

ИССЛЕДОВАНИЕ МИКОБАКТЕРИЦИДНОЙ АКТИВНОСТИ ИМПУЛЬСНОГО УЛЬТРАФИОЛЕТОВОГО ИЗЛУЧЕНИЯ СПЛОШНОГО СПЕКТРА

В. И. ЛИТВИНОВ¹, С. Г. САФОНОВА¹, Г. Е. ФРЕЙМАН¹, Е. П. СЕЛЬКОВА², Т. А. ГРЕНКОВА², М. П. ГУСАРОВА²

¹ГБУЗ «Московский научный центр борьбы с туберкулезом ДЗМ», Москва, Россия

²ФБУН «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г. Н. Габричевского Роспотребнадзора», Москва, Россия

Представлены результаты экспериментальных исследований микобактерицидной активности импульсного ультрафиолетового излучения сплошного спектра в отношении лабораторного штамма *Mycobacterium terrae* и клинических штаммов *Mycobacterium tuberculosis*, обладающих множественной и широкой лекарственной устойчивостью. Источником ультрафиолетового излучения служила импульсная ксеноновая лампа передвижной установки «Альфа-01» для обеззараживания воздуха. Экспериментально показано, что импульсное УФ-излучение сплошного спектра обладает высокой активностью в отношении всех исследованных тест-штаммов и не зависит от расстояния до облучаемой поверхности (до 4 м). Эффективность обеззараживания загрязненных поверхностей достигала 100%. Воздействие излучением импульсных ксеноновых ламп на загрязненные объекты приводит к многочисленным молекулярно-генетическим изменениям макромолекулы ДНК в клетках с полной потерей лекарственной устойчивости к рифампицину и частично к изониазиду.

Ключевые слова: *Mycobacterium terrae*, клинические штаммы *Mycobacterium tuberculosis*, обладающие множественной и широкой лекарственной устойчивостью, импульсное УФ-излучение сплошного спектра, эффективность инактивации

Для цитирования: Литвинов В. И., Сафонова С. Г., Фрейман Г. Е., Селькова Е. П., Гренкова Т. А., Гусарова М. П. Исследование микобактерицидной активности импульсного ультрафиолетового излучения сплошного спектра // Туберкулез и болезни лёгких. – 2018. – Т. 96, № 4. – С. 39-46. DOI: 10.21292/2075-1230-2018-96-4-39-46

RESEARCH OF MYCOBACTERICIDAL ACTIVITY OF CONTINUOUS SPECTRUM PULSED ULTRAVIOLET LIGHT

V. I. LITVINOV¹, S. G. SAFONOVA¹, G. E. FREYMAN¹, E. P. SELKOVA², T. A. GRENKOVA², M. P. GUSAROVA²

¹ State Budgetary Healthcare Institution “Moscow Research Center of Tuberculosis Control of the Moscow Health Department”, Moscow, Russia

² G. N. Gabrichevsky Moscow Research Institute of Epidemiology and Microbiology of the Federal Service on Customers' Rights Protection and Human Well-Being Surveillance, Moscow, Russia

The article presents the experimental studies results of continuous spectrum pulsed UV light mycobactericidal activity against the laboratory strain of *Mycobacterium terrae* and clinical strains of *Mycobacterium tuberculosis* with multiple and extensive drug resistance. A pulsed xenon lamp of a mobile “Alfa-01” unit for air decontamination was used as ultraviolet light source. The experiments showed high activity of pulsed UV light against all studied strains, which does not depend on the distance to the treated surface (up to 4 m). The efficiency of contaminated surfaces disinfection reached 100%. Exposing contaminated objects to pulsed xenon UV lamps' light leads to multiple molecular genetic changes in DNA macromolecules with complete loss of drug resistance to rifampicin and partial loss of drug resistance to isoniazid.

Key words: *Mycobacterium terrae*, clinical strains of *Mycobacterium tuberculosis*, multiple and extensive drug resistance (MDR and XDR), continuous spectrum pulsed UV light, inactivation efficiency

For citations: Litvinov V.I., Safonova S.G., Freyman G.E., Selkova E.P., Grenkova T.A., Gusarova M.P. Research of mycobactericidal activity of continuous spectrum pulsed ultraviolet light. *Tuberculosis and Lung Diseases*, 2018, Vol. 96, no. 4, P. 39-46. (In Russ.) DOI: 10.21292/2075-1230-2018-96-4-39-46

Комплекс дезинфекционных мероприятий (ДМ) в медицинских организациях является одним из основных методов профилактики инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи.

Практически для всех методов дезинфекции разработаны режимы, позволяющие с различной степенью эффективности обеззараживать воздух и поверхности объектов больничной среды от всех видов патогенной микрофлоры (бактерицидный, спороцидный, вирулицидный и фунгицидный) [8, 11].

Более детального рассмотрения требует такой вид бактерицидного режима, как туберкулоцидный. Применение средств и оборудования для дезинфекции с использованием данного режима является одним из основных методов профилактики туберкулеза. К нему предъявляются повышенные требования для исключения заноса микобактерий туберкулеза (МБТ) в помещения, их дальнейшей циркуляции внутри помещений, выноса за пределы помещений, а также при работе во внебольничных очагах туберкулеза [9]. Необходимость бактери-

Авторы выражают благодарность главному научному сотруднику отдела проблем лабораторной диагностики туберкулеза и патоморфологии ГБУЗ «Московский научно-практический центр борьбы с туберкулезом ДЗМ» профессору, д.м.н. Дорожкой Инне Рафаиловне и другим сотрудникам Центра за активное участие в подготовке и проведении исследований.

