

БИОЛОГИЯ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МЕДИЦИНА

УДК 616-002.5-06:[616.98:578.828.6]-078

DOI: 10.17816/pmj382120-125

ОЦЕНКА ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ К ХИМИЧЕСКИМ ДЕЗИНФЕКТАНТАМ ШТАММОВ *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS*, ВЫДЕЛЕННЫХ ОТ ВИЧ-ИНФИЦИРОВАННЫХ И БОЛЬНЫХ МОНОТУБЕРКУЛЕЗНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ, В СРАВНЕНИИ С ЭТАЛОННЫМ ШТАММОМ

В.И. Сергевнин¹, О.В. Тукачева^{2*}, О.Р. Сибирякова², Е.В. Сармометов², П.Б. Азанов³

¹Пермский государственный медицинский университет имени академика Е.А. Вагнера,

²Пермский краевой центр по борьбе и профилактике со СПИД и инфекционными заболеваниями,

³ООО «Медицинская компания “Звезда”», г. Пермь, Россия

EVALUATION OF SENSITIVITY TO CHEMICAL DISINFECTANTS OF *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* STRAINS ISOLATED FROM HIV-INFECTED INDIVIDUALS AND PATIENTS WITH MONOTUBERCULOSIS INFECTION COMPARED TO THE REFERENCE STRAIN

V.I. Sergevnin¹, O.V. Tukacheva^{2*}, O.R. Sibiryakova², E.V. Sarmometov², P. B. Azanov³

¹E.A. Vagner Perm State Medical University,

²Perm Regional Center for Control and Prevention of AIDS and Infectious Diseases,

³LLC “Zvezda Medical Company”, Perm, Russian Federation

© Сергевнин В.И., Тукачева О.В., Сибирякова О.Р., Сармометов Е.В., Азанов П.Б., 2021

тел. +7 950 448 63 42

e-mail: olga_tukacheva@mail.ru

[Сергевнин В.И. – доктор медицинских наук, профессор кафедры эпидемиологии и гигиены; Тукачева О.В. (*контактное лицо) – врач-эпидемиолог; Сибирякова О.Р. – врач-бактериолог; Сармометов Е.В. – кандидат медицинских наук, главный врач; Азанов П.Б. – директор].

© Sergevnin V.I., Tukacheva O.V., Sibiryakova O.R., Sarmometov E.V., Azanov P.B., 2021

tel. +7 950 448 63 42

e-mail: olga_tukacheva@mail.ru

[Sergevnin V.I. – MD, PhD, Professor, Department of Epidemiology and Hygiene; Tukacheva O.V. (*contact person) – epidemiologist; Sibiryakova O.R. – bacteriologist; Sarmometov E.V. – Candidate of Medical Sciences, chief physician; Azanov P.B. – Director].

Цель. Изучить чувствительность к химическим дезинфектантам *Mycobacterium tuberculosis*, выделенных от ВИЧ-инфицированных и больных монотуберкулезом, в сравнении с эталонным штаммом *Mycobacterium terrae*.

Материалы и методы. Изучена чувствительность 12 штаммов *M. tuberculosis*, выделенных от больных ВИЧ-ассоциированным туберкулезом ($n = 6$) и монотуберкулезом ($n = 6$), к хлорсодержащему и содержащему четвертично-аммониевые соединения (ЧАС) дезинфектантам. В качестве эталонного использован штамм *M. terrae*. Посевы суспензий микроорганизмов, обработанных дезинфектантами, осуществляли на питательную среду Левенштейн – Йенсена и контролировали в течение трех месяцев.

Результаты. Через 1, 2, 3 месяца после обработки микроорганизмов ЧАС-содержащим дезинфектантом при отсутствии роста контрольного штамма отмечен рост *M. tuberculosis*, который у штаммов, выделенных от ВИЧ-инфицированных, был особенно интенсивным.

Выводы. Устойчивость возбудителей туберкулеза к дезинфицирующим препаратам может быть приобретенной. *M. tuberculosis*, выделенные от больных ВИЧ-ассоциированным туберкулезом, более устойчивы к дезинфицирующим средствам, чем изолированные от больных монотуберкулезной инфекцией.

Ключевые слова. *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium terrae*, чувствительность к дезинфектантам.

Objective. To study the sensitivity to chemical disinfectants against *Mycobacterium tuberculosis* isolated from HIV-infected individuals and patients with monotuberculosis in comparison to the reference strain of *Mycobacterium terrae*.

