

Микобактериальные инфекции: особенности микробиологической диагностики

А.В. Луценко^{1,2}, А.Л. Ясенявская¹, М.А. Самотруева¹

¹ Астраханский государственный медицинский университет Минздрава России
414000, г. Астрахань, ул. Бакинская, 121

² Астраханский государственный технический университет
414056, г. Астрахань, ул. Татищева, 16/1

Резюме

На сегодняшний день определено более 200 видов микобактерий, помимо хорошо известных человечеству *Mycobacterium leprae* и *Mycobacterium tuberculosis*. Среди микроорганизмов, принадлежащих к роду *Mycobacterium*, встречаются облигатно патогенные, условно-патогенные и сапрофитные виды. Неуклонно растет заболеваемость микобактериозами, обусловленными нетуберкулезными микобактериями, способными вызывать оппортунистические инфекции у людей и животных. Нетуберкулезные микобактерии все чаще признаются причиной инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи. Цель исследования – анализ литературы, посвященной актуальным методам микробиологической диагностики микобактериальных инфекций. **Материал и методы.** Выполнен поиск и анализ научной литературы в базах данных Web of Science, PubMed, eLibrary.ru, Europe PMC с использованием следующих ключевых слов: микобактериозы, нетуберкулезные микобактерии, микобактериальные инфекции, MALDI-ToF MS, атипичные микобактерии, mycobacterioses, non-tuberculous mycobacteria, mycobacterial infections, atypical micobacteria. **Результаты и их обсуждение.** В обзоре обобщены и представлены классификация, морфологические, культуральные, генетические и экологические особенности различных микобактерий. Проанализированы современные подходы в диагностике микобактериальных заболеваний и идентификации возбудителей, указаны их преимущества и недостатки. **Заключение.** Микобактериальные инфекции нередко рассматриваются как заболевания, связанные с оказанием медицинской помощи, требующие детальной оценки ситуации с определением критериев микробиологического мониторинга объектов медицинской организации и т.д. Проанализированные литературные данные демонстрируют разнообразие методов лабораторной диагностики микобактериальных инфекций с необходимостью дальнейшего совершенствования методологических подходов.

Ключевые слова: микобактериозы, нетуберкулезные микобактерии, микобактериальные инфекции, MALDI-ToF MS, атипичные микобактерии.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства здравоохранения РФ № 056-00113-21-00 в части проведения НИР по теме «Разработка методов диагностики и лечения лепрозной инфекции на основе принципов персонализированной медицины».

Автор для переписки: Луценко А.В., e-mail: ahrapova@yandex.ru

Для цитирования: Луценко А.В., Ясенявская А.Л., Самотруева М.А. Микобактериальные инфекции: особенности микробиологической диагностики. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2023;43(6):34–44. doi: 10.18699/SSMJ20230604

Mycobacterial infections: features of microbiological diagnosis

A.V. Lutsenko^{1,2}, A.L. Yaseniyavskaya¹, M.A. Samotrueva¹

¹ Astrakhan State Medical University of Minzdrav of Russia
414000, Astrakhan, Bakinskaya st., 121

² Astrakhan State Technical University
414056, Astrakhan, Tatishcheva st., 16/1

Abstract

To date, more than 200 species of mycobacteria have been identified, in addition to the well-known *Mycobacterium leprae* and *Mycobacterium tuberculosis*. Among microorganisms belonging to the genus *Mycobacterium*, there are obligate pathogenic, opportunistic and saprophytic strains. The incidence of non-tuberculous or atypical mycobacteria, which cause opportunistic infections in humans and animals, is steadily increasing. Non-tuberculous mycobacteria are increasingly recognized as a source of healthcare-associated infections. Aim of the study was to analyze the literature on current methods of microbiological diagnosis of mycobacterial infections. **Material and methods.** A search and analysis of scientific literature in the Web of Science, PubMed, eLIBRARY.RU, Europe PMC databases was performed using the following key words: mycobacteriosis, non-tuberculous mycobacteria, mycobacterial infections, MALDI-TOF MS, atypical mycobacteria. **Results and discussion.** The review summarizes and presents the classification, morphological, cultural, genetic and ecological features of mycobacterial strains. Modern approaches in the diagnosis of mycobacterial diseases and identification of pathogens are analyzed; their advantages and disadvantages are indicated. **Conclusions.** Mycobacterial infections are often considered as diseases associated with the provision of medical care, requiring a detailed assessment of the situation with the definition of criteria for microbiological monitoring of objects of a medical organization, etc. The analyzed literature data demonstrate a variety of methods for laboratory diagnosis of mycobacterial infections with the need for further improvement of methodological approaches.

Key words: mycobacterioses, non-tuberculous mycobacteria, mycobacterial infections, MALDI-TOF MS, atypical mycobacteria.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Financing. The work was carried out within the framework of the state task of the Ministry of Health of the Russian Federation № 056-00113-21-00 in terms of conducting research on the topic “Development of methods for diagnosing and treating leprosy infection based on the principles of personalized medicine.”

Correspondence author: Lutsenko A.V., e-mail: ahrapova@yandex.ru.

Citation: Lutsenko A.V., Yasyenyavskaya A.L., Samotrueva M.A. Mycobacterial infections: features of microbiological diagnosis. *Sibirskij nauchnyj medicinskij zhurnal* = *Siberian Scientific Medical Journal*. 2023;43(6):34–44. [In Russian]. doi: 10.18699/SSMJ20230604

Введение

Микобактериальные инфекции – группа прогрессирующих заболеваний различной локализации, вызываемых представителями микобактерий туберкулезного комплекса (*Mycobacterium tuberculosis*, *M. bovis*, *M. microti* и *M. africanum*, *M. caprae*, *M. pinnipedi*, *M. canettii*), микобактериями лепры (*M. leprae*) и «атипичными» условно-патогенными нетуберкулезными микобактериями (НТМБ) (*M. paratuberculosis*, *M. avium*, *M. haemophilum*, *M. marinum* и др.) [1–4].

Большинство случаев заражения человека НТМБ приходится на лиц с ослабленным иммунитетом. Пожилой возраст, наличие хронической обструктивной болезни легких, а также патологий, приводящих к изменению иммунной компетентности (аутоиммунные заболевания, пандемия ВИЧ/СПИД и др.), повышают склонность к инфицированию НТМБ [5–8]. Кроме того, ему подвержены специалисты, чья деятельность связана с сельским хозяйством, добычей полезных ископаемых, озеленительными и подземными работами [8, 9]. Атипичные микобактерии чаще всего вызывают легочные инфекции (медленно растущие *M. avium* complex и *M. kansasii*, а также быстрорастущие микобактерии, в том числе *M. abscessus* complex), особенно у пациентов со структурными заболеваниями дыхательных

путей (например, муковисцидоз и бронхоэктазы). Наряду с этим атипичные представители микобактерий способны вызывать лимфаденит, инфекции кожи и мягких тканей, сердечно-сосудистой системы, костей и суставов, а также диссеминированные заболевания [11–14].

