

system for drug susceptibility testing of Mycobacterium tuberculosis. J. Clin. Microbiol. 39:4440–4444.

7. Crudu V.; Stratan E.; Romancenco, E.; Moraru, N.; Turcan N.; Allerheiligen V.; Hillemann A. *First Evaluation of an Improved Assay for Molecular Genetic Detection of Tuberculosis as Well as Rifampin and Isoniazid Resistances.* Journal of Clinical Microbiology. 2012, v. 50, nr. 4, 1264–1269. ISSN: 0095-1137.

8. Crudu V.; Stratan E.; Romancenco, E.; Moraru, N.; Turcan N.; Allerheiligen V.; Hillemann A. *The new version of molecular genetics methods for detection of tuberculosis and resistance to Rifampicin and Isoniazid.* Bulletin of the Academy of Science of Republic of Moldova, 4(36) 2012, ISSN 1857-0011.

9. Solima M. A. Sabeel, Mohamed Ahmed Salih, Manasik Ali, Salah-Eldin EL-Zaki Nadir Abuzeid, Zeinab

Abubaker Mohammed Elgadi, Hisham N. Altayb, Asrar M. A. Elegail, Nuha Y. Ibrahim, and Bahaeldin K. Elamin. *Phenotypic and Genotypic Analysis of Multidrug-Resistant Mycobacterium tuberculosis Isolates from Sudanese Patient Tuberculosis Research and Treatment.* V.2017, ID 8340746, 6 pages; <https://doi.org/10.1155/2017/8340746>

10. Garfein R. S., Catanzaro D. G. Rodwel T. C, Avalos E., R. L. Jackson, J. Kaping, H. Evasco, C. Rodrigues, V. Crudu, S-Y. G. Lin, E. Groessel, N. Hillery, A. Trollip, T. Ganiats, T. C. Victor, K. Eisenach, F. Valafar, J. Channick, L. Qian, A. Catanzaro. *Phenotypic and genotypic diversity in a multinational sample of drug-resistant Mycobacterium tuberculosis isolates.* The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease 04/2015; 19(4). DOI:10.5588/ijtld.14.0488

УДК: 616.24-002.5-089.8-078

<https://doi.org/10.52692/1857-0011.2021.1-69.09>

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ МИКОБАКТЕРИЙ ТУБЕРКУЛЕЗА В ОПЕРАЦИОННОМ МАТЕРИАЛЕ

Мария УРАКСИНА, Пётр РОГОЖКИН,
Екатерина ЕРЕМЕНКО, канд. мед. наук, доцент

ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет»
Минздрава России. г. Самара, Россия

e-mail: mmuraxina@gmail.com

Резюме

В настоящее время при улучшении эпидемических показателей по туберкулезу, количество больных с лекарственно-устойчивыми формами туберкулеза увеличивается, что усложняет и увеличивает сроки лечения таких пациентов. Целью работы является изучение лекарственной устойчивости (ЛУ) микобактерий туберкулеза, полученных из операционного материала. Материалы и методы: в исследование было включено 74 пациента с радикальными и диагностическими операциями на органах грудной клетки. Все пациенты были обследованы стандартными методами: микроскопия мокроты и БАЛЖ при бронхоскопии (при проведении), молекулярно-генетические методы, посев на плотные и жидкие питательные среды. Диагноз туберкулез был подтвержден морфологически у всех пациентов при гистологическом исследовании операционного материала. При анализе результатов лекарственной устойчивости обнаружено, что среди впервые выявленных больше половины пациентов (59,3%) имели множественную (44,6%) $p < 0,005$ и широкую лекарственную устойчивость (14,7%) $p = 0,003$, при этом у 74,5% ($n = 35/47$) до операции не были выявлены *Mycobacterium tuberculosis* (МБТ) в мокроте. Представлена частота развития лекарственной устойчивости к противотуберкулезным препаратам первого и резервного ряда, структура лекарственной устойчивости в зависимости от группы диспансерного учета. Выполнен сравнительный анализ тестов лекарственной чувствительности (ТЛЧ МБТ), выделенных из мокроты до операции и из операционного материала. Результаты исследования показали высокий процент лекарственной устойчивости МБТ, полученных в операционном материале у пациентов с отрицательными анализами на МБТ. Более половины пациентов, не получающих антибактериальной терапии до операции, имеет МЛУ и ШЛУ, что предполагает высокую региональную первичную лекарственную устойчивость микобактерий туберкулеза.

