
ТЕХНОЛОГИЯ БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОГО КОНТРОЛЯ НАЛИЧИЯ МИКОБАКТЕРИЙ ТУБЕРКУЛЕЗА НА ПОВЕРХНОСТЯХ ОБЪЕКТОВ ВО ФТИЗИАТРИЧЕСКОМ СТАЦИОНАРЕ И ЭФФЕКТИВНОСТИ ДЕЗИНФЕКЦИИ

ЕРЕМЕЕВА Н. И., ВАХРУШЕВА Д. В., КРАВЧЕНКО М. А., КАНИЩЕВ В. В., БЕЛОУСОВА К. В., УМПЕЛЕВА Т. В., ШАРАПОВА М. В.

TECHNIQUE OF BACTERIOLOGICAL MONITORING OVER PRESENCE OF TUBERCULOUS MYCOBACTERIA ON VARIOUS SURFACES OF TB HOSPITAL AND DISINFECTION EFFICIENCY

YEREMEEVA N. I., VAKHRUSHEVA D. V., KRAVCHENKO M. A., KANISCHEV V. V., BELOUSOVA K. V., UMPELEVA T. V., SHARAPOVA M. V.

ФГБУ «Уральский НИИ фтизиопульмонологии» МЗ РФ, г. Екатеринбург

Ural Phthisiopulmonology Research Institute, Yekaterinburg, RF

В связи с возможностью длительного сохранения микобактерий туберкулеза (МБТ) на объектах внешней среды при некачественной и/или неэффективной дезинфекции предметов в окружении источника инфекции поверхности в помещениях и бытовые вещи, загрязненные МБТ, являются резервуарами жизнеспособных возбудителей во внешней среде. Учитывая вероятность образования вторичного инфекционного аэрозоля, такие предметы могут быть факторами передачи и причиной распространения нозокомиальной туберкулезной инфекции. Поэтому необходимо осуществлять санитарно-бактериологический контроль эффективности дезинфекции и других противоэпидемических мероприятий, определяя наличие возбудителя туберкулеза на поверхностях предметов, которые могут нести высокий риск передачи внутрибольничного туберкулеза. Санитарно-бактериологическая оценка контаминации внешней среды МБТ противотуберкулезного стационара не осуществляется, так как не регламентирована действующими нормативными документами.

Цель: разработать технологию бактериологического контроля наличия МБТ на поверхностях объектов производственной среды противотуберкулезного стационара для контроля эффективности дезинфекции.

Материалы и методы. В качестве инструмента для взятия смывов предложен зонд гинекологический универсальный, в качестве смывной жидкости – нейтрализующий бульон Ди-Ингли, смывная жидкость подвергалась предпосевной подготовке по стандартной процедуре реактивом NALC-NaOH. Полученные и подготовленные пробы объемом 2,0 мл делили следующим образом: 1 мл пробы отбирали для определения маркера ДНК *M. tuberculosis* IS6110 (IS6110-RFLP-типирование) с целью быстрого, в течение 1-2 сут, определения потенциальной эпидемической опасности исследуемого объекта, при наличии достаточного количества ДНК проводили определение мутаций в генах *rpoB*, *katG* и *inhA*, обуславливающих устойчивость к рифампицину и изониазиду, с использованием тест-си-

стемы «ТБ-Биочип (MDR)», ООО «Биочип-ИМБ», г. Москва; для получения культуры и определения жизнеспособности МБТ оставшееся количество пробы засекали по 0,5 мл на 2 пробирки с питательной средой Левенштейна – Йенсена. Исследования проведены в клинических отделениях ФГБУ «УНИИФ» Минздрава России в 2012 и 2013 г.

Результаты. Всего проведено по 137 смывов с поверхностей объектов в 2012 и 2013 г. Новая технология бактериологического контроля поверхностей объектов окружающей среды ЛПУ в отношении возбудителя туберкулеза позволила установить, что в 2012 г. 96,4% исследованных поверхностей противотуберкулезного стационара были загрязнены ДНК МБТ. Кроме того, в 32,1% случаях количество ДНК позволяло детектировать мутации устойчивости, а в 10,9% – выделены культуры с поверхностей объектов.

Полученные данные явились основанием для пересмотра плана противоэпидемических мероприятий. В частности, осуществлена ротация дезинфицирующего средства (ДС) на основе катионных поверхностно-активных веществ (КПАВ) с туберкулоцидными режимами на хлорсодержащее ДС. В 2013 г., через полгода после начала его применения, повторно проведен контроль эффективности дезинфекции. Результаты позволили констатировать, что количество ДНК МБТ на поверхностях объектов снизилось на 42,2% (с 96,4 до 54,2%), количество поверхностей, загрязненных ДНК МБТ в объеме, достаточном для определения мутаций устойчивости, уменьшилось на 25,1% (с 32,1 до 7,0%), а количество выделенных культур МБТ снизилось на 3,9% (с 10,9 до 7,0%).

Выводы.