цидного режима в отношении МБТ в инструкциях по эксплуатации/руководствах для средств дезинфекции обусловлена не только широким его применением в противотуберкулезных учреждениях, но и в медицинских учреждениях общего профиля в связи с нередкими случаями заноса в них МБТ при госпитализации больных туберкулезом с бактериовыделением [9].

МБТ, включая их госпитальные штаммы, обладающие множественной и широкой устойчивостью к антимикробным препаратам, имеют более высокий ранг устойчивости (D) к средствам дезинфекции по сравнению с вегетативными формами бактерий (B) [11]. Возросла доля эпидемического распространения на большей части территории РФ штаммов *M. tuberculosis* генетического семейства Beijing, отличающихся высокой приспособляемостью к выживанию и высокой ассоциацией с лекарственной устойчивостью [10]. Большинство химических дезинфектантов, применяемых по туберкулоцидному режиму, требуют применения их высоких концентраций и увеличенного времени экспозиции, что сопровождается высокой токсикологической опасностью для пациентов, персонала и приводит к высокой трудоемкости и длительности проведения ДМ [8].

Препараты на основе четвертичных аммониевых соединений (наиболее применяемые в медицинских организациях), производных солей гуанидина не обладают выраженным туберкулоцидным эффектом [8].

Кроме того, на снижение эффективности метода протирки с применением растворов дезинфектантов значительно влияет так называемый человеческий фактор.

Множество путей и факторов передачи туберкулезной инфекции (аэрогенный – аэрозольный, воздушно-пылевой, алиментарный и контактный) требует обеззараживания как воздуха, так и большого количества поверхностей объектов больничной среды.

Это требует применения для всех методов дезинфекции туберкулоцидных режимов, отвечающих следующим критериям:

- подтверждение эффективности при проведении лабораторных испытаний в аккредитованных центрах не только с использованием утвержденных музейных тест-микроорганизмов, но и клинических штаммов МБТ, включая штаммы, обладающие множественной и широкой лекарственной устойчивостью;
- обеспечение обеззараживания воздуха помещений с эффективностью не менее 99,9% и поверхностей объектов больничной среды с эффективностью не менее 99,99%;
- низкая трудоемкость и короткая длительность обработки помещений;
- минимизация негативного влияния человеческого фактора.

Наиболее эффективным и отвечающим вышеприведенным критериям методом обеззараживания помещений является физический метод на основе ультрафиолетового (УФ) облучения. Для повышения эффективности и сокращения времени обработки помещений в мировой практике применяют мощные (более 1,5 кВт) УФ-установки открытого типа [15].

В настоящее время в мировой медицинской практике активно внедряется принципиально новая дезинфекционная технология с использованием облучения помещений высокоинтенсивными потоками УФ-излучения сплошного спектра (200-800 нм), генерируемого импульсными ксеноновыми лампами [2, 4, 14], которая принципиально отличается по механизмам действия на живую материю от широко распространенного метода облучения помещений монохромным УФ-излучением ртутных или амальгамных ламп низкого давления. Многолетний опыт применения импульсных УФ-установок показал высокую эффективность обеззараживания воздуха и поверхностей помещений за короткое время обработки [12, 13, 16].

Цель исследования: изучение микобактерицидной активности импульсного УФ-излучения сплошного спектра в отношении *Mycobacterium terrae*.

Материалы и методы

На базе аккредитованного испытательного лабораторного центра ФБУН «Московский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Н. Г. Габричевского» Роспотребнадзора проведено экспериментальное исследование эффективности импульсного УФ-излучения сплошного спектра в отношении штаммов микобактерий *Mycobacterium terrae* DSM 43227 ATCC 15755.

В качестве тест-микроорганизма использовали штамм *Mycobacterium terrae* DSM 43227 ATCC 15755, выпуск 06.2011 г., в виде суспензии, приготовленной по оптическому стандарту (109 КОЕ/мл), которым искусственно контаминировали тест-поверхности (пластиковые чашки Петри).

Суточную взвесь культуры *Mycobacterium terrae* готовили по отраслевым стандартным образцам мутности 1×10^9 на физиологическом растворе. Проводили контроль жизнеспособности культуры (не менее трех повторностей). Для получения взвеси 1×10^7 проводили два серийных разведения с контролем жизнеспособности культуры в трех повторностях [5].

При помощи микропипетки наносили 100 мкл микробной смеси на дно стерильной чашки Петри, растирали шпателем, подсушивали и располагали вертикально от лампы на расстоянии 2 и 4 м. Проводили облучение с временными экспозициями 2, 4, 8, 16 и 30 мин, затем добавляли 9,9 мл стерильного физиологического раствора, перемешивали круговыми движениями и делали 3 серийных разведения.

Из каждого разведения делали по три высева на косяки со средой Левенштейна – Йенсена. Через 21 день инкубации при 37°C проводили подсчет выживших клеток (опыт) [5]. Контроль проводили аналогично опыту, но без облучения.

Исследования выполняли в трех повторностях для каждого временного режима и расстояния от источника облучения до тест-поверхности.