Ключевые слова: туберкулез, лекарственная устойчивость, микобактерия туберкулеза, операционный материал.

Summary. Determination of drug resistance of Mycobacterium tuberculosis in the operating material

Currently, with the improvement of epidemic indicators for tuberculosis, the number of patients with drug-resistant forms of tuberculosis is increasing, which complicates and prolongs the treatment of such patients. The aim of the work is to study the drug resistance of Mycobacterium tuberculosis obtained from surgical material. Materials and methods: the study included 74 patients with medical and diagnostic operations on the chest organs. All patients were examined by standard methods: sputum and BAL microscopy with bronchoscopy (during the procedure), molecular genetic methods, culture on dense and liquid nutrient media. The diagnosis of tuberculosis was confirmed morphologically in all patients by histological examination of surgical material. When analyzing the results of drug resistance, it was found that among the newly identified patients, more than half (59.3%) had multiple (44.6%) $p < 0.005$ and extensively drug resistance (14.7%) $p = 0.003$. At the same time, 74.5% ($n = 35/47$) of patients had no MBT in sputum before surgery. The frequency of development of drug resistance to first-and reserve-line antibacterial drugs, the structure of drug resistance depending on the group of dispensary registration is presented. A comparative analysis of drug sensitivity testing of MBT isolated from sputum before surgery and from surgical material was performed. The results of the study showed a high percentage of MBT drug resistance obtained in the operating material in patients with negative MBT tests. More than half of the patients who did not receive antibacterial therapy before surgery have multi drug resistance and extensively drug resistance, which suggests a high regional primary drug resistance of Mycobacterium tuberculosis.

Key-words: tuberculosis, drug resistance, mycobacterium tuberculosis, surgical material.

Rezumat. Determinarea rezistenței la medicamente a Mycobacterium tuberculosis în materialul post-operator

În prezent, odată cu îmbunătățirea indicatorilor epidemiologici a tuberculozei, numărul pacienților cu forme de tuberculoză rezistente la medicamente este în creștere, ceea ce complică și prelungește tratamentul acestor pacienți. Scopul lucrării este de a studia rezistența la medicamente a Mycobacterium tuberculosis obținută din material chirurgical. Materiale și metode: Studiul a inclus 74 de pacienți cu operații medicale și diagnostice pe organele toracice. Toți pacienții au fost examinați prin metode standard: spută și microscopie BAL cu bronhoscopie (în timpul procedurii), metode genetice moleculare, cultură pe medii nutritive dense și lichide. Diagnosticul de tuberculoză a fost confirmat morfologic la toți pacienții prin examinarea histologică a materialului chirurgical. La analiza rezultatelor rezistenței la medicamente, s-a constatat că, printre pacienții nou identificați, mai mult de jumătate (59,3%) au avut rezistențe multiple (44,6%) $p < 0,005$ și rezistență la medicamente pe scară largă (14,7%) $p = 0,003$. În același timp, 74,5% ($n = 35/47$) dintre pacienți nu aveau MBT în spută înainte de operație. Se prezintă frecvența dezvoltării rezistenței la medicamente la medicamentele antibacteriene de primă necesitate și de rezervă, structura rezistenței la medicamente în funcție de grupul de înregistrare la dispensar. A fost efectuată o analiză comparativă a testării sensibilității la medicamente a MBT izolat din spută înainte de operație și din material chirurgical. Rezultatele studiului au arătat un procent ridicat de rezistență la medicamente MBT obținut în materialul de operație la pacienții cu teste MBT negative. Mai mult de jumătate dintre pacienții care nu au primit terapie antibacteriană înainte de intervenția chirurgicală au rezistență multiplă la medicamente și rezistență la medicamente pe scară largă, ceea ce sugerează o rezistență la medicamente primară regională ridicată a Mycobacterium tuberculosis.

