



И.В. КРАНОСЕЛЬСКИХ, Е.В. ДАНИЛОВА, Е.В. ГАРАСЬКО

УДК 616-002.5-003.224-079.1

Ивановская государственная медицинская академия

## Специфика микробиологической диагностики у больных туберкулезом легких со скудным бактериовыделением

**Красносельских Ирина Вадимовна**старший лаборант кафедры оториноларингологии и офтальмологии, соискатель кафедры микробиологии и вирусологии  
153012, г. Иваново, ул. Ф. Энгельса, д. 8, тел. (4932) 30-17-66, e-mail: adm@isma.ivanovo.ru

Обследование 146 пациентов, больных туберкулезом легких, показало, что у пациентов, имеющих олигобациллярную мокроту, имеется высокий уровень полирезистентности к двум и более противотуберкулезным препаратам, кроме сочетания изониазида и рифампицина (54,3%), её множественной лекарственной устойчивости (37,1%). Метод посева дает возможность определить спектр лекарственной чувствительности микроорганизмов ранее 1 месяца исследования (21-26 день) у 24,3% больных, что позволяет сократить длительность обследования 1/4 больных туберкулезом и начать ранее этиологическое лечение, которое является непременным условием успешной терапии этих больных.

**Ключевые слова:** туберкулез легких, определение лекарственной чувствительности, олигобациллярная мокрота, единственный рост культуры микобактерий туберкулеза.

I.V. KRASNOSELSKIKH, E.V. DANILOVA, E.V. GARASKO

Ivanovo State Medical Academy

## Specificity of microbiological diagnosis in patients with pulmonary tuberculosis with poor bacterial selection

Survey of 146 patients with pulmonary tuberculosis has shown that the patients with oligobacilla sputum have a high polyresistance level to two or more anti-tuberculosis medications, excluding the combination of isoniazidum and rifampicinum (54,3%); its multiple drug resistance (37,1%). The method of dissemination allows to reduce spending on the treatment of patients with tuberculosis as well as gives the possibility to detect microorganism drug resistance spectrum earlier than one month (on the 21-24 day) in 24,3% of the patients. Thus, it allows to reduce the duration of examination in 1/4 of the patients and to start earlier etiologic treatment. This is a must of successful therapy of patients with tuberculosis.

**Keywords:** pulmonary tuberculosis, drug sensitivity detection, oligobacilla sputum, single growth of mycobacteria tuberculosis culture.

Туберкулез органов дыхания – одна из самых актуальных проблем здравоохранения в мире [12,20]. В последние годы заболеваемость населения РФ туберкулезом возросла на 150%, смертность от туберкулеза выросла почти в 3 раза [7,22]. В современных условиях специалисты отмечают резкое ухудшение эпидемической ситуации по туберкулезу [12]. Угрозу обществу представляет не столько увеличение больных туберкулезом, сколько бациллярные пациенты, имеющие лекарственно-устойчивые формы туберкулеза [4,13,15,16,18,19]. Наличие лекарственной устойчивости микобактерий туберкулеза (МБТ)

и полирезистентности значительно ограничивают возможности выбора эффективных химиопрепаратов, что затрудняет полноценную противотуберкулезную терапию (ПТТ), повышает частоту развития рецидивов, формирования хронических форм заболевания с высокой летальностью, а также значительно продлевает лечение и повышает экономические затраты [8,15].

У пациентов с туберкулезом легких выделяется незначительное количество мокроты или наблюдается непродуктивный кашель, который встречается у больных с «малыми» формами

туберкулезного процесса. Врачи сталкиваются с нетипично малым выделением мокроты и при «больших» формах специфического процесса, когда в легких имеются участки деструкции [21]. При микробиологическом исследовании мокроты обнаруживается незначительное содержание кислотоустойчивых микобактерий (КУМ). При посеве олигобациллярной мокроты на питательной среде вырастает культура с единичным ростом колоний, которая позволяет провести постановку теста определения лекарственной чувствительности [14]. При скудном бактериовыделении и единичном росте культуры (от 1 до 20 колоний) определить лекарственную чувствительность микобактерий часто не представляется возможным, культуру «сбрасывают» и лечение назначают без учета лекарственной чувствительности, руководствуясь стандартными режимами химиотерапии туберкулеза, что, несомненно, снижает эффективность лечения больных [22]. При этом не учитывается, что даже в единичном количестве микробная культура сохраняет свои биологические свойства, в том числе вирулентности. Это дает основание считать больных со скудным бактериовыделением эпидемиологически опасными для окружающих [1,2,6,13,21]. Кроме того, во многих случаях происходит повышение стоимости проводимой терапии и увеличение сроков пребывания больных в стационаре [15].

