабараторыю УАЗ «МОКБ» ад пацыентаў з падазрэннем на сухоты.

Бактэрыяскапія па Цілю-Нільсену выявіла кіслотоустойчавасць бактэрыі ў 72 з 150 узораў (48%). Культуральнай пасеў на сераду Левенштейна-Енсэна даў станоўчы вынік у 96 выпадках (64%), а на вадкай асяроддзі Фіна-2 – у 22 з 30 даследаваных узораў (73,3%). Флуорохромное афарбоўванне дазволіла выявіць мікабактэрыі ў 21 з 30 узораў (70%), паказаўшы больш высокую адчувальнасць пры нізкай бактэрыяльнай нагрузцы ў параўнанні з класічнай бактэрыяскапіяй. Найбольшую адчувальнасць паказаў метада ПЦР, з выяўленнем ДНК мікабактэрыі ў 40 з 50 даследаваных узораў (80%), уключаючы тыя, дзе бактэрыяскапія і пасеў далі адмоўны вынік. Гэта пацвярджае эфектыўнасць малекулярнай дыягностыкі пры нізкім змесце ўзбуджальніка ў матэрыяле. Выкарыстанне вадкай асяроддзя Фіна-ІІ дазволіла атрымаць вынікі ўжо на 10-14 дзень, у той час як серада Левенштейна-Енсэна давала рост праз 28-35 дзён, што скарачае тэрмін пастаноўкі дыягназу больш чым у 2 разы.

Праведзеная марфалагічная, тінкторыяльная, культуральнай і біяхімічная ідэнтыфікацыя ізолятов паказала адпаведнасць ўсіх прыкметах *M. tuberculosis* (ниациновая проба – станоўчая; нитратредуктазная – станоўчая; термостабильная каталаза – адмоўная), пацвярджаючы клінічную значнасць вылучаных культур.

Гэтыя дадзеныя, атрыманыя на базе УАЗ «МОКБ», пацвярджаюць актуальнасць ўкаранення сучасных малекулярных тэхналогій у практыку. Але, нягледзячы на іх высокую эфектыўнасць, іх шырокае выкарыстанне абмежавана шэрагам фактараў:

- кошт аборудавання і рэагентаў перавышае 2,5-3 тыс. руб. на кожны ПЦР-блок;
- патрабуецца навучанне персоналу;
- не ва ўсіх раённых лабараторыях маецца неабходная тэхнічная база.

Гэта падкрэслівае неабходнасць развіцця цэнтралізаваных дыягнастычных платформаў і дзяржаўнай падтрымкі лабараторый.

ANNOTATION

The thesis is presented on 66 pages of typewritten text, contains 17 figures, 9 tables, 6 diagrams, and is based on 35 sources used.

Keywords: tuberculosis, diagnosis, PCR, bacterioscopy, culture seeding, fluorochrome staining, mycobacteria, sensitivity, specificity, identification, efficacy.

The object of the study is methods for diagnosing tuberculosis, and the subject is their microbiological aspects, including sensitivity, specificity, and speed of obtaining results.

The purpose of this work is to analyze modern microbiological methods for the diagnosis of tuberculosis, to compare them and to identify the most effective approaches for practical application.

As a result, a comprehensive analysis of the methods of bacterioscopy, culture seeding, fluorochrome staining and molecular genetic diagnostics (PCR) was carried out using the example of 150 sputum samples received by the laboratory of the UZ "MOKB" from patients with suspected tuberculosis.

Cyll-Nielsen bacterioscopy revealed acid-resistant bacteria in 72 out of 150 samples (48%). Culture seeding with Levenstein-Jensen medium gave a positive result in 96 cases (64%), and with Finn-2 liquid medium in 22 of the 30 samples studied (73.3%). Fluorochrome staining made it possible to detect mycobacteria in 21 out of 30 samples (70%), showing higher sensitivity at low bacterial load compared with classical bacterioscopy. The PCR method showed the greatest sensitivity, with the detection of mycobacterium DNA in 40 of the 50 samples studied (80%), including those where bacterioscopy and culture gave a negative result. This confirms the effectiveness of molecular diagnostics with a low content of the pathogen in the material. Using the Finn-II liquid medium made it possible to obtain results as early as 10-14 days, while the Levenshtein-Jensen medium showed growth after 28-35 days, which shortens the time for diagnosis by more than 2 times.

The morphological, tinctorial, cultural, and biochemical identification of the isolates showed compliance with all the signs of *M.tuberculosis* (niacin test – positive; nitrate reductase – positive; thermostable catalase – negative), confirming the clinical significance of the isolated cultures.

These data, obtained on the basis of the MOKB Management System, confirm the relevance of introducing modern molecular technologies into practice. However, despite their high efficiency, their widespread use is limited by a number of factors.:

- the cost of equipment and reagents exceeds 2.5 – 3 thousand rubles for each PCR unit;
- Staff training is required;
- not all regional laboratories have the necessary technical base.

This highlights the need to develop centralized diagnostic platforms and government support for laboratories.