В качестве источника импульсного УФ-излучения сплошного спектра использовалась серийно-выпускаемая передвижная «Установка импульсная ксеноновая УФ-бактерицидная для экстренной дезинфекции воздуха помещений 1 и 2 категории при отсутствии людей УИК6-01-«Альфа» (далее – «Альфа-01»). Установка «Альфа-01» генерировала световые вспышки с частотой 2,5 Гц. Средняя электрическая мощность импульсной ксеноновой лампы составила 1 кВт.

Микобактерицидную эффективность импульсного УФ-излучения (в %) в отношении *Mycobacterium terrae* определяли как отношение разности среднего значения числа микобактерий в контрольных чашках Петри и чашках Петри, подвергнутых облучению, к среднему значению числа микобактерий в контрольных чашках, умноженное на 100 [3].

Исследование микобактерицидной активности импульсного УФ-излучения сплошного спектра в отношении клинических штаммов Mycobacterium tuberculosis, обладающих множественной лекарственной устойчивостью

Исследования проводили на базе Московского научно-практического центра по борьбе с туберкулезом ДЗМ. В экспериментах использовали десять свежевыделенных от больных туберкулезом штаммов *M. tuberculosis*, обладающих множественной лекарственной устойчивостью (одновременной устойчивостью к изониазиду и рифампицину). Лекарственная чувствительность тест-штаммов заранее определена с помощью метода абсолютных концентраций согласно приказу Минздрава РФ № 109 от 21 марта 2003 г. [7]. Исследуемые штаммы характеризуются высоким полиморфизмом (наличием колбообразных и ветвящихся форм), накопленных хромосомных мутаций и, как следствие, обладают высокой лекарственной устойчивостью и большей устойчивостью к внешним факторам среды по сравнению с чувствительными штаммами [1, 12]. Кроме того, исследования активности монохромного УФ-излучения ртутных ламп в отношении таких штаммов отсутствуют.

Учитывая высокую патогенность штаммов, исследование проводили в ламинарном шкафу II степени биологической безопасности с помощью импульсной ксеноновой лампы с расстояния 28 см от поверхности чашки Петри с облучаемой микобактериальной суспензией в течение 5 мин. Стандартизацию дозы микобактерий производили по стандарту № 5 ГИСК = 500 000 000 микробных тел/мл стерильной дистиллированной воды с по-

следующими серийными разведениями до получения требуемой микробной нагрузки (250 КОЕ/мл). Полученную суспензию каждого испытуемого штамма *M. tuberculosis* делили на 2 порции. Одна являлась контрольной и переносилась в пробирку с жидкой полусинтетической средой Школьниковой с 10%-ной инактивированной сывороткой крупного рогатого скота и во избежание воздействия импульсного УФ-излучения сразу же переносили в другое помещение (контроль). Вторая порция выливалась в стерильную чашку Петри и подвергалась воздействию импульсного УФ-излучения. По окончании опыта облученную суспензию переносили в соседнее помещение и немедленно заливали на пробирку с жидкой полусинтетической средой Школьниковой с 10%-ной инактивированной сывороткой крупного рогатого скота (опыт). Каждый исследуемый штамм облучался отдельно в пяти повторениях. По завершении опытов облученные и контрольные пробирки помещали в термокамеру для инкубации. Учет результатов проводили микроскопически и макроскопически по истечении оптимальных сроков культивирования и при появлении видимого *ad oculus* роста микобактерий в контрольных и опытных пробирках.

Кроме того, для уточнения механизмов инактивации проведены исследования молекулярно-генетических изменений ДНК в клетках тех же 10 штаммов, подвергнутых импульсному УФ-облучению. После импульсного УФ-облучения из клеток МБТ выделяли ДНК. Определение нарушений в ДНК МБТ проводили с помощью биологических микрочипов «ТБ-БИОЧИП (МЛУ)», разработанных в ИМБ им. В. А. Энгельгардта РАН. Результат регистрировали с помощью портативного анализатора биочипов «БИОЧИП-ИМБ» с соответствующим программным обеспечением.

Изучали наличие или отсутствие мутаций, определяющих резистентность к рифампицину в гене *RpoB* (507-533 кодоны), ответственном за синтез β -субъединицы РНК-полимеразы, и генов, ответственных за резистентность к изониазиду: *katG* (с 315 по 335 кодоны), отвечающего за синтез фермента каталаза-пероксидаза; гена *inhA* (промоторная и структурная области), отвечающего за метаболизм фермента енол-АСР-редуктаза, *ahpC* (промоторная область), отвечающего за метаболизм фермента алкил-гидропероксид-редуктаза.