Угроза ежегодного роста числа пациентов с микробиологически подтвержденным диагнозом обуславливает актуальность проблемы микобактериальных заболеваний и внимание к ней исследователей и клиницистов [15, 16], чему способствует совершенствование диагностических методик выделения и идентификации микобактерий – культивирование в автоматизированных системах с использованием жидких питательных сред, молекулярно-генетические методы, использование высокопроизводительной жидкостной хроматографии миколовых кислот, MALDI-ToF масс-спектрометрия [1, 2, 14, 17].

Цель исследования – анализ литературы, посвященной актуальным методам микробиологической диагностики микобактериальных инфекций.

Материал и методы

Выполнен поиск и анализ научной литературы в базах данных Web of Science, PubMed, eLibrary.ru, Europe PMC с использованием сле-

дующих ключевых слов: микобактериозы, нетуберкулезные микобактерии, микобактериальные инфекции, MALDI-ToF MS, атипичные микобактерии, mycobacterioses, non-tuberculous mycobacteria, mycobacterial infections, atypical mycobacteria.

Результаты и их обсуждение

Таксономия, генетические и экологические аспекты микобактерий

Семейство Mycobacteriaceae порядка Actinomycetales представляет собой уникальную группу грамположительных, неподвижных, аэробных, неспорообразующих, кислотоустойчивых плеоморфных микроорганизмов, отличающихся исключительной адаптацией и способностью к выживанию в экстремально неблагоприятных условиях. Помимо хорошо известных облигатных патогенов человека, *M. tuberculosis* и *M. leprae*, описано более 200 других видов. Большинство из них составляют естественную микрофлору окружающей среды и особенно активно развиваются в водных и почвенных биотопах. Микобактерии принадлежат к экологической группе сапрофитов, однако могут инфицировать людей, вызывая легочные, кожные и костные заболевания, а также млекопитающих, рептилий и рыб [5, 18–20].

Род *Mycobacterium* представляет собой гомогенную таксономическую единицу, представители которой наделены множеством фенотипических и генотипических признаков, отличающих их от других родов [20]. Среди микроорганизмов, принадлежащих к роду *Mycobacterium*, встречаются облигатно патогенные, условно-патогенные и сапрофитные штаммы [21, 22]. Наружная часть их клеточной стенки состоит из гликолипидов и липогликанов, взаимодействующих с миколовыми кислотами, и покрыта рыхлыми белками, липидами и гликанами. Липидные слои придают микобактериальным клеткам кислотоустойчивость [13, 23, 24]. Строение клеточной стенки микобактерий, богатой миколовыми кислотами, придает им сходство с другими грамположительными бактериями, например, представителями родов *Gordonia*, *Nocardia*, *Rhodococcus* и *Tsukamurella*, но отличительной чертой является содержание значительного количества липидов [1, 19, 22].

При культивировании на плотных средах у некоторых видов наблюдается окрашивание колоний в лимонно-желтый или ярко-оранжевый цвет, индуцированное воздействием света (фотохромогенные микобактерии), или же как в присутствии света, так и без него (скотохромогенные микобактерии). Нефотохромогенные штаммы

образуют неокрашенные или бледно-желтые колонии независимо от освещенности [19, 25]. Хорошо изученными пигментами НТМБ являются каротиноиды, которые участвуют в обезвреживании свободных радикалов, защищая микробную клетку от окислительного стресса [26]. Методом тонкослойной хроматографии определены каротиноиды *M. phlei* (ксантофилы), *M. avium*, *M. kansasii* (альфа- и бета-каротин, ликопин), *M. intracellulare*, *M. aurum*, *M. marinum*, *M. goodii* и *M. scrofulaceum* [26].

Одним из самых мультирезистентных и гипервирулентных патогенов в истории человечества признан *M. tuberculosis*, являющийся возбудителем туберкулеза и причиной гибели 1,5 миллионов человек ежегодно. Растущая лекарственная устойчивость *M. tuberculosis* представляет собой серьезную медицинскую и экономическую проблему мирового масштаба, что значительно усложняет лечение, в частности, для пациентов с ослабленным иммунитетом [27–29].

M. leprae считалась единственным известным этиологическим агентом лепры до момента идентификации с помощью ПЦР другого близкородственного вида – *M. lepromatosis* у пациентов мексиканского происхождения, умерших от диффузной лепроматозной лепры [30]. Согласно имеющимся на сегодняшний момент данным, локализация *M. lepromatosis* определяется в основном в Северной и Центральной Америке [31]. *M. leprae* и *M. lepromatosis* имеют много сопоставимых характеристик, являясь облигатными внутриклеточными паразитами, не культивируются на искусственных питательных средах, вызывают похожие патологические состояния, но, несмотря на консервативность генома, отличаются по видовой принадлежности из-за некоторых различий в нуклеотидных последовательностях ДНК. В ходе секвенирования *de novo* *M. lepromatosis* учеными выявлены нуклеотидные полиморфизмы, в связи с чем появилась гипотеза расхождения *M. leprae* и *M. lepromatosis* от общего предка более 13 млн лет назад [28, 32, 33].

НТМБ представляют собой группу всех видов микобактерий, кроме облигатных патогенов комплекса *M. tuberculosis* и *M. leprae*. НТМБ являются почвенными и водными сапрофитами, которые могут вызывать оппортунистические инфекции у людей и животных. Выделяют аэрогенный, фекально-оральный и контактный пути заражения НТМБ, в отличие от *M. tuberculosis* прямая передача от человека к человеку встречается редко [11, 34, 35]. Известно, что микобактериозы, вызываемые атипичными микобактериями, поражают дикие и культивируемые виды водных беспозвоночных [36–38]. Учитывая возможность межви-

довой передачи микобактериальных инфекций у дикого и домашнего крупного рогатого скота, при исследовании образцов тканей животных среди преобладающих видов микобактерий зарегистрированы *M. intracellulare*, *M. lentiflavum*, *M. fortuitum* и *M. chelonae* [9, 11].

НТБМ обычно колонизируют торфяные горшечные грунты, гемодиализные установки, аквариумы и системы бытового водоснабжения, а быстрорастущие НТБМ (*M. fortuitum* complex, *M. chelonae*, *M. abscessus* complex) вызывают внутрибольничные вспышки [11]. Проявляя адгезивные свойства относительно биоматериалов, НТБМ способствуют развитию биопленок в медицинских устройствах (например, катетерах), что в свою очередь способствует развитию патологических состояний, трудно поддающихся диагностике и лечению [13, 39]. Доказано наличие НТБМ в биопленках кухонных раковин, а также в кранах бытовых холодильников и домашних льдогенераторов [9, 40]. Несмотря на то что НТБМ характеризуются умеренной патогенностью, во всем мире растет число заболеваний, вызываемых данной группой микроорганизмов [41].

