

руб, стоимость определения лекарственной чувствительности выделенных микобактерий к ПТП для одного пациента — 97 тыс. бел. руб.

Заключение

1. Результаты детекции микобактерий и определения лекарственной чувствительности к ПТП, полученные с использованием ВАСТЕС MGIT-960, сопоставимы с результатами, полученными с использованием традиционных методов бактериологической диагностики туберкулеза.

2. Высокая степень совпадения результатов определения лекарственной чувствительности микобактерий к препаратам первого ряда на ВАСТЕС MGIT-960 и методом абсолютных концентраций на среде Левенштейна-Йенсена позволяет рассматривать их как взаимозаменяемые. Предпочтение следует отдавать автоматизированному методу как более объективному, стандартизованному и быстрому.

3. Сокращение сроков бактериологической диагностики туберкулеза в 2,4 раза и увеличение высеваемости на 14 % при использовании ВАСТЕС MGIT-960 позволяет быстрее поставить диагноз, изолировать бактериовыделителя, своевременно назначить адекватные схемы химиотерапии.

4. Использование ВАСТЕС MGIT-960 снижает риск заражения персонала и перекрестной контаминации образцов.

5. Недостаток системы ВАСТЕС MGIT-960 — высокая стоимость исследований.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Итруганова, О. А.* Современные возможности микобактериологической лаборатории // Клиническая лабораторная диагностика. — 2006. — № 1. — С. 21–35.
2. *Суркова, Л. К.* Основные пути оптимизации микробиологической диагностики туберкулеза в современных условиях / Л. К. Суркова // Медицинские новости. — 2001. — № 8. — С. 10–16.
3. Разработка критериев оценки качества и эффективности микробиологических исследований в учреждениях противотуберкулезной службы и общелечебной сети / Э. В. Севастьянова [и др.] // Проблемы туберкулеза и болезней легких. — 2009. — № 1. — С. 53–60.
4. Multicenter evaluation of the mycobacteria growth indicator tube for testing susceptibility of *Mycobacterium tuberculosis* to first-line drugs / S. Rush-Gerdes [et al.] // J Clin Microbiol. — 1999. — № 37. — P. 45–48.
5. MGIT Procedure Manual. For ВАСТЕС MGIT-960 TB System (Also applicable for manual MGIT) Mycobacteria Growth Indicator Tube (MGIT) Culture and Drug Susceptibility / S. Siddiqi [et al.]. — Demonstration Projects, 2007.

УДК 616-078-093-/098(476.2)

ПРОБЛЕМЫ ВЫДЕЛЕНИЯ НЕТУБЕРКУЛЕЗНЫХ МИКОБАКТЕРИЙ И ДИАГНОСТИКИ МИКОБАКТЕРИОЗОВ В ГОМЕЛЬСКОЙ ОБЛАСТИ

**Борисенко Т. Д., Михасёв М. Н., Ширяев А. С.,
Шаршакова Т. М., Тарасюк И. В., Суркова Л. К.**

Учреждение

«Гомельская областная туберкулезная клиническая больница»

Учреждение образования

«Гомельский государственный медицинский университет»

г. Гомель, Республики Беларусь

Государственное учреждение образования

«Белорусская медицинская академия последипломного образования»

г. Минск, Республика Беларусь

Кроме микобактерий туберкулезного комплекса, к которым относится *M. tuberculosis*, известна большая группа нетуберкулезных микобактерий (НТМБ), являющихся возбудителями микобактериозов. Многочисленные виды НТМБ живут в окружающей среде, вызывая заболевания у птиц и животных. Некоторые НТМБ потенциально патогенны для человека. Человек и животные могут заражаться при контакте с водой (в частности, с аэрозолями, образующимися над почвой, естественными и искусственными водоемами), при употреблении воды и пищи, содержащей НТМБ [1, 2].

В последние годы число больных микобактериозами в мире увеличилось в десятки раз. Это связано, прежде всего, с резким увеличением числа иммунокомпрометированных лиц (ВИЧ-инфицированные, больные, получающие иммуносупрессивную терапию), пациентов с хроническими заболеваниями легких. Учащение случаев микобактериоза связано также с улучшением бактериологической диагностики благодаря использованию новых, более совершенных методов выделения и идентификации возбудителей [2, 3].

В настоящее время перед бактериологическими лабораториями Республики Беларусь стоят важные задачи по раннему выявлению и идентификации микобактерий туберкулезного комплекса (МБТ) и НТМБ. Это необходимо для своевременного проведения мероприятий по предотвращению распространения инфекции и назначения адекватной терапии, так как по клинико-рентгенологическим признакам эти заболевания зачастую схожи, а лекарственная устойчивость НТМБ к большинству противотуберкулезных препаратов (ПТП) приводит к неэффективности проводимого лечения и развитию деструктивных процессов легких и диссеминированных процессов [4]. Реальная ситуация с распространением НТМБ и их значением в патологии в республике в целом и в отдельных регионах остаётся неясной.