Исследования микобактерицидной активности импульсного УФ-излучения сплошного спектра в отношении микобактерий туберкулеза, обладающих широкой лекарственной устойчивостью (ШЛУМБТ) также проводили на базе Московского научно-практического центра по борьбе с туберкулезом ДЗМ. В опытах использовали контрольные тест-штаммы (*Mycobacterium terrae* (коллекция МНИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г. Н. Габричевского), *Mycobacterium tuberculosis* H₃₇RV), а также 10 клинических штаммов *Mycobacterium tuberculosis*, об-

ладающих широкой лекарственной устойчивостью (к изониазиду, рифампицину, аминогликозидам, этамбутолу, пипразинамиду, капреомицину, этионамиду и фторхинолонам). Лекарственная чувствительность тест-штаммов была заранее определена с помощью метода абсолютных концентраций согласно приказу Минздрава РФ № 109 от 21 марта 2003 г. [7]. Стандартизацию дозы микобактерий производили по стандарту № 5 ГИСК = 500 000 000 микробных тел/мл стерильной дистиллированной воды с последующими серийными разведениями до получения требуемой микробной нагрузки (250 КОЕ/мл). Полученные суспензии делили так же, как в исследовании с МЛУ-штаммами *M. tuberculosis*, на 2 порции (опыт и контроль). Микробная суспензия в контрольной группе (первая порция) заседалась без облучения. Вторая порция (опыт) облучалась импульсным УФ-излучением в ламинарном шкафу II степени биологической безопасности с расстояния 40 см от импульсной ксеноновой лампы при различных экспозициях (20 с, 1 мин, 3 мин) и в дальнейшем после облучения заседалась на жидкие и плотные среды. По завершении посевов опытные и контрольные пробирки и чашки Петри помещали в термальную камеру для инкубации и в автоматизированный прибор Bactec MGIT 960 для инкубации. Учет результатов проводили микроскопически и макроскопически по истечении максимальных сроков культивирования (аналогично исследованию с МЛУ-штаммами *M. tuberculosis*) и датам регистрации прибора Bactec MGIT 960. В случае роста микобактерий в опытной группе повторно проводили определение лекарственной чувствительности *M. tuberculosis*, выросших после облучения.

Микобактерицидную эффективность в отношении МЛУ- и ШЛУ-штаммов определяли по отсутствию (- отсутствие роста) или наличию роста (+ наличие роста) КОЕ МБ. Степень контаминации тест-объектов выражали следующим образом: + наличие роста МБ (1-20 КОЕ), ++ - умеренный рост МБ (21-100 КОЕ); +++ - обильный рост МБ (> 100 КОЕ).

Результаты исследования

Результаты воздействия импульсным УФ-излучением сплошного спектра на контаминированные *Mycobacterium terrae* тест-объекты в зависимости от расстояния и времени их облучения приведены на рис.

Полученные данные свидетельствуют об отсутствии влияния уровня исходной контаминации тест-объектов на эффективность их обеззараживания. При облучении тест-объектов с расстояния 2 м от лампы получены практически идентичные показатели эффективности обеззараживания вне зависимости от уровня исходной контаминации. Так, при времени облучения 2 мин при исходном уровне

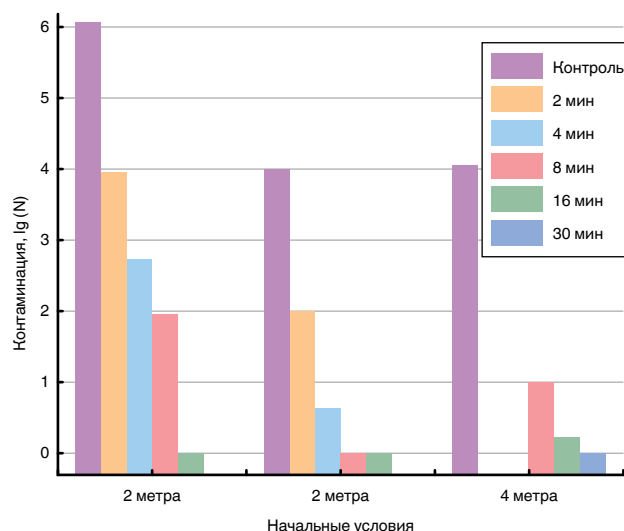


Рис. Снижение контаминации (N) тест-объектов в логарифмическом масштабе при воздействии импульсного УФ-излучения на расстоянии 2 и 4 м в отношении *Mycobacterium terrae*

Fig. Reduction of test objects contamination (N) on a logarithmic scale under pulsed UV light impact at 2- and 4-meters' distance for *Mycobacterium terrae*

разведения 10^9 КОЕ/мл эффективность составила 99,18%, при 10^7 КОЕ/мл – 98,9%. Аналогично при облучении тест-объектов с экспозицией 4 мин значения эффективностей обеззараживания составили 99,95 и 99,96%, для 8 мин – 99,991 и 99,99% соответственно. Это свидетельствует о возможности использования импульсных УФ-установок для обеззараживания поверхностей помещений в условиях их массивной контаминации (профилактическая дезинфекция по эпидемиологическим показаниям, очаговая дезинфекция).

При достижении эффективности обеззараживания 100% эксперименты показали, что такой уровень обеззараживания тест-объектов зависит от уровня исходной контаминации, которая для образцов с контаминацией 10^7 КОЕ/мл достигалась за 16 мин, а при уровне 10^9 КОЕ/мл – за 30 мин.

Очевидно, что в этом случае полученные результаты эффективности обеззараживания можно экстраполировать на более низкие уровни обсеменности поверхностей, которые актуальны для практического применения в противотуберкулезных организациях – 100-200 КОЕ/см² [5].

Полученные данные позволили оценить бактерицидную поверхностную дозу (D90) для импульсного УФ-излучения сплошного спектра в отношении микобактерий *Mycobacterium terrae*, необходимую для снижения контаминации поверхности в 10 раз, которая составила 30-32 Дж/м².