Микроскопический метод в диагностике микобактерий

Для предварительного количественного обнаружения и выявления морфологических и типичных особенностей этиологически значимых микобактерий, а также сложно поддающихся культивированию микобактерий биоматериал подвергается микроскопическому исследованию. Несмотря на интенсивное развитие современных диагностических методик, микроскопический метод не утратил актуальности в микробиологической диагностике [42]. Использование микроскопии позволяет ускорить получение результата и является наименее затратным [19]. В связи с присутствием пептидогликана в составе клеточной стенки микобактерии относятся к грамположительным бактериям, однако их сложно обнаружить с помощью традиционных методов [43]. В основном микобактерии также не окрашиваются анилиновыми красителями, что значительно усложняет диагностику заболеваний. Большое содержание миколовых кислот в клеточной стенке придает им устойчивость к обесцвечиванию спиртом, что позволяет отличить микобактерии от представителей других таксономических групп на основе методов окрашивания [19].

Изначально немецкий врач и ученый Р. Кох модифицировал методы окраски К. Вейгерта при микроскопии *M. tuberculosis*. После открытия Коха другие исследователи (П. Эрлих, Ф. Циля, Г.Э. фон Риндфлейш, Ф. Нильсен) применили в

его методе карболовую кислоту (фенол) в качестве протравы [44]. Специальная окраска по методу Циля – Нильсена, а также окраска с выбором флуорохромных красителей (аурамин и родамин) широко используются для выявления микобактерий в клиническом материале, но не применимы для проведения дифференциальной диагностики НТБМ с микобактериями туберкулезного комплекса [1, 42].

Микроскопия служит предварительным методом для выявления «открытых форм» туберкулеза, при этом готовят мазки не менее чем из двух образцов диагностического материала (чаще всего мокроты). Установлено, что уже в первом образце кислотоустойчивые микобактерии обнаруживаются у 85,8 % пациентов, второй образец является положительным еще у 11,9 % пациентов [19]. Однако в ряде случаев возможно получение отрицательных результатов, например, если количество выделяемых микобактерий туберкулеза ниже предела чувствительности метода или же бактериовыделение отсутствует, а также микроскопическое обнаружение кислотоустойчивых микобактерий туберкулеза не позволяет отифференцировать их от НТБМ [45, 46].

Применение методов оптической и сканирующей микроскопии позволили детально изучить особенности структуры, этапы формирования и «кластерную» архитектуру биопленок микобактерий на примере паспортизированных штаммов *M. avium*, *Mycobacterium* B5 № 12 [47]. Подтверждена адаптационная изменчивость в виде гетероморфизма клеток с трансформацией в L-формы, что обеспечивает выживаемость микобактерий в экстремальных условиях [47, 48].

Во многих исследованиях показаны преимущества флуоресцентной микроскопии, ранее не получившей широкого распространения по причине дороговизны и частого перегорания ртутных ламп, а также необходимости условий постоянного электроснабжения. С появлением светодиодной флуоресцентной микроскопии метод стал более экономически выгодным и в настоящее время является ценной альтернативой стандартной окраске по Цилю – Нильсену. Модификации различных техник окрашивания с применением современного оборудования позволяют еще эффективнее применять этот старейший диагностический метод [44, 49]. Предприняты попытки обнаружения микобактерий туберкулеза модификацией метода иммунофлуоресценции с использованием легированного наночастицами диоксида кремния для создания усиленного флуоресцентного сигнала [50].

Культуральный метод для выявления микобактериальных возбудителей в диагностическом материале

Следующим этапом диагностического алгоритма является подбор питательных сред с оптимальным составом полезных веществ для выращивания культивируемых микобактериальных возбудителей, обнаруженных в мазке. Важным преимуществом культурального метода является возможность идентификации микобактериального штамма и детального исследования его лекарственной чувствительности, вирулентности и других биологических свойств [51].

Для выявления и изучения микобактериальных инфекций проводят посев отделяемого ран, образцов биопсии тканей легких, печени, почек и биологических жидкостей (моча, перитонеальная, плевральная, синовиальная, перикардальная, цереброспинальная жидкости, бронхоальвеолярный лаваж), предварительно осуществляя процедуру обеззараживания образца для исключения обсемененности другими бактериями и грибами [19, 52, 53].

Неотъемлемыми критериями лабораторной диагностики микобактериозов являются соответствующие условия для сбора, хранения и обработки образцов, поскольку эти микроорганизмы присутствуют в окружающей среде и могут быть занесены извне. Ложноположительные результаты могут привести к некорректному лечению. Чем длительнее временной промежуток между сбором, транспортировкой и обработкой образцов, тем выше вероятность роста контаминирующей сапрофитной микрофлоры в питательных средах. Образцы должны транспортироваться в герметичной таре, запечатанной и сертифицированной. Если транспортировка в лабораторию задерживается более чем на 1 ч с момента сбора образцов, их следует хранить при температуре от +2 до +8 °C [19, 53].

Применение антибиотиков с микобактерицидным действием, таких как макролиды и хинолоны, может привести к отрицательным результатам, в связи с чем антибиотикотерапия должна быть прекращена как минимум за 15 дней до забора материала [53]. Нередко положительный результат обусловлен связью высеванных микобактерий с патологическим процессом или же бессимптомной колонизацией органов и систем больного. Таким образом, необходимы строгий противоэпидемический режим в бактериологических лабораториях и организация регулярного микробиологического мониторинга объектов среды в самой лаборатории [2, 53, 54]. Важно подчеркнуть, что водопроводная или даже фильт-

рованная вода может привести к загрязнению анализируемого материала [53].

Диагностика микобактериозов очень часто осложняется неоднородностью группы НТМБ. Микобактерии отличаются по скорости роста – быстрорастущим видам требуется менее 3 сут инкубирования в жидких питательных средах, для формирования колоний – на плотных питательных средах, из-за чего они могут быть ошибочно идентифицированы как контаминирующая микрофлора. Напротив, для культивирования медленно растущих микобактерий могут потребоваться недели или даже месяцы [1, 18].

Сложности культивирования микобактерий *in vitro* связаны с их физиологическими особенностями, поэтому питательные среды должны соответствовать необходимым требованиям: используются многокомпонентные среды, богатые неорганическими веществами, альбумином, каталазой, глицерином и декстрозой в качестве источников углерода, с добавлением Tween 80 и яичных белков [52, 54].

Культивирование на плотных средах позволяет изучить морфологию и скорость роста колоний, дифференцировать микобактерии по способности к пигментообразованию, получить чистую культуру возбудителя для дальнейшей видовой идентификации, определить чувствительность к лекарственным препаратам [14, 49]. На сегодняшний момент разработаны кровяные (среды Тарши, Дюбо, агары Миддлбрук 7Н10 и 7Н11) и яичные плотные питательные среды (среды Финн-П, Левенштейна – Йенсена) [49, 55]. К яичным также относится среда Дорсета, которую чаще всего используют для транспортировки микобактерий [49]. С.Л. Preese et al. сообщают, что *M. abscessus* и его подвиды, а также другие быстрорастущие микобактерии могут быть выделены с применением селективного агара (BCSA), который обычно используется для выращивания *Burkholderia cepacia* [56].