Cuvinte-cheie: tuberculoză, rezistență la medicamente, mycobacterium tuberculosis, material chirurgical.

Введение. В России отмечается снижение заболеваемости туберкулёзом лёгких, однако вопросы повышения эффективности его лечения остаются актуальными. В современном мире быстрая и точная диагностика играет решающую роль в точном и правильном установлении диагноза. Основными методами подтверждения диагноза «туберкулез» остаются сочетание микроскопического и бактериологического методов выявления МБТ. Больные без бактериовыделения, с неизвестной лекарственной чувствительностью МБТ, могут длительно получать неадекватную антибактериальную терапию [1, 2]. В последнее десятилетие получают распространение молекулярно-генетические методы (МГМ) выявления МБТ, таким методом является применяемый в настоящее время GeneXpert MTB/RIF, который в том числе определяет в исследуемом материале генетические маркеры МБТ и наличие мутаций, ассоциированных с МЛУ [3, 4, 5, 11].

Рост количества больных с МЛУ обуславливает возрастающую потребность в хирургических методах лечения туберкулеза. Хирургические вмешательства применяются не только при неэффективности химиотерапии, но и в случае отсутствия эффекта от лечения при малых формах туберкулеза с отрицательными анализами мокроты на МБТ, а также с диагностической целью. При сравнительном анализе данных ЛЧ микобактерий туберкулеза, выделенных из мокроты и операционного материала, отмечается различие, в ряде случаев до 48,3% [6-10]. Использование данных о ЛЧ непосредственно в очагах туберкулезного поражения являются перспективными в определении комплексного подхода к тактике ведения больных туберкулезом [12].

Целью исследования являлось оценить спектр лекарственной устойчивости микобактерий туберкулеза, полученных из резецированных участков легких больных туберкулезом.

Материалы и методы. В исследование включено 74 пациента, которым в 2016–2018 г.г., проводились радикальные и диагностические операции на органах грудной клетки. Всем пациентам до операции проводились 3-хкратно микроскопия мокроты по Цилю-Нильсену и БАЛЖ при бронхоскопии (при проведении), молекулярно-генетические методы GeneXpert MTB/RIF, посев на стандартные плотные среды и жидкие (ВАСТЕС/MGIT). У всех пациентов диагноз туберкулез был подтвержден морфологически, при гистологическом исследовании операционного материала. Операционный материал подвергался бактериологическому исследованию.

ЛЧ определяли как в мокроте, так и в резецированной ткани. Тест лекарственной чувствительности (ТЛЧ) проводили на плотных и жидких питательных средах с антибиотиками в минимальной ингибирующей концентрации. На плотных средах ТЛЧ проводился на среде Левенштейна-Йенсена с добавлением ПТП как на препараты основного ряда (Стрептомицин, Изониазид, Рифампицин, Этамбутол), так и резервного ряда (Канамицин, Амикацин, Этионамид, Капреомицин, Циклосерин, Офлоксацин, Моксифлоксацин, Левофлоксацин, ПАСК). ТЛЧ на жидких средах проводился на системе BDBАСТЕС™ MGIT™ 960 с использованием наборов ВАСТЕС MGIT 960 SIRE Kit (тест на чувствительность к стрептомицину, изониазиду, рифампицину, этамбутолу) и ВАСТЕС MGIT 960 PZA Kit (тест на чувствительность к пиразинамиду). Для определения чувствительности к препаратам резервного ряда готовились растворы антибиотиков из чистой субстанции, которые добавлялись в пробирку ВАСТЕС™ MGIT™ 960 с жидкой средой Миддлбука, в результате чего достигалась рабочая концентрация препарата.

В группу исследования включались пациенты с выявлением *Mycobacterium tuberculosis complex*. При анализе лекарственной устойчивости (ЛУ) определяли: монорезистентность, полирезистентность, множественную лекарственную устойчивость МБТ (МЛУ) и широкую лекарственную устойчивость (ШЛУ).

Результаты. Средний возраст пациентов составил 36,0 лет \pm 1,1 года, мужчин было 35 (47,3%), женщин 39 (52,7%). Среди оперированных были диагнозы: туберкулома 70,3% (n = 52), фиброзно-кавернозный туберкулез 5,4% (n = 4), инфильтративный туберкулез 6,7% (n = 5). Оперативные вмешательства выполнялись с диагностической целью 13 больным (17,6%), антибактериальная терапия до операции им не проводилась.