Результаты экспериментальных исследований эффективности обеззараживания тест-объектов, расположенных на расстояниях 2 и 4 м от лампы, при разном времени воздействия представлены в табл. 1. Полученные результаты показывают, что

Таблица 1. Уровень снижения контаминации тест-поверхностей *Mycobacterium terrae* под действием импульсного УФ-излучения сплошного спектра при различных расстояниях и времени воздействия
Table 1. Reduction of test objects contamination with *Mycobacterium terrae* under pulsed UV light impact at various distances and with various exposure times

Облучение импульсным УФ-излучением на расстоянии 2 м от лампы до тест-поверхности						
Плотность микробной взвеси 10 ⁷ КОЕ/мл						
разведение	кол-во посевного материала (КОЕ/мл)	плотность контаминации (КОЕ/мл), контроль	количество выживших клеток (КОЕ) после облучения при различном времени воздействия, опыт			
			2 мин	4 мин	8 мин	16 мин
10 ⁻³	10 000	ср. 1,0 × 10 ⁴	ср. 110	ср. 4,3	ср. 1,0	0
10 ⁻⁴	1 000	ср. 0,9 × 10 ³	ср. 0,3	0	0	0
10 ⁻⁵	100	ср. 110	0	0	0	0
Эффективность, %			98,9	99,96	99,99	100
Облучение импульсным УФ-излучением на расстоянии 4 метра от лампы до тест-поверхности						
Плотность микробной взвеси 10 ⁷ КОЕ/мл						
разведение	кол-во посевного материала (КОЕ/мл)	плотность контаминации (КОЕ/мл), контроль	количество выживших клеток (КОЕ) после облучения при различном времени воздействия, опыт			
			8 мин	16 мин	30 мин	
10 ⁻³	10 000	Ср. 1,06 × 10 ⁴	Ср. 9,3	Ср. 1,7	0	
10 ⁻⁴	1 000	Ср. 1,13 × 10 ³	Ср. 1,7	Ср. 0,3	0	
10 ⁻⁵	100	Ср. 113	0	0	0	
Эффективность, %			99,8	99,97	100	

эффективность 99,99% импульсного УФ-излучения сплошного спектра в отношении *Mycobacterium terrae* на расстоянии 2 м от излучателя достигается за 8 мин, 100%-ная эффективность – за 16 мин. Увеличение расстояния между источником излучения и контаминированными тест-поверхностями до 4 м приводит к увеличению времени облучения тест-микроорганизма при сохранении необходимой эффективности импульсного УФ-излучения сплошного спектра – эффективность 99,98% была достигнута за 16 мин воздействия, а 100% – за 30 мин.

Известно, что освещенность поверхности уменьшается обратно пропорционально квадрату расстояния от источника, что требует для обеспечения аналогичного уровня эффективности обеззараживания пропорционального увеличения времени облучения. В экспериментах же наблюдается увеличение экспозиции, пропорциональное расстоянию до облучаемого объекта (например, 100%-ная эффективность достигается за 30 мин, а не за 60 мин согласно расчету), что свидетельствует об увеличении доли отраженного света в общем потоке УФ-излучения на тест-поверхности. Следовательно, можно уверенно утверждать, что с увеличением расстояния активность импульсного УФ-излучения сплошного спектра сохраняется.

Исследования активности импульсного УФ-излучения сплошного спектра к штаммам *M. tuberculosis*, обладающих множественной лекарственной устойчивостью, показали 100%-ный туберкулоцидный эффект в отношении всех 10 свежeweделенных от больных штаммов (табл. 2).

Исследования молекулярно-генетических изменений ДНК в клетках тех же 10 штаммов, под-

Таблица 2. Результаты определения микобактерицидной активности импульсного УФ-излучения сплошного спектра в отношении 10 клинических штаммов *M. tuberculosis*, обладающих множественной лекарственной устойчивостью

Table 2. Evaluation of continuous spectrum pulsed UV light mycobactericidal activity against 10 clinical strains of *Mycobacterium tuberculosis* with multiple drug resistance

№№ испытанных культур	Рост <i>M. tuberculosis</i> после облучения импульсным УФ-излучением	
	опыт	контроль
1– 10	-	++

вергнутых импульсному УФ-облучению, показали (табл. 3), что в 50% случаев (№№ 3, 6, 7, 9, 10) после облучения клеток МБТ не обнаружены фрагменты макромолекул ДНК. В 40% случаев (№№ 1, 4, 5, 8) после облучения были потеряны фрагменты ДНК, с которых считывалась информация о наличии мутаций к рифампицину и частично к изониазиду.

Полученные результаты позволяют сделать вывод о глубоком фотохимическом окислении азотистых оснований и нуклеотидов макромолекулы ДНК.

Причем окисление, в отличие от монохромного излучения ртутных бактерицидных ламп, носит многоканальный, а не избирательный характер – повреждения (мутации) наблюдаются одновременно всех нуклеотидов, в том числе участков ДНК, ответственных за множественную лекарственную устойчивость.

Результаты исследования активности импульсного УФ-излучения сплошного спектра в отношении клинических ШЛУ-штаммов *Mycobacterium tuberculosis* представлены в табл. 4.