В связи с вышеизложенным, требуется совершенствование микробиологической диагностики туберкулеза легких у больных с олигобациллярной мокротой. Особую значимость приобретает тест определения лекарственной чувствительности микобактерий туберкулеза (МБТ) у больных со скудным бактериовыделением, что определяет актуальность и значимость данного исследования для микробиологии и практического здравоохранения в современных условиях роста заболеваемости туберкулезом.

**Цель работы** – изучить лекарственную чувствительность МБТ у больных с олигобациллярной мокротой.

#### Материалы и методы

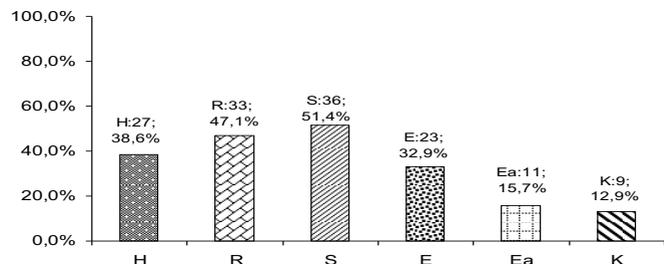
С целью изучения возможности постановки теста определения лекарственной чувствительности МБТ у больных туберкулезом легких с олигобациллярной мокротой наблюдали 146 пациентов с туберкулезом легких. Среди обследованных большую часть составили мужчины — 106 человек (73,1%) в возрасте  $45,4 \pm 1,5$ ; женщины — 40 человек (26,9%) в возрасте  $43,2 \pm 1,7$  лет, находившиеся на лечении в легочном и хирургическом отделениях Областного противотуберкулезного диспансера города Иваново.

Наблюдение проводилось в течение трех лет. Пациенты были разделены на две группы: в 1-ю группу вошли 70 больных с олигобациллярной мокротой и единичным ростом культуры МБТ, с которой производили рассев; во 2-ю группу — 76 больных с массивным бактериовыделением и ростом микробных колоний более 20 мл. В 1 группе преобладали безработные лица (37,1%), пенсионеры (18,6%) и инвалиды (17,1%). Работающими были 27,1% больных. Во 2 группе процент безработных — 21,1%, пенсионеров — 27,6% и инвалидов — 18,4%. Работающими были 50% обследованных лиц. До выявления туберкулеза курили большинство обследованных и в 1, и во 2 группе (98,2%). Однако с начала противотуберкулезной терапии многие пациенты отказались от курения (98,4%). Злоупотребляли алкоголем до начала лечения 43,5% больных, в процессе химиотерапии большая часть отказалась от употребления алкоголя. В прошлом находились в местах лишения свободы 15,8% человек.

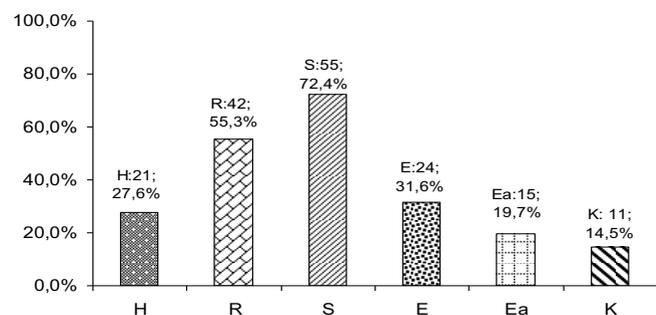
С целью изучения лекарственной чувствительности микобактерий туберкулеза по приказу «О совершенствовании про-

тивотуберкулезных мероприятий в Российской Федерации» от 21.03.03 года №109 всем больным при поступлении, через 2-3 мес. от начала химиотерапии, в начале 5 мес. химиотерапии, а так же по окончании курса химиотерапии исследовали мокроту на МБТ. В те же сроки проводили посев на плотную питательную среду Финна II с определением чувствительности выделенных культур МБТ к противотуберкулезным препаратам методом абсолютных концентраций. У всех больных определяли скорость роста МБТ на плотной питательной среде.