По данным лабораторного исследования до операции микобактерии туберкулеза (МБТ) были

выявлены в мокроте у 16 пациентов (21,6%). Наличие распада в легочной ткани при макроскопической оценке операционного материала определялось в 41,9% (n = 31), в 58,1% (n = 43) определялся казеоз без полости распада. Пациенты, получавшие химиотерапию до операции, были разделены на группы: впервые выявленные – 63,5% (n = 47), рецидив туберкулеза легких – 13,5% (n = 10), хроническое течение туберкулеза – 5,4% (n = 4), дифференциально-диагностические – 17,6% (n = 13). Впервые выявленных больных было большинство (p < 0,05).

Всем пациентам с установленным диагнозом «туберкулез» (n = 61) до операции проводилась специфическая антибактериальная терапия по стандартным режимам химиотерапии: 1 режим – 70,3% (n = 52), 4 режим – 10,8% (n = 8), индивидуальный режим химиотерапии – 1,3% (n = 1).

Длительность с момента выявления заболевания до оперативного вмешательства у пациентов с диагнозом туберкулома в среднем составила $8 \pm 1,2$ месяца, с диагнозом инфильтративный туберкулез $3 \pm 0,8$ месяца, фиброзно-кавернозный туберкулез $16 \pm 1,1$ месяца. В группе больных (n = 13) которым оперативные вмешательства выполнялись с диагностической целью, длительность с момента выявления заболевания до операции составила менее 1,6 месяца.

В операционном материале выявлена ЛУ МБТ к антибактериальным препаратам первого ряда: к изониазиду в 90,5% (n = 67), к рифампицину в 85,1% (n = 63), к пиразинамиду в 44,1% (n = 33), к этамбутолу в 41,9% (n = 31), к стрептомицину 93,2% (n = 69). Частота развития устойчивости к препаратом резервного ряда: этионамид – 78,4% (n = 58), канамицин – 55,4% (n = 41), офлоксацин – 37,8% (n = 28), моксифлоксацин – 31% (n = 23), амикацин – 16,2% (n = 12), левофлоксацин – 10,8% (n = 8), капреомицин – 9,6% (n = 7), ПАСК – 4,1% (n = 3), циклосерин – 0%.

Определены виды ЛУ: МЛУ – 68,9% (n = 51), ШЛУ – 17,8% (n = 13), полирезистентность – 2,74% (n = 2), монорезистентность – 4,1% (n = 3). Отсутствие лекарственной устойчивости было в 6,85% (n = 5).

При анализе результатов ЛУ по группам диспансерного учета, можно отметить, что среди впервые выявленных больше половины пациентов (59,3%) имели МЛУ (44,6%) и ШЛУ (14,7%), при этом в этой группе у 74,5% (n = 35/47) до операции не были выявлены МБТ в мокроте.

В группе с рецидивом туберкулеза из 10 пациентов 90% (n = 9) имели МЛУ. Все пациенты в

Таблица 1

**Сравнительный анализ ТЛЧ МБТ, выделенных из мокроты до операции
и из операционного материала (n=9)**

№	ТЛЧ МБТ выделенных из мокроты до операции	ТЛЧ МБТ выделенных из операционного материала	Разница в спектре устойчивости (количество АБП)
1	H,S	H, S, Am, Cm, E, Eto, Km, OfI,	+6
2	H,R,S,Am,Cm, Eto, Km	H,R,S,Am,Cm, Eto, Km,	0
3	H,R,S, Km	H, R, S Km, E, Eto, Mfx, OfI,	+ 4
4	H,R,E,S	H, R, E, S, Eto, Km, OfI,	+3
5	H,R,S, Km	H,R,S,Km, OfI,	+1
6	H,R,E,S	H, R,E, S, Eto, Z,	+3
7	R,H,S,Eto, Of, Km	R, H, S, Eto, OfI, Km, Mfx, E,	+2
8	R,H,E,S, OfI, Eto	R, H, E, S, OfI, Eto, Mfx,	+1
9	H,R,S	H, R,S, Km,	+1

Примечание: H – изониазид, R – рифампицин, Z – пиразинамид, E- этамбутол, S- стрептомицин, Km – канамицин, Am – амикацин, Eto – этионамид, Cm – капреомицин, Lfx- левофлоксацин, Mfx – моксифлоксацин, OfI – Офлоксацин, Cs – циклосерин, PAS – аминосалициловая кислота.