Таблица 3. Изменения в кодонах различных фрагментов генов ДНК МЛУ-МБТ

Table 3. Changes in various DNA fragments' codons of MDR *Mycobacterium tuberculosis*

№	Ген, ответственный за резистентность к рифампицину		Гены, ответственные за резистентность к изониазиду					
	RpoB		katG		inhA		oxyR – ahpC	
	Не обл.	Обл.	Не обл.	Обл.	Не обл.	Обл.	Не обл.	Обл.
1.	531 Leu	Нет	315Arg	315Arg	A8, G16	G16	Нет	Нет
2.	Нет	Нет	315Ser	315Ser	G16	G16	Нет	Нет
3.	516 Val	Нет	315Gly	Нет	G16	Нет	A10	Нет
4.	516 Val	Нет	315Arg	Нет	G8	G8	Нет	Нет
5.	531 Leu	Нет	315Thr	315Thr	Нет	Нет	Нет	Нет
6.	531 Leu	Нет	Нет	Нет	Нет	Нет	Нет	Нет
7.	526 Leu	Нет	315Thr	Нет	Нет	Нет	T10	Нет
8.	511 Pro	Нет	315Arg	315Arg	G16	Нет	Нет	Нет
9.	Нет	Нет	315Thr	Нет	Нет	Нет	Нет	Нет
10.	Нет	Нет	315Thr	Нет	Нет	Нет	Нет	Нет

Таблица 4. Активность импульсного УФ-излучения сплошного спектра в отношении тест-штаммов *Mycobacterium terrae*, *Mycobacterium tuberculosis* H₃₇Rv и клинических ШЛУ-штаммов *Mycobacterium tuberculosis*

Table 4. Continuous spectrum pulsed UV light mycobactericidal activity against test strains of *Mycobacterium terrae*, *Mycobacterium tuberculosis* H₃₇Rv and clinical XDR strains of *Mycobacterium tuberculosis*

Исследованные штаммы	Рост микобактерий после облучения					
	опыт			контроль		
	20 с	1 мин	3 мин	20 с	1 мин	3 мин
<i>Mycobacterium terrae</i> ATCC 15755	-	-	-	+++	+++	+++
<i>Mycobacterium tuberculosis</i> H ₃₇ Rv ATCC 25618	-	-	-	+++	+++	+++
Клинические штаммы №№ 3, 4, 5, 6, 7, 9, 10, 12	-	-	-	+++	+++	+++
Клинический штамм № 8	+++	+++	-	+++	+++	+++
Клинический штамм № 11	++	++	-	+++	+++	+++

Видно, что при облучении всех исследованных штаммов достигнут полный туберкулоцидный эффект при экспозиции облучения 3 мин. Для 10 штаммов из 12 100%-ная эффективность обеззараживания достигалась за 20 с работы установки. Наиболее устойчивым штаммом к импульсному УФ-излучению оказались клинические штаммы №№ 8, 11.

Выводы

- Импульсное УФ-излучение сплошного спектра обладает высокой активностью в отношении всех исследованных тест-штаммов: лабораторных тест-штаммов (*Mycobacterium terrae*, *Mycobacterium tuberculosis* H₃₇Rv) и клинических штаммов *Mycobacterium tuberculosis*, обладающих множественной и широкой лекарственной устойчивостью. Экспериментально показана возможность обеззараживания контаминированных поверхностей со 100%-ной эффективностью от наиболее устойчивых и эпидемиологически значимых штаммов туберкулеза.
- Высокоинтенсивное УФ-излучение импульсных ксеноновых ламп приводит к многочисленным

- молекулярно-генетическим изменениям макромолекулы ДНК в клетках с полной потерей резистентности к рифампицину и частично к изониазиду.
- Микобактерицидная активность импульсного УФ-излучения сплошного спектра не зависит от расстояния между излучателем и облучаемой поверхностью (в исследованном интервале от 0,3 до 4 м).
 - Полученные в экспериментах результаты позволили разработать туберкулоцидный режим работы импульсных установок, обеспечивающий обеззараживание открытых поверхностей помещений с эффективностью 99,99% при экспозициях обработки помещений 5-15 мин.
 - Сочетание доказанной высокой эффективности обеззараживания помещений и минимального времени экспозиции импульсных УФ-установок с ксеноновой лампой позволяет рекомендовать их использование в комплексе ДМ (профилактическая и очаговая дезинфекция) в помещениях структурных подразделений ПТО и медицинских организаций с высокими рисками заноса, распространения и выноса возбудителей туберкулеза, включая их штаммы, обладающие множественной и широкой лекарственной устойчивостью.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии у них конфликта интересов.
Conflict of Interests. The authors state that they have no conflict of interests.