Цель исследования

Определить распространенность НТМБ в Гомельской области, оценить патогенность выделенных культур НТМБ, изучить возможности лабораторной диагностики микобактериозов в регионе.

Материалы и методы

Проанализированы результаты выделения и идентификации НТМБ в бактериологической лаборатории учреждения «Гомельская областная туберкулезная клиническая больница» (У «ГОТКБ») за 2010 г. Выделение микобактерий проводили культуральным методом на плотных питательных средах Левенштейна-Йенсена и Финна-П и жидкой среде Middlebrook с использованием автоматизированной системы ВАСТЕС MGIT-960. Для обработки биологического материала использовали натрий фосфорнокислый трехзамещенный — при посеве на плотные питательные среды и N-ацетил-L-цистеин-NaOH при посеве на жидкую среду Middlebrook с параллельным посевом на среду Левенштейна-Йенсена.

Для дифференциации МБТ и НТМБ использовали следующий комплекс тестов: ниациновый тест, нитратредуктазный тест, полуколичественный тест каталазной активности, термостабильность каталазы, рост на среде с 5 % хлоридом натрия, рост на среде с салициловокислым натрием (1 мг/мл), скорость роста на питательных средах, пигментообразование, наличие *cord*-фактора, морфология колоний, рост при 22°C, 37°C, 45°C. Проводилась молекулярно-генетическая идентификация части выделенных культур в Национальной референс-лаборатории РНПЦ «Фтизиатрии и пульмонологии» методом ПЦР в сочетании с блот-гибридизацией с использованием наборов GenoType Mycobacterium CM (Hain-test, Life Science), производства Германия. Лекарственную чувствительность к ПТП определяли на плотной питательной среде Левенштейна-Йенсена методом абсолютных концентраций.

Проводился ретроспективный анализ медицинских карт стационарных больных. Для обработки результатов исследований использовались методы описательной статистики.

Результаты исследования

За исследуемый период в бактериологической лаборатории УГОТКБ выделено 5128 культур микобактерий, из них к *M. tuberculosis complex* отнесено 5100 культур, к НТМБ — 28 культур, что составило 0,55 % от общего количества выделенных микобактерий.

Культуры НТМБ были выделены от 15 больных с воспалительными заболеваниями легких. Пациентов старшей возрастной группы 55 лет и старше было 7 человек, 40–55 лет — 5 человек, 30–40 лет — 2 человека, 18 лет и младше — 1 человек. Среди выделенных культур НТМБ 5 относились к быстрорастущим, среди них *M. fortuitum* — 3, *M. phlei* — 2. Медленнорастущие НТМБ были выделены в количестве 23 культур, из них *M. gordonae* — 5, *M. avium* — 9, *M. intracellulare* — 9.

При сравнении результатов видовой идентификации микобактерий, проведенной с помощью классических биохимических и культуральных тестов с результатами ПЦР-идентификации было получено практически полное совпадение результатов.

12 из 28 выделенных культур были выделены на плотной питательной среде из биологического материала, подвергнутого классической обработке натрием фосфорнокислым трехзамещенным, 7 культур — на плотной среде при обработке N-ацетил-L-цистеин-NaOH, 9 культур — на жидкой среде при обработке N-ацетил-L-цистеин-NaOH (в системе ВАСТЕС).

Культуры НТМБ выделены однократно у 4 больных, многократно — у 11 больных (причем одного и того же вида). Смешанные культуры выделены из мокроты 3 больных — *M. avium* + *M. tuberculosis*, *M. fortuitum* + *M. tuberculosis*, *M. intracellulare* + *M. tuberculosis*. 93 % пациентов, выделяющих НТМБ (15 человек) не имели ВИЧ-инфекции, 1 пациент с ВИЧ-инфекцией в стадии СПИД, умерший от диссеминированной микобактериальной инфекции, выделял *M. avium*.

При определении чувствительности к ПТП методом абсолютных концентраций к изо니아зиду было устойчиво 86 % культур НТМБ, к стрептомицину, рифампицину, этамбутолу — 86 %, к ПАСК — 83 %, к канамицину и амикацину — 64 %, к офлоксацину — 50 %.

До проведения видовой идентификации выделенных культур микобактерий у 2 пациентов был выставлен диагноз туберкулеза бронхов, в связи с выделением кислотоустойчивых микобактерий и отсутствием какой-либо клинико-рентгенологической симптоматики. 13 пациентов лечились от различных форм туберкулеза легких: инфильтративных, очаговых, диссеминированных. У 11 пациентов бактериологическое обследование было проведено по поводу впервые выявленного туберкулеза легких или рецидива, у 4 пациентов — по поводу неудачи в лечении или в связи с назначением повторного курса лечения ПТП. После установления видовой принадлежности выделенных культур и консультации в РНПЦ «Пульмонологии и фтизиатрии» диагноз туберкулеза остался у 4 пациентов, 7 больным выставлен диагноз микобактериоза, в 3 случаях выставлен двойной диагноз туберкулёз и микобактериоз, в 1 случае — пневмония.