Известно, что жидкие среды обеспечивают более быстрый рост и обнаружение микобактерий туберкулезного комплекса, однако подвержены контаминации сопутствующей микрофлорой [14, 19, 34, 56, 57]. В них создаются оптимальные условия для накопления биомассы микобактериальных клеток. Например, в состав сред Сотона, Моделя, Школьниковой включены все необходимые элементы (магний, натрий, железо, фосфор и др.) для жизнедеятельности *M. tuberculosis* [58]. Культивирование микобактерий на жидких средах с использованием автоматического микробиологического анализатора BACTEC MGIT 960 характеризуется высокой чувствительностью и возможностью детального изучения и идентифи-

кации полученных культур, что позволяет выявлять в диагностируемом образце микобактерий туберкулеза и НТМБ. Совершенно очевидно, что к неоспоримым преимуществам данного метода относятся высокая эффективность стандартизованных на уровне сертифицированных по ISO 9001 производств реагентов и сред, а также использование заданных протоколов исследований [50, 59].

Молекулярно-генетический метод диагностики микобактериальных инфекций

В комплексе с микроскопическим и культуральным методами исследования используют молекулярно-генетический метод. В любой нозологии точная идентификация этиологического агента имеет решающее значение для диагностики, лечения и предупреждения вспышек инфекционных заболеваний [41, 60]. Однако несмотря на совершенствование известных методов и появление новых подходов, идентификация микобактерий по-прежнему проблематична по причине фенотипической пластичности возбудителей, их лекарственной устойчивости, полиморфизма и вирулентных свойств [57]. С другой стороны, комплексные молекулярные исследования филогенетически значимых фрагментов генома микобактерий позволили установить высокую идентичность нуклеотидных последовательностей гена *16S* рРНК (94,3 %), что демонстрирует единую эволюционную ветвь и доказывает происхождение медленно растущих микобактерий от быстро растущих штаммов [19, 41, 61–63].

По причине длительного культивирования микобактерий, особенно медленно растущих видов, молекулярно-генетический анализ является наиболее часто используемым подходом для идентификации микобактериальных возбудителей [41, 63]. К преимуществам современных молекулярно-генетических методов относятся значительное сокращение продолжительности исследований и возможность выявления микобактерий в различном биоматериале. Долгое время приоритетным методом идентификации микобактерий считался анализ биохимических свойств и культуральных признаков, но впоследствии он был признан трудновоспроизводимым и длительным [18, 38]. Минимизация ручного труда, имеющая место при использовании как автоматизированных бактериологических анализаторов, так и современных молекулярно-генетических методов, снижает вероятность ошибок оператора при выполнении исследований указанными методами [38].

Также широко используются ПЦР, связанная с анализом рестрикционных ферментов (PRA), мультиплексная и вложенная [64]. Наиболее

эффективными признаны молекулярно-генетические методы, основанные на гибридизации с ДНК-зондами (Line Probe Assay, LPA), в частности, GenoType® Mycobacterium CM/AS, GenoType® MTBC, INNO-LiPA MYCOBACTERIA [61]. При анализе линейных зондов (LPA) образец ДНК амплифицируют с помощью ПЦР с биотинилированными праймерами. Затем продукты пропускают по полоске нитроцеллюлозной бумаги, содержащей ДНК-зонды, которые при связывании с ДНК-мишенью активируют колориметрический индикатор [62, 64].

Система GenoType MTBDRsl имеет дополнительные зонды для мутаций в генах *gyrA*, *rrs* и *embB*, соответственно кодирующих ДНК-гиразу, рибосомную субъединицу 16S, часть арабинозилтрансферазы и являющихся мишенями для фторхинолонов, аминогликозидов и капреомицина, этамбутола [62, 64]. LPA обладает высокой чувствительностью ($\geq 97\%$) и специфичностью ($\geq 99\%$) для выявления устойчивости к рифампицину и изониазиду (чувствительность $\geq 90\%$, специфичность $\geq 99\%$) у изолятов *M. tuberculosis* и в положительных мазках образцов мокроты [65].

Диагностические лаборатории противотуберкулезных учреждений активно применяют высокочувствительный и специфичный тест GeneXpert MTB/RIF, выявляющий в диагностируемом биоматериале наличие генетических маркеров *M. tuberculosis* и мутаций, связанных с множественной лекарственной устойчивостью [45]. Картриджи GeneXpert предварительно запрограммированы всеми необходимыми реагентами для обработки образцов, выделения ДНК, амплификации и обнаружения амплифицированного гена-мишени *rpo B*. Основное преимущество теста Xpert MTB/RIF заключается в том, что его можно точно провести с минимальными техническими затратами [65].

Следует отметить, что при выявленной монорезистентности к рифампицину примерно у 5% устойчивых к рифампицину штаммов обнаружена одновременная резистентность к изониазиду (~95%). Таким образом, резистентность к рифампицину можно использовать в качестве высокоточного маркера туберкулеза с множественной лекарственной устойчивостью [62, 66].

Хроматографические методы в идентификации микобактерий

Для диагностики заболеваний, вызываемых некультивируемыми или же долгорастущими микробными возбудителями, целесообразно применение хроматографических методов. Нестандартность архитектуры клеточной стенки с разнообразием миколовых кислот и липидов

позволяет идентифицировать НТМБ с помощью ВЭЖХ, признанной наиболее перспективным и распространенным методом во многих областях исследований: фармакокинетика, фармацевтика, клинические анализы, контроль загрязнений пищевых продуктов и окружающей среды, нефтехимия и др. [41, 60]. В основе идентификации с применением ВЭЖХ лежит сравнение хроматографических профилей анализируемого штамма с эталонными образцами, решающее значение имеет время элюирования и высота одиночных пиков [41].

Внедрение лазерной десорбционной-ионизационной времяпролетной масс-спектрометрии с использованием матрицы MALDI-ToF MS произвело революцию в диагностике инфекционных заболеваний [67]. MALDI-ToF MS — это аналитический метод, при котором частицы ионизируются, разделяются в соответствии с отношением их массы к заряду и измеряются путем определения времени, необходимого ионам для перемещения к детектору. Полученный спектр белков, полученных из изолятов или приготовленных экстрактов бактериальных клеток, сравнивается с базой данных спектров известных организмов, обеспечивая надежную идентификацию микроорганизма в течение нескольких минут [68]. Эта технология позволяет идентифицировать грамположительные, грамотрицательные, аэробные и анаэробные бактерии, а также микобактерии, дрожжи и плесневые грибы, как правило, на уровне видов, с более высокой точностью, чем традиционные методы. Из-за небольшого количества требуемой биомассы тестирование часто можно проводить из первичной культуры, если доступна одна хорошо изолированная колония. Неотъемлемое сходство между организмами и ограниченное количество спектров в базе данных могут привести к ошибочному определению видов, а также к ошибочной идентификации. Эти ошибки возникают относительно редко и обычно могут быть устранены с помощью дополнительного тестирования [69–71].