ЛИТЕРАТУРА

1. Вишневский Б. И. Лекарственная устойчивость микобактерий туберкулеза. Лекция // Медицинский альянс. – 2017. – № 1. – С. 29-35.
2. Гольдштейн Я. А., Голубцов А. А., Шашковский С. Г. Обеззараживание воздуха и открытых поверхностей помещений импульсным ультрафиолетовым излучением в медицинских организациях // Поликлиника. – 2014. – № 3 (2). – С. 51-54.
3. Использование ультрафиолетового излучения для обеззараживания воздуха в помещениях. Руководство Р 3.5.1904-04. – М.: Федеральный центр госсанэпиднадзора Минздрава России, 2005. – 46 с.
4. Камруков А. С., Козлов Н. П., Ушаков И. Б., Шашковский С. Г. Разработка и внедрение импульсных плазменно-оптических технологий и установок в космическую медицину и практическое здравоохранение // Газета «Вестник МГТУ им. Н. Э. Баумана». – 2011. – С. 107-119.
5. Методы изучения и оценки туберкулоцидной активности дезинфицирующих средств. Методические указания МУ 3.5.2596-10 // Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора. – М., 2010. – 54 с.
6. Мордовской Г. Г., Поникаровская И. В., Якушкина А. Ю., Путырский В. П., Ямпольский В. А., Панов Г. В. Методы выделения микобактерий туберкулеза при санитарно-бактериологической оценке загрязненности воздуха и поверхностей противотуберкулезных учреждений // Вестник Уральской медицинской академической науки. – 2015. – № 2 (53) – С. 16-18.
7. Приказ Минздрава РФ от 21.03.2003 г. № 109 «О совершенствовании противотуберкулезных мероприятий в Российской Федерации»
8. Р 4.2.2643-10. 3.5. Дезинфектология. Методы лабораторных исследований и испытаний дезинфекционных средств для оценки их эффективности и безопасности. Руководство // Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора. – М., 2010. – 615 с.
9. Система инфекционного контроля в противотуберкулезных учреждениях. Руководство / Под ред. Л. С. Федоровой. – М. – Тверь: ООО «Издательство «Триада», 2013. – 192 с.
10. Ситуация по туберкулезу в 2016 г. // Аналитические обзоры по туберкулезу. Центр мониторинга туберкулеза. ФГБУ «Центральный НИИ организации и информатизации здравоохранения. <http://mednet.ru/index.php?Itemid=137> – М., 2016. – 69 с.
11. Шестопалов Н. В., Пантелеева Л. Г., Соколова Н. Ф., Абрамова И. М., Лукичев С. П. Федеральные клинические рекомендации по выбору химических средств дезинфекции и стерилизации для использования в медицинских организациях. – М., 2015 г. – 67 с.
12. Chan-Ick Cheigh, Mi-Hyun Park, Myong-Soo Chung, Jung-Kue Shin, Young-Seo Park. Comparison of intense pulsed light- and ultraviolet (UVC)-induced cell damage in *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* O157:H7 // Food Control 25. – 2012. – P. 654-659.
13. Guillou S., Leroi F., Orange N., Bakhrouf A., Federighi M., Elmnasser N. Pulsed-light system as a novel food decontamination technology: a review // Canad. J. Microbiology. – 2007. – Vol. 53, № 7. – P. 813-821.
14. http://www.thecleanzine.com/hospital_hygiene.php
15. <https://www.melitta-uv.ru>, <https://www.xenex.com>
16. Ren Zhuo Chen, Stephen A. Craik, James R. Bolton Comparison of the action spectra and relative DNA absorbance spectra of microorganisms: Information important for the determination of germicidal fluence (UV dose) in an ultraviolet disinfection of water // Water research. – 2009. – Vol. 43. – P. 5087-5096.

REFERENCES

1. Vishnevskiy B.I. Drug resistance of *Mycobacterium tuberculosis*. Lecture. *Meditinsky Alyans*, 2017, no. 1, pp. 29-35. (In Russ.)
2. Goldshteyn Ya.A., Golubtsov A.A., Shashkovskiy S.G. Air and open surfaces decontamination with pulsed UV light at medical facilities. *Poliklinika*, 2014, no. 3 (2), pp. 51-54. (In Russ.)
3. *Ispolzovanie ultrafioletovogo izlucheniya dlya obezzarazhivaniya vozdukh v pomescheniyakh. Rukovodstvo R 3.5.1904-04.* [Use of pulsed UV light for indoor air decontamination. Guidelines R 3.5.1904-04]. Moscow, Federalny Tsentr Gossanehpndadzora Minzdrava Rossii Publ., 2005, 46 p.
4. Kamrukov A.S., Kozlov N.P., Ushakov I.B., Shashkovskiy S.G. Development and implementation of pulsed plasma-optical technologies and units in space medicine and practical healthcare. *Gazeta Vestnik MGTU Im. N. E. Baumana*, 2011, pp. 107-119. (In Russ.)
5. *Metody izucheniya i otsenki tuberkulotsidnoy aktivnosti dezinfitsiruyushchikh sredstv. Metodicheskie ukazaniya MU 3.5.2596-10.* [Research and assessment of disinfectants tuberculocidal activity. Guidelines MU 3.5.2596-10]. Federalny Tsentr Gigeny i Epidemiologii Rospotrebnadzora Publ., Moscow, 2010, 54 p.
6. Mordovskoy G.G., Ponikarovskaya I.V., Yakushkina A.YU., Putyrskiy V.P., Yampolskiy V.A., Panov G.V. *Mycobacterium tuberculosis* detection methods during sanitary-and-bacteriologic assessment of air and surfaces contamination at tuberculosis facilities. *Journal of Ural Medical Academic Science (Vestnik Uralskoy Meditsinskoy Akademicheskoy Nauki)*, 2015, no. 2 (53), pp. 16-18. (In Russ.)
7. Decree of the Russian Ministry of Health No. 109 dated March 21, 2003. On improvement of tuberculosis control measures in the Russian Federation. (In Russ.)
8. *Dezinfektologiya. Metody laboratornykh issledovaniy i ispytaniy dezinfektsionnykh sredstv dlya otsenki ikh effektivnosti i bezopasnosti. Rukovodstvo R 4.2.2643-10. 3.5.* [Disinfectology. Laboratory research and testing of disinfectants to evaluate their efficiency and safety. Guidelines P 4.2.2643-10. 3.5.] Federal Center of Hygiene and Epidemiology of the Federal Service on Customers' Rights Protection and Human Well-Being Surveillance, Moscow, 2010, 615 p.
9. *Sistema infektsionnogo kontrolya v protivotuberkuleznykh uchrezhdeniyakh. Rukovodstvo.* [Infection control at tuberculosis facilities. Guidelines]. L.S.Fedorova, eds., Moscow, Tver, ООО Izdatelstvo Triada Publ., 2013, 192 p.
10. *Situatsiya po tuberkulezu v 2016 g. Analiticheskie obzory po tuberkulezu. Tsentr monitoringa tuberkuleza.* [TB situation in 2016. Analytic review of tuberculosis. Tuberculosis monitoring center]. State Budgetary Healthcare Institution "Central Scientific Research Institute of healthcare organization and informational support", <http://mednet.ru/index.php?Itemid=137> Moscow, 2016, 69 p.
11. Shestopalov N.V., Panteleeva L.G., Sokolova N.F., Abramova I.M., Lukichev S.P. *Federalnye klinicheskie rekomendatsii po vyboru khimicheskikh sredstv dezinfektsii i sterilizatsii dlya ispolzovaniya v meditsinskikh organizatsiyakh.* [Federal clinical practice guideline for choosing chemical agents for disinfection and sterilization at healthcare facilities]. Moscow, 2015, 67 p.
12. Chan-Ick Cheigh, Mi-Hyun Park, Myong-Soo Chung, Jung-Kue Shin, Young-Seo Park. Comparison of intense pulsed light- and ultraviolet (UVC)-induced cell damage in *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* O157:H7. *Food Control* 25. 2012, pp. 654-659.
13. Guillou S., Leroi F., Orange N., Bakhrouf A., Federighi M., Elmnasser N. Pulsed-light system as a novel food decontamination technology: a review. *Canad. J. Microbiology*, 2007, vol. 53, no. 7, pp. 813-821.
14. http://www.thecleanzine.com/hospital_hygiene.php
15. <https://www.melitta-uv.ru>, <https://www.xenex.com>
16. Ren Zhuo Chen, Stephen A. Craik, James R. Bolton Comparison of the action spectra and relative DNA absorbance spectra of microorganisms: Information important for the determination of germicidal fluence (UV dose) in an ultraviolet disinfection of water. *Water Research*, 2009, vol. 43, pp. 5087-5096.