**Рисунок 1.**  
**Спектр лекарственной устойчивости выделенных штаммов МБТ у больных 1 группы**



**Рисунок 2.**  
**Спектр лекарственной устойчивости выделенных штаммов МБТ у больных 2 группы**



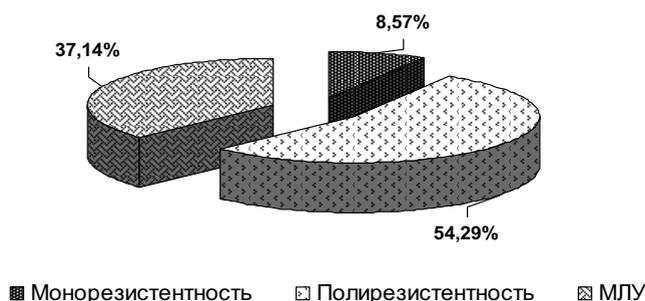
нами применялся метод рассева, который позволил ставить тест определения лекарственной чувствительности, используя более скудный рост культуры МБТ. Указанный метод использовался в работе ГУЗ «Областного противотуберкулезного диспансера» города Иваново. При строгом соблюдении общепринятых в бактериологической практике технических приемов, исключающих возможность соприкосновения с заразным материалом, в специально оборудованном помещении с наличием вентиляции и обязательным использованием индивидуальных средств защиты, манипуляция рассева полностью безопасна, при контрольном обследовании лаборантов признаков поражения органов дыхания не выявлено.

Методика исследования включала метод рассева для накопления микробной массы и постановки теста определения лекарственной чувствительности, используя более скудный рост культуры микобактерий туберкулеза.

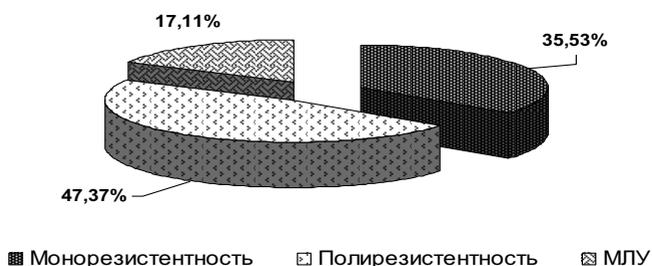
Накопление микробной массы получали путем повторных рассевов с основной культуры с единичным ростом колоний на плотную питательную среду Финна II. После рассева материал помещали в термостат и периодически производили наблюдение

ние за ростом культуры каждые 7-10 дней. На 21 день появлялся рост с достаточным количеством микроорганизмов, что позволяло ставить тест определения лекарственной чувствительности выделенной культуры методом абсолютных концентраций к препаратам: изониазид, стрептомицин, рифампицин, этионамид, этамбутол, канамицин

**Рисунок 3.**  
Распределение больных в зависимости от характера лекарственной устойчивости МБТ (1 группа)



**Рисунок 4.**  
Распределение больных в зависимости от характера лекарственной устойчивости МБТ (2 группа)



Микроорганизмы снимали бактериологической петлей и помещали в стерильную толстостенную пробирку. Тщательно растирали стеклянной палочкой, постепенно добавляя по каплям стерильный физиологический раствор. Полученную суспензию отбирали пастеровской пипеткой и переносили в стерильную пробирку, диаметр которой соответствовал диаметру пробирки с оптическим стандартом мутности. Для осаждения клеточных конгломератов ее отстаивали в течение 15 минут и переносили в новую. После этого материал стандартизировали по оптическому стандарту мутности № 5 (500 млн. микробных тел в 1 мл) и разводили в 10 раз стерильным физиологическим раствором. Производили посев на среды с лекарственными препаратами. Пробирки вынимали из термостата через 3 недели и регистрировали полученные результаты. При скудном росте в контроле пробирки ставили еще на неделю в термостат на «дорастивание» до получения выраженного роста в контроле, после чего выдавали окончательный ответ.

Оценивали уровень резистентности по количеству колоний, выросших на среде с лекарственным препаратом. Культуру считали чувствительной, если в пробирке со средой, содержащей препарат, выросло менее 20 колоний при обильном росте в контроле. При наличии более 20 колоний культуру расцени-

вали как устойчивую к той концентрации препарата, которая содержится в среде [14].

Для контроля достоверности результатов использовали лабораторный, чувствительный штамм H<sub>37</sub>R<sub>v</sub>. Контрольную культуру засеивали так же, как испытуемую.