этой группе были с диагнозом туберкулома, МБТ до операции в мокроте у них не выявлялись.

В группе с хроническим течением туберкулеза все 4 пациента имели МЛУ (n = 2) и ШЛУ (n = 2). Пациенты в данной группе были с диагнозом – фиброзно-кавернозный туберкулез и до операции у всех выявлены МБТ в мокроте и определена ЛУ.

В группе диагностических больных (n = 13), которые не получали специфическую антибактериальную терапию до операции, больше половины (53,8%, n = 7/13) имели МЛУ, лекарственная чувствительность была сохранена только в 30,8% (n = 4/13). Количество больных с сохраненной ЛЧ наибольшее в диагностической группе.

У девяти пациентов выполнен сравнительный анализ ТЛЧ МБТ, выделенных из мокроты до операции и из операционного материала (Таблица 1).

Литература

1. Васильева И.А., Белиловский Е.М., Борисов С.Е., Стерликов С.А. *Заболеваемость, смертность и распространенность как показатели бремени туберкулеза в регионах ВОЗ, странах мира и в Российской Федерации. Часть I. Заболеваемость и распространенность туберкулеза. Туберкулез и болезни легких* 2017;95(6):9-21.

2. Родионова Ю.Д., Гусякова О.А., Лямин А.В., Бородулина Е.А., Козлов А.В. *Оценка влияния условий хранения мокроты на витальные свойства микобактерий туберкулеза. Туберкулез и болезни легких* 2017;95(1):42-46.

Обсуждение и выводы. Комплексное лабораторное исследование резецированного участка легкого, пораженного туберкулезом, позволило получить данные об особенностях патологического процесса, возбудителя заболевания, его видовой принадлежности. Определение ЛЧ к ПТП в операционном материале выявило различия до 90% с результатами мокроты у бактериовыделителей и позволило определить ЛУ МБТ у пациентов с отрицательным результатом мокроты на МБТ. Лекарственно-устойчивые штаммы МБТ у диагностических пациентов, не получавших химиотерапии до операции, составили почти 70%, при этом более 50% имели МЛУ и ШЛУ. Полученный анализ спектра ЛУ МБТ туберкулеза из операционного материала позволяет изменить схемы послеоперационной химиотерапии, формируя персонализированный подход к лечению (индивидуальный режим химиотерапии).

3. Бадлеева М.В., Басаева А.Г., Дементьева К.Н. *Методы выявления микобактерий и диагностика туберкулеза. Научные исследования и современное образование* 2017;:33-35.

4. Бородулина Е.А., Инькова А.Т., Бородулин Б.Е., Повалыева Л.В. *Пути оптимизации выявления туберкулеза в пульмонологическом отделении. Туберкулез и болезни легких* 2018;96(5):22-26.

5. Steingart KR, Sohn H, Schiller I, Kloda LA, Boehme CC, Pai M, Dendukuri N. *Xpert® TB/RIF assay for pulmonary tuberculosis and rifampicin resistance in*

adults. Cochrane Data base Syst Rev. 2013;1:CD009593. DOI: 10.1002/14651858.CD009593.

6. Некрасов Е.В., Анастасов О.В., Роскошных В.К., Задорожный А.И., Губин Е.А., Филинюк О.В. *Бактериологическая характеристика мокроты и операционного материала у больных, прооперированных по поводу туберкулеза легких*. Российский медицинский журнал 2011;(6):45-47.

7. Белоусова К.В., Кравченко М.А., Бердников Р.Б., Вахрушева Д.В., Скорняков С.Н., Еремеева Н.И. *Сравнительный анализ клинически значимых биологических свойств мусобактериум tuberculosis, выделенных из резецированных участков легких и респираторного материала*. Фундаментальные исследования 2014; 9(11): 2452-2455

8. Man M. A., Nicolau D. *Surgical treatment to increase the success rate of multidrug-resistant tuberculosis*. European Journal of Cardio-Thoracic Surgery 2012;42(1): e9-e12.

