

ТЕХНОЛОГИЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ И КОНТРОЛЯ ВНУТРИБОЛЬНИЧНОЙ ТУБЕРКУЛЕЗНОЙ ИНФЕКЦИИ НА ОСНОВЕ ПРИМЕНЕНИЯ НАНОФИЛЬТРОВ И КОЛИЧЕСТВЕННОЙ ПЦР

ВЛАДИМИРСКИЙ М. А.¹, ШИПИНА Л. К.¹, МАКЕЕВА Е. С.¹, АЛЯПКИНА Ю. С.¹, МИХЕЕВА А. Я.², МОРОЗОВ В. Н.²

TECHNIQUE FOR DETECTION AND MONITORING OF NOSOCOMIAL TUBERCULOUS INFECTION BASING ON THE USE OF NANOFILTERS AND QUANTITY PCR

VLADIMIRSKY M. A.¹, SHIPINA L. K.¹, MAKEEVA E. S.¹, ALYAPKINA YU. S.¹, MIKHEEVA A. YA.², MOROZOV V. N.²

¹НИИ фтизиопульмонологии ГБОУ ВПО «Первый МГМУ им. И. М. Сеченова», г. Москва

²Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, г. Пущино Московской обл.

¹I. M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, RF

²Institute of Theoretical and Experimental Biophysics of RAS, Puschino, Moscow Region, RF

Цель: разработка технологии высокочувствительного определения микобактерий туберкулеза (МБТ) в воздушной среде и на поверхностях больничных палат на основе применения нанофильтров и количественной ПЦР.

Материалы и методы. Для фильтрации образцов воздуха использовали нанофильтры, изготовленные из поливинилпирролидона с размером пор 50-300 нм, площадью 15 см², заключенные в соответствующий держатель-насадку на домашний пылесос. Мощность пылесоса обеспечивала объем 650 л в 1 мин фильтруемого воздуха. В качестве объекта исследования выбраны 12 палат университетской клинической больницы фтизиопульмонологии. В 9 палатах проходили лечение пациенты, один или два из которых на момент обследования в разной степени (положительные результаты микроскопии или культурального исследования мокроты) были выделителями МБТ. Для анализа образцов воздуха в палате оператор проводил забор воздуха в центре палаты в течение 15-17 мин. С целью обнаружения МБТ на постели, прикроватных тумбочках и полу проводили всасыва-

ние мелких пылевых частиц в течение 3-5 мин, располагая указанную насадку с фильтром на расстоянии около 5 см над поверхностью объектов.

Кроме того, проведены эксперименты в доступной для наблюдения закрытой камере объемом 0,8 м³, в которой с помощью небулайзера диспергировали суспензию вакцинного препарата BCG (1,5 мл с концентрацией 10⁴ кл/мл) с одновременным забором воздуха камеры в течение 3 ч с помощью микронасоса (4 л/мин), соединенного с нанофильтром.

Для анализа МБТ, собранных на фильтрах, каждый из них растворяли в 200 мкл деионизированной воды, после чего проводили выделение и количественный анализ ДНК с помощью набора реагентов «Амплитуб-РВ» производства ЗАО «Синтол», определяемых с помощью калибровочного стандартного числа копий копий IS6110 и однокопийного гена *regX*, с пересчетом количества ДНК на образец (объем растворенного фильтра).

Результаты. В таблице представлены результаты исследований в экспериментальной камере и 4 различных госпитальных палатах. Предварительно

Таблица

Результаты определения геномных копий в экспериментальной камере и в больничных палатах

Тип образца	Характеристика образца	Пороговые циклы, полученные для каждой мишени, в соответствующих каналах детекции		Число геномных копий IS6110/образце	Число геномных копий regX/образце
		FAM – IS6110	ROX – regX		
Суспензия BCG 10 ⁴		27,2	28,8	8,02 × 10 ⁴	2,29 × 10 ⁴
BCG	Воздух камеры	30,35	31,94	8,12 × 10 ³	2,6 × 10 ³
1	воздух	31,8	34,76	287	92
	постель	30,25	33,17	221	112
2	воздух	34,67	37,94	282	42
	постель	=50	=50	0	0
	тумбочка	32,02	34,85	2 720	352
	пол	32,30	34,05	1 830	612
3	воздух	36,4	38,0	295	4
	постель	37,12	=50	78	0
	тумбочка	37,96	=50	14	0
	пол	32,0	35,06	3411	252
4	воздух	37,36	=50	230	0
	тумбочка	37,2	=50	216	0
	пол	36,58	=50	551	0

в опытах с количественной ПЦР показано, что материал нанофильтра не ингибировал результаты ПЦР. Установлено, что среднее число геномных копий по однокопийному гену *regX*, собранных в воздухе камеры, составило 7,57% от общего числа диспергированных клеток BCG.