Обсуждение

Выделение НТМБ из патологического материала не свидетельствует о безусловной этиологической значимости этих микроорганизмов, как при выявлении классических МБТ. С целью определения этиологического значения выделенной культуры требуется тщательный клинический разбор пациента. Выделение культуры НТМБ может происходить по следующим причинам:

1. Случайное загрязнение диагностического материала НТМБ из окружающей среды, например, при использовании недостаточно продезинфицированных медицинских инструментов (*M. fortuitum*), водопроводной воды (*M. gordonae*). В этих случаях выделение НТМБ следует расценивать как контаминацию [1, 2].

2. Носительство НТМБ. Представляется как состояние, когда НТМБ выявляются из диагностического материала бактериоскопическим или культуральным методом, но у человека отсутствуют признаки заболевания. Бактерионосительство рассматривается как первая брешь в реактивности макроорганизма, когда инфекционный процесс возникает и протекает бессимптомно на доклиническом уровне [1, 2, 5].

3. Заболевание микобактериозом.

В связи с тем, что выделение НТМБ из патологического материала не всегда отражает их этиологическую значимость, для оценки клинического значения микроорганизмов необходимо знать критерии постановки диагноза микобактериоза. Различные авторы предлагают разные критерии диагностики [1, 2], в основе большинства из них положен принцип многократного массивного выделения одного и того же вида НТМБ (однократное выделение из обычно стерильных биологических жидкостей), отсутствие у пациента МБТ, наличие соот-

ветствующих клинических и рентгенологических симптомов заболевания, клиническое прогрессирование заболевания на фоне интенсивной противотуберкулезной терапии.

Обращает на себя внимание значительное увеличение выделения НТМБ среди пациентов в Гомельской области. По данным годовых отчетов до 2009 года НТМБ не выделялись вообще либо выделялись в количестве не более 1–2 культур в год. За 2009 год выделено 5 культур НТМБ, в течение 2010 года — 28 культур. Ввод в действие в мае 2009 года в бактериологической лаборатории УГОТКБ автоматизированной системы детекции микобактерий ВАСТЕС MGIT 960 с использованием щадящих методов предпосевной обработки материала при помощи N-ацетил-L-цистеин-NaOH способствовал резкому увеличению количества выделенных культур НТМБ. Классическая «жесткая» предпосевная обработка 10 % натрием фосфорнокислым трехзамещенным при посеве на плотные питательные среды снижает возможность выделения НТМБ, так как они более чувствительны к стандартному режиму экспозиции, чем МБТ. Кроме того, жидкая питательная среда Midlbrook в системе ВАСТЕС является более селективной для роста НТМБ и позволяет увеличить высеваемость микобактерий из диагностического материала на 15–20 %.

Выделение НТМБ на системе ВАСТЕС позволило повысить выделение НТМБ и на плотных средах в связи с повышением настороженности врачей-бактериологов в плане микобактериозов, увеличением количества типизируемых культур, расширением спектра биохимических и культуральных тестов видовой идентификации, появлением возможности исследования видовой принадлежности выделенных культур при помощи молекулярно-генетических методов в РНПЦ «Пульмонологии и фтизиатрии».

Ожидаемо большая доля ВИЧ-инфицированных среди больных микобактериозами, соответствующая данным иностранных авторов [5], не подтвердилась. Это связано с тем, что пациенты с ВИЧ, находясь в популяции с высоким уровнем инфицированности населения МБТ, быстрее и легче заражаются именно туберкулезными микобактериями, как более патогенными. В Гомельской области НТМБ чаще выделяются от социально адаптированных пациентов среднего и старшего возраста с предшествующими деструктивными и обструктивными болезнями легких (хронические бронхиты, эмфизема, бронхоэктазы, ХОБЛ), излеченных от туберкулеза, пациентов с новообразованиями. По данным анализа историй болезни доля таких больных составила 86 %.

Проблемой является отсутствие настороженности у лечащих врачей в отношении микобактериозов. Во всех случаях диагноз был выставлен только благодаря выделению культур НТМБ. До сих пор нет четких критериев постановки диагноза микобактериоза, неясно, в каких отделениях должны лечиться больные, амбулаторно или стационарно, за чей счет должны приобретаться противотуберкулезные препараты и дорогостоящие антибиотики широкого спектра действия, которые пациенты должны принимать от 6 месяцев до 2 лет.