9. Wang H., Lin H., Jiang G. *Pulmonary resection in the treatment of multidrug-resistant tuberculosis: a retrospective study of 56 cases*. The Annals of thoracic surgery 2008; 86(5): 1640-1645.

10. Pontali E. et al. *Rediscovering high technology from the past: thoracic surgery is back on track for multi-drug-resistant tuberculosis*. Expert review of anti-infective therapy 2012;10(10):1109-1115.

11. Яблонский П.К., Васильев И.В., Соколович Е.Г. *Роль хирургии в диагностике и лечении туберкулеза легких*. Вестник Санкт-Петербургского университета. Медицина. 2016; 3: 64-70.

12. Рогожкин П. В., Бородулина Е. А. *Отдаленные результаты лечения больных туберкулезом легких, перенесших радикальную резекцию*. Туберкулез и болезни лёгких. 2018; 96 (3): 24-28.

УДК: 616-002.5-06:616.98:578.828.6

<https://doi.org/10.52692/1857-0011.2021.1-69.10>

СОВРЕМЕННЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ ДИАГНОСТИКИ ТУБЕРКУЛЕЗА У ПАЦИЕНТОВ С ВИЧ-ИНФЕКЦИЕЙ

Алёна КУЗНЕЦОВА, Елена БОРОДУЛИНА, др. мед. наук., профессор

ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет»
Минздрава России, г. Самара, Россия

e-mail: alena-suetina@mail.ru

Резюме

Проблема неуклонного роста ВИЧ-ассоциированного туберкулеза становится все более актуальной в последние годы в России. Диагностика туберкулеза особенно затруднена на стадии выраженного иммунодефицита. Цель исследования. оценить эффективность метода T-SPOT®.TB в диагностике туберкулезной инфекции у пациентов с ВИЧ-инфекцией. Материалы и методы. В период за 2019-2020 гг. обследовано 396 пациентов, состоящих на учете в СПИД-центре. Критериями включения в данное исследование были возраст 18 лет и старше, диагноз ВИЧ-инфекция, диспансерное наблюдение в СПИД-центре. Результаты. Установлено, что в группе с положительным T-SPOT®.TB и изменениями на КТ верифицированный диагноз туберкулеза составил 90,7% от группы с наличием обоих признаков и 75,5% из лиц с положительным результатом T-SPOT®.TB. Среди лиц с положительным результатом T-SPOT®.TB. отсутствие изменений на КТ составило 16,8%, таким пациентам поставлен диагноз «латентная туберкулезная инфекция». Заключение. в диагностическом комплексе наблюдения пациентов с ВИЧ-инфекций T-SPOT®.TB может использоваться как скрининг метод, позволяющий в последующем не только верифицировать диагноз, но и выявить латентный туберкулез.

Ключевые слова: T-SPOT®.TB, туберкулез, микобактерии, диагностика, ВИЧ-инфекция, СПИД-центр.

Summary. Modern possibilities of diagnostics of tuberculosis in patients with HIV infection

The problem of the steady growth of HIV-associated tuberculosis has become increasingly urgent in recent years in Russia. Diagnosis of tuberculosis is particularly difficult at the stage of severe immunodeficiency. *Objective.* to evaluate the effectiveness of the T-SPOT® method.TB in the diagnosis of tuberculosis infection in patients with HIV infection. *Materials and methods.* in the period for 2019-2020, the T-SPOT®.TB results were analyzed in 396 patients. The criteria for inclusion in this study were the age of 18 years and older, the diagnosis of HIV infection, follow-up at the AIDS center. *Results.* in the group with a positive T-SPOT®.TB and changes on the computed tomogram, the verified diagnosis of tuberculosis was 90.7% of the group with both signs and 75.5% of those with a positive result T-SPOT®.TB. The group with a positive result T-SPOT®.TB and no changes on the CT scan is 16.8% of those with a positive result T-SPOT®.TB,