ДЛЯ КОРРЕСПОНДЕНЦИИ:

ГБУЗ «Московский научный центр борьбы с туберкулезом ДЗМ»,
107014, Москва, ул. Стромынка, д. 10.
Тел.: 8 (499) 268-00-05.
E-mail: cbt-content@zdrav.mos.ru

Литвинов Виталий Ильич

доктор медицинских наук, профессор, академик РАН,
научный руководитель.

Сафонова Светлана Григорьевна

доктор биологических наук, заведующая отделом
проблем лабораторной диагностики туберкулеза
и патоморфологии.

Фрейман Георгий Ефимович

кандидат медицинских наук, заведующий
централизованной бактериологической лабораторией.

ФБУН «Московский научно-исследовательский
институт эпидемиологии и микробиологии
им. Г. Н. Габричевского Роспотребнадзора»,
125212, Москва,
ул. адмирала Макарова, д. 10.

Селькова Евгения Петровна

доктор медицинских наук, профессор, заместитель
директора по клинико-эпидемиологической работе.
E-mail: selkova.e@mail.ru

Гренкова Татьяна Аркадьевна

кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник
лаборатории диагностики и профилактики инфекционных
заболеваний.
E-mail: g4209761@bk.ru

Гусарова Маргарита Пантелеймоновна

врач-микробиолог, научный сотрудник лаборатории
диагностики и профилактики инфекционных заболеваний.

FOR CORRESPONDENCE:

State Budgetary Healthcare Institution "Moscow Research
Center of Tuberculosis Control of the Moscow Health Department".
10, Stromynka St., Moscow, 107014
Phone: +7 (499) 268-00-05.
E-mail: cbt-content@zdrav.mos.ru

Vitaly I. Litvinov

Doctor of Medical Sciences, Professor,
Academician of RAS, Director.

Svetlana G. Safronova

Doctor of Biological Sciences, Head of Department
of Laboratory Diagnostics of Tuberculosis and
Pathomorphology.

Georgy E. Freyman

Candidate of Medical Sciences,
Head of Central Bacteriological Laboratory.

G.N. Gabrichevsky Moscow Research Institute of Epidemiology
and Microbiology of the Federal Service on Customers' Rights
Protection and Human Well-Being Surveillance,
10, Admirala Makarova St.,
Moscow, 125212.

Evgeniya P. Selkova

Doctor of Medical Sciences, Professor,
Deputy Director for Clinical and Epidemiological Activities.
E-mail: selkova.e@mail.ru

Tatyana A. Grenkova

Candidate of Medical Sciences, Leading Researcher
of Laboratory for Diagnostics and Prevention of Infectious
Diseases.
E-mail: g4209761@bk.ru

Margarita P. Gusarova

Microbiologist, Researcher of Laboratory for Diagnostics
and Prevention of Infectious Diseases.

Поступила 20.01.2018

Submitted as of 20.01.2018