Другие хроматографические методы (тонкослойная и газожидкостная хроматография), несомненно, являются мощным ресурсом для проведения исследований, однако финансово затратны и, к сожалению, имеют ограниченное применение в диагностических лабораториях [2, 41].

Заключение

Микобактериальные заболевания широко распространены, и инфицирование организма человека может осуществляться различными путями. Отмечается рост заболеваемости НТМБ или атипичными микобактериями, вызывающими оппор-

тунистические инфекции у людей и животных, что определяет своевременность диагностики и оптимизацию алгоритмов выделения и идентификации. Микобактериальные инфекции нередко рассматриваются как заболевания, связанные с оказанием медицинской помощи, требуя детальной оценки ситуации с определением критериев микробиологического мониторинга объектов медицинской организации и т.д. Представленные в проанализированных литературных источниках данные демонстрируют разнообразие методов лабораторной диагностики микобактериальных инфекций с необходимостью дальнейшего совершенствования методологических подходов.

Список литературы/References

1. Лямин А.В., Жестков А.В., Исмагуллин Д.Д., Ковалев А.М. Лабораторная диагностика микобактериозов. *Вестн. соврем. клин. мед.* 2017;10(1):29–35. doi: 10.20969/VSKM.2017.10(1).29-35
Lyamin A.V., Zhestkov A.V., Ismatullin D.D., Kovalev A.M. Laboratory diagnostics of mycobacterioses. *Vestnik sovremennoy klinicheskoy meditsiny = Bulletin of Contemporary Clinical Medicine*. 2017;10(1):29–35. [In Russian]. doi: 10.20969/VSKM.2017.10(1).29-35
2. Фазылов В.Х., Петров И.В., Петрова Л.В., Петрова Ф.С., Амирова Т.Х. Проблемы лабораторной диагностики и идентификации видов микобактерий. *Инфекц. болезни: новости, мнения, обуч.* 2021;10(3-38):118–126. doi: 10.33029/2305-3496-2021-10-3-118-126
Fazylov V.Kh., Petrov I.V., Petrova L.V., Petrova F.S., Amirova T.Kh. Problems of laboratory diagnostics and identification of mycobacterium species: literature review. *Infektsionnye bolezni: novosti, mneniya, obucheniye = Infectious Diseases: News, Opinions, Training*. 2021;10(3-38):118–126. [In Russian]. doi: 10.33029/2305-3496-2021-10-3-118-126
3. Соломай Т.В. Эпидемиологические особенности микобактериозов, вызванных нетуберкулезными микобактериями. *Санитар. врач.* 2015;(3):30–36.
Solomay T.V. Epidemiological features of mycobacterioses caused by nontuberculous mycobacteria. *Sanitarnyy vrach = Sanitary Doctor*. 2015;(3):30–36. [In Russian].
4. Riojas M.A., McGough K.J., Rider-Riojas C.J., Rastogi N., Hazbón M.H. Phylogenomic analysis of the species of the *Mycobacterium tuberculosis* complex demonstrates that *Mycobacterium africanum*, *Mycobacterium bovis*, *Mycobacterium caprae*, *Mycobacterium microti* and *Mycobacterium pinnipedii* are later heterotypic synonyms of *Mycobacterium tuberculosis*. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2018;68(1):324–332. doi: 10.1099/ijsem.0.002507

5. Pavlik I., Ulmann I., Hubelova D., Weston R.T. Nontuberculous mycobacteria as sapronoses: A review. *Microorganisms*. 2022;10(7):1345. doi: 10.3390/microorganisms10071345
6. Shah J.A., Lindestam Arlehamn C.S., Horne D.J., Sette A., Hawn T.R. Nontuberculous mycobacteria and heterologous immunity to tuberculosis. *J. Infect. Dis.* 2019;220(7):1091–1098. doi: 10.1093/infdis/jiz285
7. Munjal S., Munjal S., Gao J., Venketaraman V. Exploring potential COPD immunosuppression pathways causing increased susceptibility for MAC infections among COPD patients. *Clin. Pract.* 2021;11(3):619–630. doi: 10.3390/clinpract11030077
8. Mortaz E., Moloudizargari M., Varahram M., Movassaghi M., Garssen J., Kazempour Dizagie M., Mirsaedi M., Adcock I.M. What immunological defects predispose to non-tuberculosis mycobacterial infections? *Iran J. Allergy Asthma Immunol.* 2018;17(2):100–109.
9. Honda J.R., Viridi R., Chan E.D. Global environmental nontuberculous mycobacteria and their contemporaneous man-made and natural niches. *Front. Microbiol.* 2018;9:2029. doi: 10.3389/fmicb.2018.02029
10. Hamada S., Ito Y., Hirai T., Murase K., Tsuji T., Fujita K., Mio T., Maekawa K., Fujii F., Ono S., ... Mishima M. Impact of industrial structure and soil exposure on the regional variations in pulmonary nontuberculous mycobacterial disease prevalence. *Int. J. Mycobacteriol.* 2016;5(2):170–176. doi: 10.1016/j.ijmyco.2016.02.006
11. Johnson T.M., Byrd T.F., Drummond W.K., Childs-Kean L.M., Mahoney M.V., Pearson J.C., Rivera C.G. Contemporary pharmacotherapies for nontuberculosis mycobacterial infections: a narrative review. *Infect. Dis. Ther.* 2023;12(2):343–365. doi: 10.1007/s40121-022-00750-5
12. Wi Y.M. Treatment of extrapulmonary nontuberculous mycobacterial diseases. *Infect. Chemother.* 2019;51(3):245–255. doi: 10.3947/ic.2019.51.3.245
13. Bento C.M., Gomes M.S., Silva T. Looking beyond typical treatments for atypical mycobacteria. *Antibiotics (Basel)*. 2020;9(1):18. doi: 10.3390/antibiotics9010018
14. Koh W.J. Nontuberculous mycobacteria – overview. *Microbiol. Spectr.* 2017;5(1). doi: 10.1128/microbiolspec.TNMI7-0024-2016
15. Зими́на В.Н., Дегтярева С.Ю., Белобородова Е.Н., Кулабухова Е.И., Русакова Л.И., Фесенко О.В. Микобактериозы: современное состояние проблемы. *Клин. микробиол. и антимикроб. химиотерапия*. 2017;19(4):276–282.
Zimina V.N., Degtyareva S.Yu., Beloborodova E.N., Kulabukhova E.I., Rusakova L.I., Fesenko O.V. A current state of mycobacterioses. *Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya khimioterapiya = Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy*. 2017;19 (4):276–282. [In Russian].
16. Prevots D.R., Loddenkemper R., Sotgiu G., Migliori G.B. Nontuberculous mycobacterial pulmonary disease: an increasing burden with substantial costs. *Eur. Respir. J.* 2017;49(4):1700374. doi: 10.1183/13993003.00374-2017
17. Петров И.В., Амирова Т.Х., Петрова Л.В., Петрова Ф.С., Севастьянова Э.В., Валиев Р.И. Микробиологические и эпидемиологические особенности микобактериозов. *Эпидемиол. и вакцинопрофилактик.* 2020;19(3):89–94. doi: 10.31631/2073-3046-2020-19-3-89-94
18. Delghandi M.R., El-Matbouli M., Menanteau-Ledouble S. Mycobacteriosis and infections with non-tuberculous mycobacteria in aquatic organisms: A review. *Microorganisms*. 2020;8(9):368. doi: 10.3390/microorganisms8091368
19. Forbes B.A., Hall G.S., Miller M.B., Novak S.M., Rowlinson M.C., Salfinger M., Somoskövi A., Warshauer D.M., Wilson M.L. Practical guidance for clinical microbiology laboratories: mycobacteria. *Clin. Microbiol. Rev.* 2018;31(2):e00038-17. doi: 10.1128/CMR.00038-17
20. Fedrizzi T., Meehan C.J., Grottola A., Giacobazzi E., Serpini G.F., Tagliazucchi S., Fabio A., Bettua C., Bertorelli R., de Sanctis V., ... Segata N. Genomic characterization of nontuberculous mycobacteria. *Sci. Rep.* 2017;7:45258. doi: 10.1038/srep45258
21. Forbes B.A. Mycobacterial taxonomy. *J. Clin. Microbiol.* 2017;55(2):380–383. doi: 10.1128/JCM.01287-16
22. Pfyffer G.E. Mycobacterium: general characteristics, laboratory detection, and staining procedures. In: *Manual of Clinical Microbiology*. 11th Ed. ASM Press, 2015. P. 536–569. doi: 10.1128/9781555817381.ch30
23. Daffe M. The cell envelope of tubercle bacilli. *Tuberculosis (Edinb)*. 2015;95(S1):S155–S158. doi: 10.1016/j.tube.2015.02.024
24. Vilcheze C., Kremer L. Acid-fast positive and acid-fast negative Mycobacterium tuberculosis: The Koch paradox. *Microbiol. Spectr.* 2017;5(2). doi: 10.1128/microbiolspec.tbtb2-0003-2015
25. Смолянинов Ю.И., Волков Д.В., Ионина С.В., Брем А.К. Распространение и фенотипические свойства атипичных микобактерий, изолированных от свиней и объектов внешней среды. *Инноваци. и прод. безопас.* 2022;35(1):90–100. doi: 10.31677/2311-0651-2022-35-1-90-100
- Smolyaninov Yu.I., Volkov D.V., Ionina S.V., Brem A.K. Distribution and phenotypic properties of atypical mycobacteria isolated from pigs and environmental medium objects. *Innovatsii i prodovol'st-*