В палате № 1 проводилось лечение пациента с распространенным туберкулезом легких, КУМ+++, бактериоскопия. В этом случае было выявлено большое количество МБТ в воздухе и вблизи постели больного. В палатах № 3 и 4, в которых лечились пациенты с положительной бактериоскопией – КУМ «единичные» или +, значительное количество МБТ было собрано в воздухе над поверхностью пола, а также на тумбочке пациента из палаты № 3, на которой, возможно, находился флакон с мокротой. В палате № 4, в которой находились два пациента без бактериовыделения, за-

вершавших курс лечения, как и в других палатах с пациентами с подобным статусом ДНК, МБТ не обнаруживалась. В других палатах, не представленных в таблице, с пациентами, имеющими отрицательные результаты бактериоскопии мокроты, образцы ДНК МБТ были собраны в значительно меньшем числе и только на поверхности пола.

Заключение. На основе применения нанофильтров и количественной ПЦР разработаны метод и эффективное устройство для определения контаминации МБТ в воздушной среде и на поверхностях госпитальных палат. Количественное определение ДНК МБТ в воздухе и на поверхностях госпитальных палат коррелирует с массивностью бактериовыделения находящихся в них больных. У пациентов с массивным бактериовыделением ДНК МБТ выявляется также на тумбочках и поверхностях постели.

БОКСЫ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЙ БЕЗОПАСНОСТИ – ВАЖНЕЙШАЯ МЕРА ИНФЕКЦИОННОГО КОНТРОЛЯ В БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКИХ ЛАБОРАТОРИЯХ, ВЫПОЛНЯЮЩИХ ДИАГНОСТИКУ ТУБЕРКУЛЕЗА

ВОЛЧЕНКОВ Г. В.¹, СЕВАСТЬЯНОВА Э. В.²

SAFETY BOXES ARE THE CRUCIAL TOOL OF INFECTION CONTROL IN BACTERIOLOGICAL LABORATORIES PERFORMING TUBERCULOSIS DIAGNOSTICS

VOLCHENKOVA G. V.¹, SEVASTYANOVA E. V.²

¹ГБУЗ ВО «Центр специализированной фтизиопульмонологической помощи», г. Москва

²ФГБНУ «Центральный научно-исследовательский институт туберкулеза», г. Москва

¹Center for Specialized of Phthisiopulmonary Care, Moscow, RF

²Central Research Institute of Tuberculosis, Moscow, RF

Цель: оценить правильность использования в специализированных бактериологических лабораториях (БЛ) боксов микробиологической безопасности (БМБ) и эффективность обеспечиваемой ими защиты персонала от внутрилабораторного инфицирования микобактерией туберкулеза (МБТ).

Материалы и методы. Анализ наличия БМБ и соблюдения основных правил их эксплуатации осуществляли по результатам проведенного в 2011-2012 гг. анкетирования сотрудников 21 БЛ медицинских противотуберкулезных организаций из всех федеральных округов РФ. В опросе принимали участие 4 БЛ при республиканских противотуберкулезных диспансерах (ПТД), 12 БЛ при областных ПТД, 2 БЛ при областных ПТ больницах, 2 БЛ при городском ПТД, 1 БЛ при районном ПТД.

Результаты исследования. Установлено, что в 5 лабораториях из 21 (23,8%) за последние 5 лет были зарегистрированы случаи профессионального заболевания туберкулезом, что могло указывать на неудовлетворительное соблюдение в них мер

биологической безопасности. Для выяснения причин заболеваемости лабораторного персонала проведен подробный анализ состояния мер контроля воздушной среды в изучаемых лабораториях.

Известно, что при соблюдении стандартов лабораторной практики распространение МБТ через аэрозоли можно свести к минимуму с помощью БМБ, которые позволяют защитить персонал лаборатории от заражения туберкулезом посредством изоляции и своевременного удаления образующегося инфекционного аэрозоля из рабочей зоны. Однако БМБ не являются абсолютным средством безопасности. Эффективность их защиты во многом зависит как от навыков оператора, так и от проведения своевременного сервисного обслуживания, профилактики и регулярной проверки работы БМБ.

Манипуляции с материалами, контаминированными МБТ, рекомендуется проводить только в промышленно изготовленных и сертифицированных БМБ. Сертификация (физическое испытание) используется для проверки того, что бокс