Для определения статистической значимости полученных результатов лабораторного и клинического исследования использовали методы математической статистики. Статистическую обработку и анализ данных проводили с применением методов вариационной статистики, рекомендованных для медико-биологических исследований, на персональной IBM Pentium IV со стандартными программами статистической обработки [5]. Результаты обработаны при помощи пакета программ Microsoft Excel для Windows XP 2003. Показатели представлены в виде средней арифметической вариационного ряда и ее стандартной ошибки (M±m). Достоверность различий средних величин оценивалась с использованием t-критерия Стьюдента.

**Результаты и обсуждение**

У больных туберкулезом легких с олигобациллярной мокротой накопление микробной массы методом посева микобактерий на плотные питательные среды позволяет определить спектр лекарственной чувствительности микроорганизмов ранее 1 месяца исследования (21-26 день) у 24,3% больных, на 1-2 месяц исследования (41-54 день) у 31,4% больных, на 2-3 месяц исследования (62-85 день) у 44,3% пациентов.

Исследование, проведенное у больных 1 группы, показало устойчивость к основному препарату стрептомицину у 51,4% обследованных, к рифампицину — у 47,1% пациентов, к изониазиду — у 38,6% больных, к этамбутолу — у 32,9% обследованных; реже к препаратам второго ряда: этионамиду Ea — 11 (15,7%) и к канамицину K — 9 (12,9%; рис.1).

У пациентов 2 группы с массивным бактериовыделением и ростом микробных колоний более 20 мло также часто встречались устойчивые к стрептомицину штаммы — у 72,4% обследованных, к рифампицину — у 55,3% пациентов, к изониазиду — у 27,6% больных, к этамбутолу — у 31,6% обследованных (рис.2); устойчивость к препаратам 2 ряда: этионамиду Ea — 15 (19,7%) и к канамицину K — 11 (14,5%; рис.2).

У пациентов, имеющих олигобациллярную мокроту, имелся высокий уровень полирезистентности к двум и более противотуберкулезным препаратам, кроме сочетания изониазида и рифампицина (54,3%), её множественной лекарственной устойчивости (37,1%; рис.3).

У больных 2 группы также отмечен высокий уровень полирезистентности к двум и более противотуберкулезным препаратам, кроме сочетания изониазида и рифампицина (47,4%), её множественной лекарственной устойчивости (17,1%), (p<0,01), соответственно (рис.4).

В ходе исследования появилась необходимость в определении сроков, в течение которых возможно определение спектра лекарственной устойчивости для раннего начала этиологического лечения больных туберкулезом. У больных, со скудным бактериовыделением и единичным ростом микробных колоний, лекарственная устойчивость была к одному-трем препаратам (в течение одного-трех месяцев от начала специфического лечения) — у 8,6% пациентов, к комбинации изониазид и рифампицин (примерно через 3-4 месяца) — у 37,1%, к шести препаратам (примерно через 7-9 месяцев) — у 54,3%. У больных с массивным бактериовыделением и ростом микробных колоний более 20 мло: к одному-трем препаратам — у 35,5% больных, к комбинации изониазид и рифампицин (примерно через 3-4 месяца) — у 17,1%, к шести препаратам (примерно через 7-9 месяцев) — у 47,4%.