1. Включение технологии контроля эффективности дезинфекции в систему инфекционного контроля позволит быстро, в течение 1-2 дней, определить потенциальную эпидемическую опасность исследуемого объекта и применить наиболее эффективные противоэпидемические мероприятия.

2. Необходимо тщательно подходить к вопросу выбора ДС для дезинфекции в противо-

туберкулезном стационаре, поскольку даже разрешенные для применения ДС на основе КПАВ

имеют сомнительную эффективность в отношении МБТ.

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МЕТОДОВ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ШИРОКОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ ВОЗБУДИТЕЛЯ ТУБЕРКУЛЕЗА

ЕРЕМЕЕВА Н. И., КРАВЧЕНКО М. А., УМПЕЛЕВА Т. В., ГОЛУБЕВА Л. А.

COMPARATIVE DESCRIPTION OF TESTING TECHNIQUE FOR EXTENSIVE DRUG RESISTANCE OF TUBERCULOUS MYCOBACTERIA

YEREMEEVA N. I., KRAVCHENKO M. A., UMPELEVA T. V., GOLUBEVA L. A.

ФГБУ «Уральский НИИ фтизиопульмонологии» МЗ РФ, г. Екатеринбург

Ural Phthisiopulmonology Research Institute, Yekaterinburg, RF

Туберкулез с широкой лекарственной устойчивостью возбудителя (ШЛУ МБТ) представляет серьезную проблему во фтизиатрии. В Российской Федерации нет точных данных о числе случаев ШЛУ МБТ в связи с отсутствием утвержденных регистрационных форм. В Уральском федеральном округе этот показатель составляет 2-4% от впервые выявленных больных и около 10% от ранее леченных больных туберкулезом.

В сложившейся ситуации необходима ускоренная лабораторная диагностика туберкулеза. Раннее выявление ШЛУ-изолятов возможно с использованием молекулярно-генетических методов и необходимо для назначения своевременного лечения и принятия мер эпидемиологического контроля. Всемирная организация здравоохранения рекомендовала включить в национальные противотуберкулезные программы метод GenoType (Hain Lifescience) для диагностики туберкулеза с множественной лекарственной устойчивостью возбудителя. Несмотря на имеющиеся сведения об информативности этого метода для выявления лекарственной чувствительности возбудителя туберкулеза к противотуберкулезным препаратам второго ряда, данные о применении метода GenoType в ежедневной практике противотуберкулезной службы для диагностики туберкулеза с ШЛУ МБТ весьма невелика.

Цель: сопоставить результаты определения широкой лекарственной чувствительности возбудителя туберкулеза методом абсолютных концентраций и методом GenoType (Hain Lifescience).

Материалы и методы. В 2014 г. в лаборатории микробиологии и ПЦР диагностики ФГБУ «УНИИФ» Минздрава России выделено 402 культуры *M. tuberculosis* из диагностического материала пациентов. Результаты метода абсолютных концентраций позволили установить, что 28 (6,96%) культур *M. tuberculosis* имели ШЛУ, т. е. были одновременно устойчивы к рифампицину, изониазиду,

офлоксацину и одному из инъекционных препаратов (канамицину и капреомицину).

Культивирование *M. tuberculosis* осуществляли общепринятым методом на среде Левенштейна – Йенсена и Bactec MGIT 960 (Becton Dickinson). Чувствительность микробных культур к противотуберкулезным препаратам первой и второй линий определяли методом абсолютных концентраций.

Для генотипирования и определения мутаций устойчивости к противотуберкулезным препаратам суспензию культуры инкубировали при 95°C 30 мин, затем осаждали при 13 000 оборотов в 1 мин. Супернатант применяли в качестве препарата ДНК для постановки ПЦР.

Для дифференциации изолятов на группы *Beijing* и non-*Beijing* использовали ПЦР-тест-систему «Амплитуб-*Beijing*», ООО «Синтол». Изоляты группы non-*Beijing* генотипировали с использованием 15 MIRU-VNTR локусов. Определение мутаций, обуславливающих устойчивость к рифампицину, изониазиду, фторхинолонам, аминогликозидам/циклическим пептидам, проводили с помощью GenoType MTBDRplus и GenoType MTBDRsl.

Результаты. Генотипирование 28 изолятов позволило установить принадлежность 26 из них к генотипу *Beijing*, 2 изолята, выделенные от одного больного, – *URAL*.

У изолятов *M. tuberculosis*, устойчивых к изониазиду, наиболее часто встречались мутации, локализованные в кодоне S315T1 гена *katG* (100%), включая 5 изолятов, у которых выявлены изменения одновременно в генах *katG* и *inhA*.

Мутации гена *rpoB*, обуславливающие устойчивость *M. tuberculosis* к рифампицину, выявлены в кодоне S531L у 26 (92,8%) изолятов и в кодоне D516V у одного (3,6%) изолята. В ДНК одного изолята мутации гена *rpoB* не обнаружены, хотя методом абсолютных концентраций была отмечена устойчивость этого изолята к рифампицину.