

Оригинальная статья

УДК616-03:08/614.33

ОЦЕНКА КОНТАМИНАЦИИ ВНЕШНЕЙ СРЕДЫ ПРОТИВОТУБЕРКУЛЕЗНОГО СТАЦИОНАРА КАК КОМПОНЕНТ СИСТЕМЫ ИНФЕКЦИОННОГО КОНТРОЛЯ

Н.И. Еремеева, М.А. Кравченко, Д.В. Вахрушева, В.В. Канищев, К.В. Бобровская, Т.В. Умпелева

ФГБУ «Уральский НИИ фтизиопульмонологии» Минздрава России,

г. Екатеринбург

EVALUATION OF THE ENVIRONMENT CONTAMINATION IN TB FACILITIES AS A COMPONENT OF INFECTION CONTROL SYSTEM

N. Eremeeva, M. Kravchenko, D. Vakhrusheva, V. Kanishev, K. Bobrovskaya, T. Umpeleva

Резюме

Представлены результаты апробации новой технологии бактериологического контроля наличия микобактерий туберкулеза (МБТ) на поверхностях объектов производственной среды противотуберкулезного стационара. Исследовано 137 смывов с поверхностей. В исследованном противотуберкулезном стационаре 96,4% поверхностей контаминированы ДНК возбудителя туберкулеза. Наиболее интенсивный уровень контаминации ДНК МБТ отмечен на дверных ручках. Далее в убывающем порядке располагаются поверхности полов, мебели и медицинского оборудования, уборочный инвентарь, руки, спецодежда и обувь персонала, обувь и одежда пациентов, сотовые телефоны персонала и руки пациентов. В 10,9% проб выделены культуры МБТ на питательных средах. В 32,1% проб количество ДНК МБТ было достаточным для определения мутаций устойчивости, что свидетельствует, о наличии не менее 100-300 клеток МБТ в исследуемой пробе смыва. Мутации устойчивости были обнаружены в 100% случаев в генах *rpoB*, *katG* и *gyrA*. Приведены результаты оценки эффективности растворов ДС «Лизарин» в отношении культур МБТ. Для обеспечения надежной дезинфекции в отношении возбудителя туберкулеза концентрация ДВ в рабочем растворе должна быть повышена в 10 раз (при 60 мин), по сравнению с минимальной, рекомендованной производителем. Включение новой технологии в систему мер Инфекционного контроля позволит выделить возбудителя туберкулеза и/или его ДНК с поверхностей объектов, в течение 1-2 суток установить потенциальную эпидемиологическую опасность исследуемого объекта и применить наиболее эффективные противоэпидемиологические мероприятия.

Ключевые слова: микобактерии туберкулеза, ДНК, нозокомиальный туберкулез, инфекционный контроль, лекарственная устойчивость.

Resume

Federal State Budgetary Institution Ural Research Institute for Phthisiopulmonology, Ministry of Public Health, Yekaterinburg, Russian Federation,

Abstract. This article represents the results of testing performed to evaluate a new bacterial management technology designed to control the presence of M.tuberculosis in the environment of TB facilities. As part of a study, 137 surfaces were swabbed. It was found that 96.4% of investigated surfaces were contaminated with M.tuberculosis DNA. Door handles had the highest level of M.tuberculosis DNA contamination. Next to it, in descending order, were placed floor surface, furniture and medical equipment, cleaning equipment, hands, clothes and footwear belonging to staff members, shoes and clothing belonging to patients, mobile phones belonging to staff members and hands of patients. M.tuberculosis cultured on digest medium were indicated in 10.9 % of samples. 32.1% samples contained DNA sufficient to detect mutation resistance which is adequate to at least 100-300 M.tuberculosis cells on a swab. Mutation resistance were found in 100% of cases in genes *rpoB*, *katG* and *gyrA* genes, therefore M.tuberculosis DNA isolated from the surface is DNA with multidrug-resistant mutation. Disinfectant "Lizarin" effectiveness against M .tuberculosis cultures was evaluated. Disinfectant concentration should be increased in 10 times to ensure anti-M.tuberculosis effect, compared with the minimum concentration recommended by the manufacturer. Implementation of new bacterial management technology would allow us to detect the TB activator and/or DNA from object surfaces as well as to establish, within 24 hours, the potential epidemic danger in order to apply the most effective epidemiology measures.

Key words: M.tuberculosis, DNA, nosocomial tuberculosis, infection control, drug resistance.

Введение

В последние годы все большую актуальность приобретает проблема возникновения

и распространения внутрибольничного туберкулеза среди пациентов и сотрудников, как противотуберкулезных стационаров, так и среди работников лечебно-профилактических учреждений общего профиля [12]. Согласно официальным данным число профессиональных заболеваний туберкулезом органов дыхания среди медицинского персонала в течение 2006-2010 г.г. в России оставался на стабильно высоком уровне и составлял от 155 до 202 случаев в год, что в 3-5 раз выше, чем остального населения [16, 17, 26, 31, 33].