Таким образом, в условиях соблюдения техники безопасности манипуляция посева имеет высокую диагностическую ценность, так как способствует эффективному и наиболее оптимальному подбору этиологической терапии в условиях единичного роста культуры, а также дает возможность определить спектр лекарственной чувствительности микроорганизмов ранее 1 месяца исследования (21-26 день) у 24,3% больных, что позволяет сократить длительность обследования 114 пациентов туберкулезом и начать раннее этиологическое лечение, что является неременным условием успешной терапии данных больных.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Бобченко А.П. Значение скудного и однократного установленного бактериовыделения у впервые выявленных больных туберкулезом органов дыхания // Пробл. туберкулеза. — 1990. — № 2. — С. 43-45.
2. Бобченко А.П. Диагностика и особенности клинического течения туберкулеза легких у впервые выявленных больных со скудным и однократно установленным бактериовыделением // Пробл. туберкулеза. — 1987. — № 8. — С. 14-17.
3. Бухарин О.В. Проблемы персистенции патогенов в инфектологии // ЖМЭИ — 2006. — №4 — С. 4-8.
4. Вишневская Е.Б., Оттен Т.Ф., Вишневский Б.И. Плазмидный профиль микобактерий, распространенных на территории Российской Федерации // Пробл. туберкулеза. — 1998. — № 1. — С. 44-46.
5. Гланц С. Медико-биологическая статистика — М. — 1999. — 459 с.
6. Голышевская В.И. Роль ультрамелких форм микобактерий в патоморфозе туберкулеза // Пробл. туберкулеза. — 2003. — № 3. — С. 26-30.
7. Дорожкова И.Р., Земскова З.С., Круду В.Н. и др. Эндогенная реактивация туберкулеза как результат реверсии персистирующих L-форм микобактерий // Пробл. туберкулеза. — 1995. — № 3. — С. 43-46.
8. Ерохин В.В., Цыб А.Ф., Чуканов В.И. и др. Клеточные технологии в терапии хронического мультирезистентного туберкулеза легких // Пробл. туберкулеза. — 2006. — № 8. — С. 3-5.
9. Ерохин В.В., Ельшанская М.П. Морфологические проявления вторичного иммунодефицита // Пробл. туберкулеза. — 1990. — № 6. — С. 65-69.
10. Жукова М.П. Распространенность лекарственно-устойчивых штаммов микобактерий туберкулеза среди больных бактериовыделителей // Пробл. туберкулеза. — 1998. — № 1. — С. 14-16.
11. Малахов В.Н., Иртуганова О.А., Хайдукова И.Л. и др. Качество бактериологического выявления и определения лекарственной чувствительности микобактерий туберкулеза участниками федеральной системы внешней оценки качества клинических лабораторных исследований в 2002 - 2003 гг. // Пробл. туберкулеза. — 2005. — № 4. — С. 6-11.
12. Мишин В.Ю., Григорьев Ю.Г., Дитятков А.Е. Лечение впервые выявленных больных туберкулезом легких комбинированными таблетками с фиксированной дозировкой // Инфекции и антимикробная терапия. — 2000. — Т 3., № 2. — С. 58-60.
13. Москаленко Е.П. Использование теста на нитратредуктазу для выявления скрытого роста микобактерий туберкулеза // Материалы IX съезда всероссийского научно-практического общества эпидемиологов, микробиологов и паразитологов. — М. — 2007. — С. 192.
14. Приказ МЗ РФ № 109 от 21.03.03 г. О совершенствовании противотуберкулезных мероприятий в Российской Федерации. — М. — 2003.
15. Пряхина В.Н., Поддубная Л.В., Зырянова Т.В. и др. Эффективность лечения впервые выявленных больных туберкулезом легких с множественной лекарственной устойчивостью // Материалы VIII Рос. съезда фтизиатров Москвы. — М. — 2007. — С. 528-529.
16. Самойлова А.Г., Марьяндышев А.О. Лекарственная устойчивость микобактерий туберкулеза — актуальная проблема фтизиатрии // Пробл. туберкулеза. — 2005. — № 7. — С. 3-9.
17. Трошкина Н.П. Частота выявления туберкулеза легких в отделении реанимации и интенсивной терапии пульмонологического профиля // Материалы IX съезда всероссийского научно-практического общества эпидемиологов, микробиологов и паразитологов. — М. — 2007. — С. 197.
18. Тунгусова О.С., Марьяндышев А.О. Молекулярные механизмы формирования лекарственной устойчивости микобактерий туберкулеза // Пробл. туберкулеза. — 2001. — № 6. — С. 48-49.
19. Хоменко А.Г. Современные тенденции в эпидемиологии туберкулеза и пути уменьшения резервуара инфекции // Пробл. туберкулеза. — 1997. — № 1. — С. 4-6.
20. Хоменко А.Г. Туберкулез вчера, сегодня и завтра // Пробл. туберкулеза. — 1997. — № 6. — С. 9-12.
21. Чуканов В.И. Особенности диагностики и эффективность лечения больных туберкулезом легких без бактериовыделения // Научные труды к 80-летию ведущего противотуберкулезного учреждения г. Москвы, 10-летию Московского городского научно-практического центра борьбы с туберкулезом/ под ред. академика РАМН В.И. Литвинова. — М.: Медицина и жизнь, 2007. — С. 100-104.
22. Шевченко Ю.Л. Борьба с туберкулезом в России на пороге XXI века // Пробл. туберкулеза. — 2000. — № 3. — С. 2-6.

## ПОДПИСНОЙ ИНДЕКС ЖУРНАЛА «ПРАКТИЧЕСКАЯ МЕДИЦИНА»

В КАТАЛОГЕ «РОСПЕЧАТЬ» 37140

В РЕСПУБЛИКАНСКОМ КАТАЛОГЕ ФПС «ТАТАРСТАН ПОЧТАСЫ» 16848