Materials and methods. The sensitivity of 12 *M. tuberculosis* strains isolated from patients with HIV-associated tuberculosis ($n = 6$) and monotuberculosis ($n = 6$) to chlorine-containing and quaternary ammonium compound (QAC) disinfectants was studied. The *M. terrae* strain was used as a reference. Seedings of microbial suspensions treated with disinfectants on the culture medium Levenshtein-Jensen were carried out and were monitored for 3 months.

Results. One, two, three months following the treatment of microorganisms with QAC-containing disinfectant in the absence of growth of the control strain, there was noted growth of *M. tuberculosis*, particularly intense in the strains isolated from HIV-infected persons.

Conclusions. Thus, the resistance of tuberculosis pathogens to disinfectants can be acquired.

M. tuberculosis strains isolated from patients with HIV-associated tuberculosis are detected to be more resistant to disinfectants than the strains isolated from patients with monotubercular infection.

Keywords. *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium terrae*, sensitivity to disinfectants.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время следует считать доказанным возможность приобретения устойчивости к дезинфицирующим средствам (ДС) многими видами бактерий, включая *Mycobacterium tuberculosis* [1, 2]. Это обстоятельство учитывается при выборе эффективных ДС и их ротации в медицинских организациях для предупреждения инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, включая туберкулез. В то же время отмечено широкое распространение туберкулеза у ВИЧ-инфици-

рованных. В 2018 г. заболеваемость туберкулезом среди ВИЧ-инфицированных составила 1764,3 на 100 тыс. пациентов, что в 59 раз выше, чем среди основного населения России (30 на 100 тыс. населения) [3]. У больных ВИЧ-инфекцией вероятность заболеть активным туберкулезом в 21 раз больше по сравнению с общей популяцией [4]. Отсюда очевидна необходимость оптимизации дезинфекционных противотуберкулезных мероприятий в медицинских учреждениях, обслуживающих пациентов с ВИЧ-ассоциированным туберкулезом. Между тем вопрос о формировании устойчи-

ности к ДС *M. tuberculosis*, изолированных от больных ВИЧ-ассоциированным туберкулезом, остается малоизученным.

Цель исследования – изучить чувствительность к химическим дезинфектантам *Mycobacterium tuberculosis*, выделенных от ВИЧ-инфицированных и больных монотуберкулезом, в сравнении с эталонным штаммом *Mycobacterium terrae*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для исследования были отобраны два ДС, обладающие согласно инструкции туберкулоцидным действием: хлорсодержащий препарат «Ж» и ЧАС-содержащий препарат «Б». Использовали концентрацию раствора и экспозицию одного из режимов применения препаратов для дезинфекции поверхностей в помещениях. Для ДС «Ж» была выбрана концентрация раствора 0,06 % и экспозиция 60 мин, для ДС «Б» – концентрация 1,0 % и экспозиция 30 мин.

Оценивали чувствительность штаммов *M. tuberculosis*, выделенных от 12 пациентов с инфильтративным (66,7 %) и диссеминированным (33,3 %) туберкулезом легких. Из 12 пациентов у 6 туберкулез был ассоциирован с ВИЧ-инфекцией, у 6 была монотуберкулезная инфекция. Были отобраны пациенты, у которых микобактерии оказались чувствительными к семи противотуберкулезным лекарственным препаратам (изониазид, рифампицин, этамбутол, канамицин, протионамид, офлоксацин, ПАСК). В качестве эталонного микроорганизма использовали сапрофитный музейный штамм *M. terrae*, полученный в лиофилизированном виде в Федеральном государственном бюджетном учреждении «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министер-

ства здравоохранения Российской Федерации (ФГБУ НЦЭСМП Минздрава России).

Оценку туберкулоцидной активности ДС проводили на базе бактериологической лаборатории Пермского краевого центра по борьбе и профилактике со СПИД и инфекционными заболеваниями суспензионным методом в соответствии с методическими указаниями [5].

Опыты осуществляли одномоментно. 12 культур *M. tuberculosis* были исследованы по отношению к ДС «Ж» и 12 культур – по отношению к ДС «Б», тест-штамм *M. terrae* был использован дважды – в первом и втором случаях. В качестве нейтрализатора для хлорсодержащего ДС использовали 1,0 % раствор тиосульфата натрия, для ЧАС-содержащего ДС – 1,0 % раствор сульфанола. Осуществляли контроль губительного действия ДС, полноты нейтрализации ДС, отсутствия антимикробного эффекта у нейтрализатора, количества микобактерий.