vennaya bezopasnost' = Innovation and Food Safety. 2022;35(1):90–100. [In Russian]. doi: 10.31677/2311-0651-2022-35-1-90-100

26. Tran T., Dawrset S.N., Norton G.J., Virdi R., Honda J.R. Brought to you courtesy of the red, white, and blue—pigments of nontuberculous mycobacteria. *AIMS Microbiol.* 2020;6(4):434. doi: 10.3934/microbiol.2020026

27. de Martino M., Lodi L., Galli L., Chiappini E. Immune response to *Mycobacterium tuberculosis*: a narrative review. *Front. Pediatr.* 2019;(7):350. doi: 10.3389/fped.2019.00350

28. Jagielski T., Minias A., Ingen J., van Rastogi N., Brzostek A., Zaczek A., Dziadek J. Methodological and clinical aspects of the molecular epidemiology of *Mycobacterium tuberculosis* and other mycobacteria. *Clin. Microbiol. Rev.* 2016;29(2):239–290. doi: 10.1128/CMR.00055-15

29. World Health Organization. 2014. Global tuberculosis report 2014 (WHO/HTM/TB/2014.08). Available at: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/137094/9789241564809_eng.pdf

30. Sharma R., Singh P., McCoy R.C., Lenz S.M., Donovan K., Ochoa M.T., Estrada-Garcia I., Silva-Miranda M., Jurado-Santa Cruz F., Balagon M.F., ... Adams L.B. Isolation of *Mycobacterium lepromatosis* and development of molecular diagnostic assays to distinguish *Mycobacterium leprae* and *M. lepromatosis*. *Clin. Inf. Dis.* 2020;71(8):e262–e269. doi: 10.1093/cid/ciz1121

31. Sotiriou M.C., Stryjewska B.M., Hill C. Case report: two cases of leprosy in siblings caused by *Mycobacterium lepromatosis* and review of the literature. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2016;95(3):522. doi: 10.4269/ajtmh.16-0076

32. Scollard D.M. Infection with *Mycobacterium lepromatosis*. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2016;95(3):500–501. doi: 10.4269/ajtmh.16-0473

33. Gurung P., Gomes C.M., Vernal S., Leeflang M.M.G. Diagnostic accuracy of tests for leprosy: a systematic review and meta-analysis. *Clin. Microbiol. Infect.* 2019;25(11):1315–1327. doi: 10.1016/j.cmi.2019.05.020

34. van Ingen J. Diagnosis of nontuberculous mycobacterial infections. Seminars in respiratory and critical care medicine. *Semin. Respir. Crit. Care Med.* 2013;34(1):103–109. doi: 10.1055/s-0033-1333569

35. Turenne C.Y. Nontuberculous mycobacteria: insights on taxonomy and evolution. *Infect. Genet. Evol.* 2019;72:159–168. doi: 10.1016/j.meegid.2019.01.017

36. Davidovich N., Morick D., Carella F. Mycobacteriosis in aquatic invertebrates: A review of its emergence. *Microorganisms.* 2020;8(8):1249. doi: 10.3390/microorganisms8081249

37. Carella F., Aceto S., Pollaro F., Miccio A., Iaria C., Carrasco P.P., Prado P., de Vico G. A mycobacterial disease is associated with the silent mass mortality of the pen shell *Pinna nobilis* along the Tyrrhenian coast-

line of Italy. *Sci. Rep.* 2019;9(1):2725. doi: 10.1038/s41598-018-37217-y

38. Davidovich N., Pretto T., Blum S.E., Baidar Z., Grossman R., Kaidar-Shwartz H., Dveyrin Z., Rorman E. *Mycobacterium gordonae* infecting redclaw crayfish *Cherax quadricarinatus*. *Dis. Aquat. Organ.* 2019;135(2):169–174. doi: 10.3354/dao03392