Выводы

1. Увеличение количества НТМБ, выделяемых из диагностического материала пациентов в Гомельской области, ставит перед фтизиобактериологической службой задачу быстрой и точной видовой идентификации микобактерий.

2. Необходимо шире использовать методы автоматической детекции МБ с помощью системы ВАСТЕС, что позволяет повысить высеваемость НТМБ и значительно сократить время получения результата посева диагностического материала, а, следовательно, и сократить сроки идентификации МБ.

3. Культуральный метод на плотных средах с последующей культуральной и биохимической идентификацией сохраняет свою актуальность, но должен быть дополнен молекулярно-генетическими методами для быстроты и большей точности.

4. Оснащение лабораторий противотуберкулезных учреждений областного уровня системами ПЦР-анализа позволит ускорить постановку правильного диагноза и своевременно назначить лечение в соответствии с видовой принадлежностью возбудителя.

5. Очевидна необходимость разработки руководств, инструкций по применению с целью повышения уровня знаний врачей по диагностике и лечению заболеваний, вызываемых НТМБ, определения четких ориентиров в вопросах бактериологической и клинической диагностики, тактики ведения и лечения больных микобактериозами.

ЛИТЕРАТУРА

1. Оттен, Т. Ф. Микобактериоз / Т. Ф. Оттен. — СПб., 2005.
2. Литвинов, В. И. Нетуберкулезные микобактерии / В. И. Литвинов, М. В. Макарова, М. А. Краснова. — М., 2008.
3. Возможности и перспективы бактериологической диагностики микобактериоза / Т. Ф. Оттен [и др.] // Проблемы туберкулеза и болезней легких. — 2004. — № 5. — С. 32–35.
4. Деструктивные поражения легочной ткани, вызванные нетуберкулезными микобактериями Т. Ф. Оттен [и др.] // Проблемы туберкулеза и болезней легких. — 2003. — № 9. — С. 16–19.
5. Afessa, B. Mycobacterial and nonbacterial pulmonary complications in hospitalized patients with human immunodeficiency virus infection / B. Afessa // BMC Pulm. Med. — 2001. — Vol. 1. — P. 32–38.

УДК 579.835:616–07

ДИАГНОСТИКА ИНФЕКЦИИ *HELICOBACTER PYLORI* В ЭНДОСКОПИЧЕСКОМ ОТДЕЛЕНИИ ГУ «РНПЦ РМ и ЭЧ»

Борсук А. Д., Ольховик И. В., Малаева Е. Г.

Государственное учреждение
«Республиканский научно-практический центр
радиационной медицины и экологии человека»
Учреждение образования
«Гомельский государственный медицинский университет»
г. Гомель, Республика Беларусь

В связи с широкой распространенностью инфицирования *Helicobacter pylori* [1], а также с тем, что данный микроорганизм признан канцерогеном первого порядка, диагностика и лечение хеликобактериоза являются одними из важных задач гастроэнтерологии [2]. Поэтому разработка алгоритмов ранней и достоверной диагностики хеликобактериоза позволит улучшить результаты лечения и диспансерного наблюдения пациентов с данной патологией [3].

В настоящее время существует большое количество методов определения инфекции *Helicobacter pylori* [4], однако ни один из них нельзя считать универсальным. Каждый метод исследования имеет свои преимущества и недостатки, различия в чувствительности и специфичности.

Нами была проведена сравнительная оценка результатов эндоскопических и гистологических заключений 326 пациентов с патологией верхних отделов желудочно-кишечного тракта, обследованных в эндоскопическом отделении ГУ «РНПЦ РМ и ЭЧ» в 2010 г. Пациентам проводилась эзофагогастродуоденоскопия с биопсией слизистой оболочки желудка для экспресс-диагностики хеликобактериоза и гистологического исследования.

Экспресс-диагностика проводилась с помощью уреазного теста, представляющего собой водный раствор карбамида, изменяющего цвет в присутствии уреазы, вырабатываемой микроорганизмом. Для этого в раствор помещались 2 биоптата слизистой оболочки антрального отдела желудка с последующей качественной (изменение цвета) и количественной (скорость и интенсивность окрашивания) оценкой. Результаты регистрировались в протоколе эндоскопического осмотра.

Гистологически определялось наличие бациллярных форм микроорганизма в препаратах, окрашенных по Романовскому-Гимзе.

По возрастным группам пациенты распределились следующим образом: 11–20 лет — 13 человек (3,99 %), 21–30 лет — 68 (20,86 %), 31–40 лет — 61 (18,71 %), 41–50 лет — 74 (22,70 %), 51–60 лет — 75 (23,01 %), 61–70 лет — 26 (7,97 %), 71–80 лет — 9 (2,76 %). Из них мужчин — 125 (38,34 %), женщин — 201 (61,66 %).