Факты перекрестного заражения пациентов, находящихся на излечении в специализированных больницах, доказаны результатами молекулярно-эпидемиологических исследований. Сравнение геномов возбудителя, выявленного у одного и того же больного в разные сроки – при первичной регистрации и при рецидиве заболевания выявило значительные изменения генотипа у 16,6% больных, что может являться косвенным свидетельством нозокомиальной суперинфекции. Политературным данным вероятность нозокомиального инфицирования среди больных в отделении стационара составляет 8% [17].

Особую остроту проблеме придает тот факт, что нозокомиальный туберкулез в противотуберкулезных учреждениях – это, по большей части, - туберкулез с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ) возбудителя. Так, доля МЛУ туберкулеза у пациентов с рецидивирующей туберкулезной инфекцией в 2009 – 2010 г.г. составляла 33,4-34,7%, что более чем в 2 раза превышает данный показатель, определяемый при первичном заболевании – 15,7-17,1%. Данное обстоятельство, по мнению авторов, может объясняться как приобретенной лекарственной устойчивостью, так и следствием повторного заражения при предшествующей госпитализации [17, 26].

Необходимо отметить, что ведущим механизмом передачи туберкулезной инфекции является аэрозольный, помимо этого передача возбудителя инфекции может осуществляться и посредством вторичного аэрозоля (пылевой фазы). Крупные аэрозольные частицы во внешней среде довольно быстро оседают и смешиваются с частицами пыли. В результате трения эти частицы способны создать более тонкие фракции и в этом состоянии могут образовывать вторичный аэрозоль пылевой природы, способные проникать в терминальные отделы бронхов [26].

Кроме того, при отсутствии эффективной дезинфекции, микобактерии туберкулеза (МБТ) с множественной лекарственной устойчивости (МЛУ)

могут длительное время сохраняться на поверхностях различных предметов. В настоящее время проведение эффективной дезинфекции поверхностей в отношении возбудителя туберкулеза является трудно достижимой задачей, чему свидетельствуют публикации последних лет [4, 6 - 8, 10, 11, 18, 28 - 30].

Таким образом, в связи с возможностью длительного сохранения жизнеспособных МБТ на объектах внешней среды, при некачественной и/или неэффективной дезинфекции предметов в окружении источника инфекции, поверхности в помещениях и бытовые вещи, контаминированные микобактериями туберкулеза, являются резервуарами жизнеспособных МБТ во внешней среде. Учитывая вероятность образования вторичного инфекционного аэрозоля, такие предметы могут быть факторами передачи и причиной распространения нозокомиальной туберкулезной инфекции.

К вопросам распространенности и концентрации возбудителя туберкулеза в окружающей бактериальной среде ученые периодически возвращаются. И практически все констатируют, что помещения отделений фтизиатрического стационара загрязнены микобактериями [1, 14, 21, 22, 32, 34]. Концентрация циркулирующего в микробных аэрозолях возбудителя туберкулеза имеет прямую зависимость от числа бактериовыделителей, находящихся в больничном помещении. Так, М.Н. Зуевой в 1996 г. было выделено 58 культур мико-бактерий с различных предметов в противотуберкулезных учреждениях. Из них 14 культур принадлежало туберкулезным микобактериям, 24 культуры – к медленно растущим нетуберкулезным микобактериям и 20 культур – быстрорастущим сапрофитам [9]. А.С. Корначев в 2004-2005 г.г. применил ПЦР методы для определения уровня контаминации микобактериями туберкулеза объектов производственной среды, спецодежды и рук персонала в различных типах медицинских учреждений и показал, что наиболее интенсивный уровень контаминации микобактериями отмечался в бюро судебно-медицинской экспертизы и патологоанатомических отделениях больниц. Далее располагались противотуберкулезные диспансеры и многопрофильные стационары [12, 13].

Вышеизложенное диктует необходимость осуществления санитарно-бактериологического контроля за наличием возбудителя туберкулеза на поверхностях предметов, которые могут нести высокий риск в передаче внутрибольничного туберкулеза.

Однако в настоящее время санитарно-бактериологическая оценка контаминации внешней среды микобактериями туберкулеза

противотуберкулезного стационара не осуществляется, т.к. не регламентирована действующими нормативными документами. По нашему мнению, это связано с наличием ряда причин и одной из главных причин является то, что человек не видит глазом и не чувствует органами обоняния ни присутствия микроорганизма на объектах, ни результата воздействия на него дезинфектанта непосредственно при проведении дезинфекционных мероприятий. По этой причине результаты осуществляемого в ЛПУ мониторинга микробной обстановки и бактериологического контроля эффективности дезинфекционных мероприятий носят ретроспективный характер, ограничены по видовому составу микроорганизмов, и не проводятся в отношении МБТ.

Другая возможная причина отсутствия контроля за распространенностью МБТ на поверхностях производственной среды стационара – это «давление» представлений специалистов стран с низким бременем туберкулеза (5 случаев на 100 тыс. населения) и наличием всех мер инфекционного контроля, функционирующих на самом высоком уровне. Так, в Руководстве Всемирной организации здравоохранения по биологической безопасности исследований при туберкулезе, авторы отмечают, что после оседания на поверхностях капельные частицы вновь не переходят в аэрозольное состояние и считаются неинфекционными [25]. Таким образом, в данном Руководстве полностью упраздняется роль вторичного инфекционного аэрозоля, образующегося из капель мокроты, оседающих на поверхностях, в передаче нозокомиального туберкулеза. Не смотря на то, что подобные Руководства носят рекомендательный характер, вполне возможно точное следование этим рекомендациям нашими соотечественниками.