В соответствии с методическими указаниями готовили рабочую суспензию штамма *M. terrae* и *M. tuberculosis* в концентрации $1 \cdot 10^9$ КОЕ/мл. Далее рабочие суспензии микобактерий вносили в дезинфицирующие растворы в соотношении 1: 9, это обеспечивало концентрацию микроорганизмов порядка $1 \cdot 10^8$ КОЕ/мл. Перемешивали смеси и выдерживали соответствующую экспозицию. По окончании экспозиции проводили отбор трех проб по 1 мл, каждую из которых помещали в пробирку, содержащую 9 мл стерильного раствора нейтрализатора. Перемешивали пробы путем встряхивания в течение 5 мин на шейкере и осуществляли посев из них на поверхность питательной среды Левенштейн – Йенсена в пробирки (из каждой пробы по 0,1 мл в три пробирки). Посевы проб инкубировали при температуре 37 °С в течение трех месяцев. Результаты с

определением количества колоний микроорганизмов в исходном разведении суспензии учитывали через 1, 2, 3 месяца.

При статистической обработке результатов по каждому штамму микобактерий, выросшему на питательной среде, и в целом рассчитывали среднеарифметическое количество колоний бактерий и ошибку показателя с учетом среднего квадратичного отклонения. Оценку достоверности различий среднего количества колоний микобактерий проводили с помощью критерия Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты экспериментальных исследований показали (табл. 1), что после обработки *M. terrae* хлорсодержащим и ЧАС-содержащим дезинфектантами рост микроорганизмов на питательной среде в течение всего периода наблюдения (три месяца) отсутствовал, что говорит о соответствии препаратов заявленной туберкулоцидной эффективности.

Отсутствовал рост штаммов *M. tuberculosis*, изолированных от всех 12 пациентов после обработки 0,06 % раствором хлорсодержащего препарата «Ж». В то же время после обработки ЧАС-содержащим ДС выделенные от больных туберкулезом *M. tuberculosis* оказались жизнеспособными и дали рост на питательной среде в течение всего периода наблюдения. Исключение составил лишь штамм № 1346, изолированный от больного ВИЧ-ассоциированным туберкулезом, который после обработки препаратом «Б» не дал роста. Отсутствовал рост штамма микобактерий № 1354, выделенного от больного монотуберкулезной инфекцией, через месяц после обработки ДС. В остальных случаях среднее количество *M. tuberculosis* колебалось от $0,3 \pm 0,3$ до $6,7 \pm 2,6$. Повышенный уровень резистентности к химическому дезинфектанту *M. tuberculosis* по сравнению с эталонным штаммом *M. terrae* свидетельствует, что устойчивость возбудителей туберкулеза к ДС может быть приобретенной.

Таблица 1

Результаты оценки роста *M. tuberculosis* после обработки микробной суспензии раствором ЧАС-содержащего дезинфектанта

Общая характеристика штаммов <i>M. tuberculosis</i>	Номер штамма	Среднее количество выросших колоний <i>M. tuberculosis</i> после обработки микробной суспензии 1,0 % раствором «Б»		
		через месяц	через два месяца	через три месяца
<i>M. tuberculosis</i> , выделенные от больных ВИЧ-ассоциированным туберкулезом	1667	$0,3 \pm 0,3$	$0,5 \pm 0,4$	$2,3 \pm 1,9$
	1347	$1,1 \pm 0,5$	$3,2 \pm 1,2$	$4,8 \pm 1,8$
	1728	$3,9 \pm 1,4$	$4,9 \pm 1,8$	$6,1 \pm 2,3$
	1699	$5,2 \pm 2,0$	$5,3 \pm 2,1$	$6,7 \pm 2,6$
	1346	0	0	0
	1407	$4,8 \pm 1,9$	$5,1 \pm 1,9$	$6,1 \pm 2,3$
	Всего	$2,5 \pm 0,3$	$3,2 \pm 0,3$	$4,3 \pm 0,4$
<i>M. tuberculosis</i> , выделенные от больных монотуберкулезом	1683	$1,0 \pm 0,5$	$1,4 \pm 0,6$	$2,7 \pm 1,2$
	1662	$0,6 \pm 0,4$	$0,6 \pm 0,4$	$0,6 \pm 0,4$
	1354	0	$2,6 \pm 1,0$	$4,1 \pm 1,5$
	1414	$2,4 \pm 1,0$	$2,5 \pm 1,0$	$3,1 \pm 1,3$
	1364	$3,0 \pm 1,2$	$3,2 \pm 1,3$	$3,9 \pm 1,5$
	1645	$1,7 \pm 0,7$	$2,3 \pm 0,9$	$2,9 \pm 1,2$
Всего	$1,4 \pm 0,2$	$2,1 \pm 0,2$	$2,9 \pm 0,2$	