39. Esteban J., Garcia-Coca M. *Mycobacterium* Biofilms. *Front. Microbiol.* 2018;(8):2651. doi: 10.3389/fmicb.2017.02651

40. Ichijo T., Izumi Y., Nakamoto S., Yamaguchi N., Nasu M. Distribution and respiratory activity of mycobacteria in household water system of healthy volunteers in Japan. *PLoS One.* 2014;9(10):e110554. doi: 10.1371/journal.pone.0110554

41. Tortoli E. Microbiological features and clinical relevance of new species of the genus *Mycobacterium*. *Clin. Microbiol. Rev.* 2014;27(4):727–752. doi: 10.1128/CMR.00035-14

42. Севастьянова Э.В., Ларионова Е.Е., Андриевская И.Ю. Выявление микобактерий методом микроскопии препаратов, окрашенных по Цилю-Нильсену. *Вестн. ЦНИИТ.* 2019;(1):100–108. doi: 10.7868/S2587667819010114

Sevastyanova E.V., Larionova E.E., Andrievskaya I.Yu. Microscopic detection of mycobacteria by Ziehl-Neelsen staining technique. *Vestnik Tsentral'nogo nauchno-issledovatel'skogo instituta tuberkuleza = CTRI Bulletin.* 2019;(1):100–108. [In Russian]. doi: 10.7868/S2587667819010114

43. Caulfield A.J., Wengenack N.L. Diagnosis of active tuberculosis disease: From microscopy to molecular techniques. *J. Clin. Tuberc. Other Mycobact. Dis.* 2016;(4):33–43. doi: 10.1016/j.jctube.2016.05.005

44. Singhal R., Myneedu V.P. Microscopy as a diagnostic tool in pulmonary tuberculosis. *Int. J. Mycobacteriol.* 2015;4(1):1–6. doi: 10.1016/j.ijmyco.2014.12.006

45. Ковальчук А.В., Еременко Е.П., Кузнецова А.Н., Рогожкин П.В., Инькова Е.П. Методы диагностики лекарственной устойчивости микобактерий туберкулеза. *Мед. сестра.* 2019;21(8):7–9. doi: 10.29296/25879979-2019-08-02

Kovalchuk A.V., Eremenko E.P., Kuznetsova A.N., Rogozhkin P.V., Inkova E.P. Methods for diagnosing of drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. *Meditinskaya sestra = The Nurse.* 2019;21(8):7–9. [In Russian]. doi: 10.29296/25879979-2019-08-02

46. Родионова Ю.Д., Гусякова О.А., Лямин А.В., Бородулина Е.А., Козлов А.В. Оценка влияния условий хранения мокроты на витальные свойства микобактерий туберкулеза. *Туберкулез и болезни легких.* 2017;95(1):42–46. doi: 10.21292/2075-1230-2017-95-1-42-46

Rodionova Yu.D., Gussyakova O.A., Lyamin A.V., Borodulina E.A., Kozlov A.V. Evaluation of the influence of sputum storage conditions on the vital properties of *Mycobacterium tuberculosis*. *Tuberkulez i*

- bolezni legkikh = Tuberculosis and Lung Diseases. 2017;95(1):42–46. [In Russian]. doi: 10.21292/2075-1230-2017-95-1-42-46
47. Павлова И.Б., Ленченко Е.М., Антонова А.Н. Изучение морфологии популяции микобактерий методами оптической и электронной микроскопии. *Рос. ж. «Пробл. вет. сан., гигиены и экол.»*. 2017;(4):76–82.
- Pavlova I.B., Lenchenko E.M., Antonova A.N. Study of morphology of microbacterial population by methods of optical and electronic microscopy. *Rossiyskiy zhurnal «Problemy veterinarnoi sanitarii, gigieny i ekologii» = Russian Journal «Problems on Veterinary Sanitation, Hygiene and Ecology»*. 2017;(4):76–82. [In Russian].
48. Нуратинов Р.А. Экологические условия существования популяций микобактерий. *Юг Рос.: экол., развитие*. 2014;9(2):18–30.
- Nuratinov R.A. Ecological conditions for the existence mycobacteria populations. *Yug Rossii: ekologiya, razvitiye = South of Russia: Ecology, Development*. 2014;9(2):18–30. [In Russian].
49. Ларионова Е.Е., Андриевская И.Ю., Андреевская С.Н., Смирнова Т.Г., Севастьянова Э.В. Культуральный метод исследования микобактерий. Плотные питательные среды. *Вестн. ЦНИИТ*. 2020;(3):75–86. doi: 10.7868/S2587667820030103
- Larionova E.E., Andrievskaya I.Yu., Andreevskaya S.N., Smirnova T.G., Sevastyanova E.V. The culture method for mycobacteria studies. Solid growth media. *Vestnik Tsentral'nogo nauchno-issledovatel'skogo instituta tuberkuleza = CTRI Bulletin*. 2020;(3):75–86. [In Russian]. doi: 10.7868/S2587667820030103
50. Chang E.W., Page A.L., Bonnet M. Light-emitting diode fluorescence microscopy for tuberculosis diagnosis: a meta-analysis. *Eur. Resp. J.* 2016;47(3):929–937. doi: 10.1183/13993003.00978-2015
51. Usmonov I., Shukurov U. Features of the clinical course, the state of diagnosis and treatment of hiv-associated pulmonary tuberculosis in modern conditions literature review. *An. of the Roman. Soc. for Cell Biol.* 2021;25(4):1809–1828.
52. Rageade F., Picot N., Blanc-Michaud A., Chatellier S., Mirande C., Fortin E., van Belkum A. Performance of solid and liquid culture media for the detection of Mycobacterium tuberculosis in clinical materials: Meta-analysis of recent studies. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 2014;33(6):867–870. doi: 10.1007/s10096-014-2105-z
53. Nogueira L.B., Garcia C.N., Costa M.S.C.D., Moraes M.B., Kurizky P.S., Gomes C.M. Non-tuberculous cutaneous mycobacterioses. *An. Bras. Dermatol.* 2021;96(5):527–538. doi: 10.1016/j.abd.2021.04.005
54. Петров И.В., Амирова Т.Х., Петрова Л.В., Петрова Ф.С. Микобактериоз как инфекция, связанная с оказанием медицинской помощи (обзор эпидемиологических исследований). *Здоровье населения и среда обитания*. 2020;(7):37–41. doi: 10.35627/2219-5238/2020-328-7-37-41
- Petrov I.V., Amirova T.Kh., Petrova L.V., Petrova F.S. Mycobacteriosis as a healthcare-associated infection: a review of epidemiological studies. *Zdorov'ye naseleniya i sreda obitaniya = Public Health and Life Environment*. 2020;(7):37–41. [In Russian]. doi: 10.35627/2219-5238/2020-328-7-37-41
55. Atlas R.M., Snyder J.W. Handbook of media for clinical and public health microbiology. Boca Raton: CRC Press, 2013; 561 p. doi: 10.1201/b15973
56. Preece C.L., Wichelhaus T.A., Perry A., Jones A.L., Cummings S.P., Perry J.D., Hogardt M. Evaluation of various culture media for detection of rapidly growing mycobacteria from patients with cystic fibrosis. *J. Clin. Microbiol.* 2016;54(7):1797–1803. doi: 10.1128/JCM.00471-16
57. Somoskovi A., Salfinger M. Nontuberculous mycobacteria in respiratory infections: advances in diagnosis and identification. *Clin. Lab. Med.* 2014;34(2):271–295. doi: 10.1016/j.clm.2014.03.001
58. Свириденко Н.А., Боганец Н.С., Аппельганц Л.Т. Возможности повышения эффективности культурального метода для выделения микобактерий туберкулеза. *Достиж. науки и техн. АПК*. 2015;29(4):51–52.
- Sviridenko N.A., Boganets N.S., Appelgants L.T. Possibilities to improve the efficiency of cultural methods for isolation of Mycobacterium tuberculosis. *Dostizheniya nauki i tekhniki APK = Achievements of Science and Technology of AIC*. 2015;29(4):51–52. [In Russian].
59. Севастьянова Э.В., Ларионова Е.Е., Смирнова Т.Г., Андриевская И.Ю., Андреевская С.Н., Черноусова Л.Н. Оценка результатов выявления микобактерий, полученных различными методами исследования. *Мед. альянс*. 2018;(3):25–30.
- Sevastyanova E.V., Larionova E.E., Smirnova T.G., Andrievskaya I.Yu., Andreevskaya S.N., Chernousova L.N. Evaluation of the results of mycobacterium detection, obtained by different studies methods. *Meditsinskiy al'yans = Medical Alliance*. 2018;(3):25–30. [In Russian].
60. Яшин Я.И., Яшин А.Я. Высокоскоростная ВЭЖХ (краткий обзор). *Сорбц. и хроматогр. процессы*. 2022;22(1):6–11. doi: 10.17308/sorpchrom.2022.22/9015
- Yashin Ya.I., Yashin A.Ya. High-speed HPLC (brief review). *Sorbtsionnyye i khromatograficheskiye protsessy = Sorption and Chromatographic Processes*. 2022;22(1):6–11. [In Russian]. doi: 10.17308/sorpchrom.2022.22/9015
61. Tortoli E. Phylogeny of the genus Mycobacterium: many doubts, few certainties. *Infect. Genet. Evol.* 2012;12(4):827–831. doi: 10.1016/j.meegid.2011.05.025
62. Ryu Y.J. Diagnosis of pulmonary tuberculosis: recent advances and diagnostic algorithms. *Tuberc.*

