

## ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНАЯ ДИАГНОСТИКА ТУБЕРКУЛЕЗА У ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ С ПРИМЕНЕНИЕМ МУЛЬТИПЛЕКСНОЙ ТЕСТ-СИСТЕМЫ

Александрова Н.М.<sup>1,2</sup>, Хаммадов Н.И.<sup>2</sup>, Шуралев Э.А.<sup>1,3</sup>, Елизарова И.А.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГАОУВПО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», Казань, Россия

<sup>2</sup>ФГБНУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности – ВНИВИ», Казань, Россия

<sup>3</sup>Казанская государственная медицинская академия – филиал ФГБОУ ДПО «РМАНПО» Минздрава России, Казань, Россия

**Введение.** В последнее время во многих странах мира происходит ухудшение эпидемиологической обстановки по туберкулезу. Современные достижения молекулярной биологии и генетики, позволили по-новому представить важные закономерности развития этого заболевания и наметить принципиально новые пути его диагностики. В ветеринарии для прижизненной диагностики туберкулеза широко применяется аллергическая реакция на ППД-туберкулин. На Российском рынке существует ряд ПЦР тест-систем, позволяющих проводить дифференциацию *M.tuberculosis*, *M.bovis* и *M.bovis* BCG, а также *M. avium complex* и др. Однако, для решения нашей цели было необходимо использовать сразу несколько наборов, что экономически не рентабельно.

**Цель и задачи.** В связи с этим, целью наших исследований являлось выяснение причинно-следственных связей неспецифических аллергических туберкулиновых реакций. Для её решения были поставлены задачи:

1. Провести анализ сиквенсов геномов микобактерий.
2. Создать новую ПЦР тест-систему.
3. Создать технологию дифференциальной диагностики туберкулеза от неспецифической сенсibilизации организма.

**Материалы и методы.** Для исследований пробы биологического материала (молоко, кровь, соскобы из влажной и носа) отбирались от КРС в хозяйствах Республики Татарстан. Мокроту от больных людей (с заведомо поставленным диагнозом) получали из противотуберкулезного диспансера. Пробы от животных исследовали бактериологическими и молекулярно-генетическими методами. Пробы от людей молекулярно-генетическими методами.

**Основные результаты.** Нами был произведен анализ (Next-generation sequencing) сиквенсов геномов микобактерий. В результате анализа полиморфизма высоко-консервативных участков ДНК, были определены общеродовые и видоспецифичные локусы ДНК микобактерий (*M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. avium*, *M. kansasii*, *M. scrofulaceum*, *M. phlei*, *M. smegmatis*, *M. paratuberculosis*) и создан банк ДНК разных видов микобактерий.

В результате изыскания видоспецифичных и общеродовых локусов ДНК микобактерий было определено 17 потенциально перспективных локусов. Как следствие этого анализа, было сконструировано и синтезировано 12 праймеров для амплификации не туберкулезных микобактерий. Для выявления патогенных микобактерий

было проанализировано 10 локусов ДНК микобактерий туберкулеза и созданы праймеры для обнаружения патогенных микобактерий.

Нами созданы мультиплексные ПЦР тест-системы для индикации и дифференциации вакцинного штамма *M. bovis* BCG от патогенных видов возбудителей туберкулеза, с определением наличия общеродового участка генома и дифференциации видов человеческого, бычьего и птичьего типов возбудителей туберкулеза, и от других микобактерий.

Мы предприняли попытку по выяснению причинно-следственных связей неспецифических аллергических туберкулиновых реакций, при помощи вновь созданных ПЦР тест-систем для создания технологии установления происхождения специфических и неспецифических аллергических реакций при туберкулезе.

Взятый биологический материал от животных исследовали бактериологическими и молекулярно-генетическими методами. Из 859 проб биологического материала от коров, положительно реагировавших на ППД-туберкулин для млекопитающих, геномов патогенных микобактерий в пробах крови и влажной слизи не выявлено. В 27 пробах молока и в 12 пробах носоглоточной слизи обнаружен геном патогенных микобактерий.

Нами установлено, из 65 коров носителей микобактерий (подвергнутых диагностическому забою) лишь 26 были заражены патогенными микобактериями, что говорит о целесообразности определения в пробе не туберкулезных микобактерий как источника парааллергических реакций на туберкулин.

В 287 пробах мокроты от людей, с установленным диагнозом туберкулеза, установлено наличие микобактерий туберкулеза.

**Заключение/выводы.** Проведен анализ сиквенсов геномов микобактерий. Созданы мультиплексные ПЦР тест-системы позволяющие обнаруживать геномы общеродового участка, вакцинного штамма *M. bovis* BCG и патогенных видов возбудителей туберкулеза.

Показано, что доля истинного туберкулеза, у положительно реагировавших на ППД-туберкулин для млекопитающих коров составила 7,49%, при этом 22% сенсibilизации обусловлено наличием других микобактериозов.

Разработана технология дифференциальной диагностики туберкулеза от неспецифической сенсibilизации организма.