Результаты оценки роста *M. tuberculosis*, выделенных от больных ВИЧ-ассоциированным туберкулезом и монотуберкулезом, после обработки микробной суспензии раствором ЧАС-содержащего дезинфектанта

Сроки исследования от момента обработки микобактерий дезинфектантами, мес.	Среднее количество выросших колоний микобактерий после обработки микробной суспензии дезинфектантом, $M \pm m$		
	<i>M. tuberculosis</i> , выделенные от больных ВИЧ-ассоциированным туберкулезом	<i>M. tuberculosis</i> , выделенные от больных монотуберкулезом	$t; p$
1	2,5 ± 0,3	1,4 ± 0,2	2,8; 0,006
2	3,3 ± 0,3	2,1 ± 0,2	2,6; 0,01
3	4,3 ± 0,4	2,9 ± 0,2	2,7; 0,007

Сравнение результатов тестирования микобактерий, выделенных от ВИЧ-инфицированных и больных монотуберкулезом, позволило установить (табл. 2), что среднее количество выросших колоний *M. tuberculosis*, изолированных от больных ВИЧ-ассоциированным туберкулезом, через 1, 2, 3 месяца ($2,5 \pm 0,3$; $3,3 \pm 0,3$; $4,3 \pm 0,4$) было достоверно выше, чем выделенных от пациентов с монотуберкулезной инфекцией ($1,4 \pm 0,2$; $2,1 \pm 0,2$; $2,9 \pm 0,2$) ($p < 0,05$ во всех случаях). Эти данные указывают на то, что *M. tuberculosis*, выделенные от больных ВИЧ-инфицированным туберкулезом, более устойчивы к ДС, чем изолированные от больных монотуберкулезной инфекцией.

Выводы

1. Таким образом, от больных туберкулезом выделяются *M. tuberculosis*, обладающие по сравнению с эталонным штаммом *M. terrae* устойчивостью к химическим дезинфектантам. Эти данные свидетельствуют о том, что устойчивость возбудителей туберкулеза к дезинфицирующим препаратам может быть приобретенной.

2. Установлено, что *M. tuberculosis*, выделенные от больных ВИЧ-инфицирован-

ным туберкулезом, более устойчивы к ДС, чем изолированные от больных монотуберкулезной инфекцией.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Сергеевнин В.И., Маркович Н.И., Ключкина Т.В. и др. Чувствительность возбудителей гнойно-септических инфекций к дезинфектантам (предварительные итоги работы региональной референс-лаборатории). Дезинфекционное дело 2011; 4: 26–29.

2. Сергеевнин В.И., Гуляев Д.Л., Быков В.М. Сравнительная оценка чувствительности к химическим дезинфектантам *Mycobacterium tuberculosis*, выделенных от больных, и эталонного штамма *Mycobacterium terrae*. Дезинфекция. Антисептика 2014; 5 (3 (19)): 20–22.

3. Галкин В.Б., Еленкина Ж.В., Епифанцева Н.А. и др. ТБ/ВИЧ в Российской Федерации. Эпидемиология, особенности клинических проявлений и результаты лечения. М.: РИО ЦНИИОИЗ 2017; 52.

4. World Health Organization. Latent TB Infection : Updated and consolidated guidelines for programmatic management. Geneva: World Health Organization 2018.

5. МУ 3.5.2596-10. Методы изучения и оценки туберкулоцидной активности дезин-

фицирующих средств: методические указания. М. 2010.

REFERENCES

1. *Sergevnin V.I., Markovich N.I., Klyukina T.V. et al.* Sensitivity of pathogens of purulent-septic infections to disinfectants (preliminary results of the work of the Regional Reference Laboratory). *Dezinfekcionnoe delo* 2011; 4: 26–29 (in Russian).

2. *Sergevnin V.I., Gulyaev D.L., Bykov V.M.* Comparative assessment of sensitivity to chemical disinfectants *Mycobacteria tuberculosis* isolated from patients and the reference strain of *Mycobacterium terrae*. *Dezinfekcija. Antiseptika* 2014; 5 (3(19)): 20–22 (in Russian).

3. *Galkin V.B., Elenkina Zh.V., Epifantseva N.A. et al.* TB / HIV in the Russian Federation. Epi-

demiology, features of clinical manifestations and treatment results. Moscow: RIO TsNIOIZ 2017; 52 (in Russian).

4. World Health Organization. Latent TB Infection : Updated and consolidated guidelines for programmatic management. Geneva: World Health Organization 2018.

5. MU 3.5.2596-10. Study and assessment methods of tuberculocidal activity of disinfectants. Methodical guidelines. Moscow 2010.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Материал поступил в редакцию 28.01.2021