Respir. Dis. (Seoul). 2015;78(2):64–71. doi: 10.4046/trd.2015.78.2.64

63. Добин В.Л. Представления об эволюции туберкулезных микобактерий. *Туберкулез и болезни легких*. 2018;96(8):59–65. doi: 10.21292/2075-1230-2018-96-8-59-65

Dobin V.L. Understanding of *Mycobacterium tuberculosis* evolution. *Tuberkulez i bolezni legkikh = Tuberculosis and Lung Diseases*. 2018;96(8):59–65. [In Russian]. doi: 10.21292/2075-1230-2018-96-8-59-65

64. Bolaños C.A.D., Paula C.L., Guerra S.T., Franco M.M.J., Ribeiro M.G. Diagnosis of mycobacteria in bovine milk: an overview. *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo*. 2017;(59):e40. doi: 10.1590/S1678-9946201759040

65. Cudahy P., Shenoi S.V. Diagnostics for pulmonary tuberculosis. *Postgrad. Med. J.* 2016;92(1086):187–193. doi: 10.1136/postgradmedj-2015-133278

66. Weyer K., Mirzayev F., Migliori G.B., van Gemert W., D'Ambrosio L., Zignol M., Floyd K., Centis R., Cirillo D.M., ... Raviglione M. Rapid molecular TB diagnosis: evidence, policymaking and global implementation of Xpert MTB/RIF. *Eur. Respir. J.* 2013;42(1):252–271. doi: 10.1183/09031936.00157212

67. Carbonnelle E., Mesquita C., Bille E., Day N., Dauphin B., Beretti J.L., Ferroni A., Gutmann L., Nassif X. MALDI-TOF mass spectrometry tools for bacterial identification in clinical microbiology laboratory.

Clin. Biochem. 2011;44(1):104–109. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2010.06.017

68. Neuschlova M., Vladarova M., Kompanikova J., Sadlonova V., Novakova E. Identification of *Mycobacterium* species by MALDI-TOF mass spectrometry. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2017;10(1):37–42. doi: 10.1007/5584_2017_26

69. Rychert J. Benefits and limitations of MALDI-TOF mass spectrometry for the identification of microorganisms. *J. Inf. Epidem.* 2019;2(4):1–5. doi: 10.29245/2689-9981/2019/4.1142

70. Tan K.E., Ellis B.C., Lee R., Stamper P.D., Zhang S.X., Carroll K.C. Prospective evaluation of a matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry system in a hospital clinical microbiology laboratory for identification of bacteria and yeasts: A bench-by-bench study for assessing the impact on time to identification and cost-effectiveness. *J. Clin. Microbiol.* 2012;50(10):3301–3308. doi: 10.1128/JCM.01405-12

71. Лямин А.В., Исмагуллин Д.Д. Микобактериозы: особенности эпидемиологии и лабораторной диагностики. *Асп. вестн. Поволжья*. 2016; (5-6):204–208.

Lyamin A.V., Ismatullin D.D. Mycobacterioses: features of epidemiology and laboratory diagnostics. *Aspirantskiy vestnik Povolzh'ya = Postgraduate Bulletin of the Volga Region*. 2016;(5-6):204–208. [In Russian].

Сведения об авторах

Луценко Анна Викторовна, к.б.н., ORCID: 0000-0001-8423-3351, e-mail: ahrapova@yandex.ru

Ясенявская Анна Леонидовна, к.м.н., ORCID: 0000-0003-2998-2864, e-mail: yasen_9@mail.ru

Самотруева Марина Александровна, д.м.н., проф., ORCID: 0000-0001-5336-4455, e-mail: ms1506@mail.ru

Information about the authors:

Anna V. Lutsenko, candidate of biological sciences, ORCID: 0000-0001-8423-3351, e-mail: ahrapova@yandex.ru

Anna L. Yasyenyavskaya, candidate of medical sciences, ORCID: 0000-0003-2998-2864, e-mail: yasen_9@mail.ru

Marina A. Samotrueva, doctor of medical sciences, professor, ORCID: 0000-0001-5336-4455, e-mail: ms1506@mail.ru

Поступила в редакцию 14.06.2023

После доработки 19.07.2023

Принята к публикации 02.08.2023

Received 14.06.2023

Revision received 19.07.2023

Accepted 02.08.2023