Третьей, не менее важной, причиной являются особенности культивирования возбудителя туберкулеза, такие как: длительность сроков инкубации МБТ; неравномерное распределение возбудителей в окружающей среде; заселенность объектов окружающей среды большим количеством сапрофитов, которые препятствуют росту МБТ на питательных средах; МБТ, как и другие виды микроорганизмов, в неблагоприятных условиях внутрибольничной среды могут переходить в некультивируемое состояние, образуя покоящиеся формы, но вполне жизнеспособные и сохраняющие вирулентность. Попадая в восприимчивый организм, они способны реверсировать в вегетативные формы, и вновь регистрироваться бактериологическими методами.

И последняя, вытекающая из предыдущих, причина – использование сложных, трудоемких и несовершенных методов исследований для выявления МБТ с поверхностей предметов.

В связи с вышеизложенным, перед нами была поставлена цель разработать технологии бактериологического контроля наличия МБТ на поверхностях объектов производственной среды противотуберкулезного стационара.

Материалы и методы

В существующих нормативных документах (Приказ Минздрава РФ №109 2003, СП 3.1.1295-03) описана методика проведения бактериологических смывов с поверхностей в окружении больного туберкулезом в бытовых очагах туберкулезной инфекции [19, 27]. Разработанная нами технология отличается от известной: способом производства смывов (в качестве инструмента для взятия смывов предложен зонд гинекологический универсальный, в качестве смывной жидкости – нейтрализующий бульон), методом обработки смывной жидкости, включением в технологию молекулярно-генетических методов (МГМ).

Полученные и подготовленные, с помощью предложенного способа, пробы объемом 2,0 мл делили следующим образом: 1 мл пробы отбирали для определения маркера ДНК *M.tuberculosis* IS6110 с целью быстрого, в течение 1-2 суток, определения потенциальной эпидемиологической опасности исследуемого объекта; для получения культуры и определения жизнеспособности МБТ оставшееся количество пробы засеивали по 0,5 мл на 2 пробирки с питательной средой Левенштейна-Йенсена. Посевы культивировали при 37°C в течение 2,5 месяцев, еженедельно просматривая для детекции роста характерных колоний. При обнаружении роста КОЕ МБТ, культуры подвергались стандартной процедуре тестирования (Приказ МЗ РФ №109 от 23.03.2003), а так же исследованию молекулярно-генетическими методами [19].

Для дифференциации изолятов на группы Beijing и non-Beijing молекулярно-генетическими методами использовали ПЦР-тестсистему «Амплитуб-Beijing», ООО «Синтол», г. Москва. ПЦР выполняли в режиме реального времени на приборе iCyclerQ5 (BioRad, США).

Определение мутаций в генах *groB*, *katG* и *inhA*, а так же *gyrA*, обуславливающих устойчивость к рифампицину, изониазиду и фторхинолонам, проводили с использованием тест-системы «ТБ-Биочип (MDR)», ООО «Биочип-ИМБ», г. Москва.

Генотипирование изолятов *M. tuberculosis*

проводили методом MIRU-VNTR, используя 15 локусов: Mtub04, ETRC, MIRU04, MIRU40, MIRU10, MIRU16, Mtub21, QUB11b, ETRA, Mtub30, MIRU26, MIRU31, Mtub39, QUB26, QUB4156 [36]. Для постановки ПЦР использовали реактивы ООО «Интерлабсервис», г. Москва и праймеры, ООО «Синтол», г. Москва. ПЦР осуществляли в термоциклере «Терцик», ООО «ДНК технология». Продукт ПЦР подвергали электрофорезу в 2% агарозном геле, окрашенном бромистым этидием, результаты визуализировали с помощью системы документации гелей «GelDoc», BioRad, США.

Для изучения влияния растворов дезсредства «Лизарин», которое применялось в учреждении на момент отбора проб, на жизнеспособность культур микобактерий туберкулеза, выделенных с предметов, была применена запатентованная (Патент на изобретение №2364629 от 20 августа 2009 г.) и

разрешенная к применению медицинская технология «Методика оценки эффективности дезинфицирующих средств, применяемых в противотуберкулезных учреждениях» (Разрешение Федеральной службы по надзору в сфере здравоохранения и социального развития ФС №2009/235 от 28 июля 2009 г.) [5].

Результаты и обсуждение

Было произведено 137 смывов с поверхностей объектов противотуберкулезного учреждения, в следующих отделениях: отделение для лечения вновь выявленных больных туберкулезом с бактериовыделением и без бактериовыделения по мазку; отделение для лечения больных хроническим туберкулезом без бактериовыделения по мазку; отделение для лечения больных хроническим туберкулезом легких с бактериовыделением по мазку.

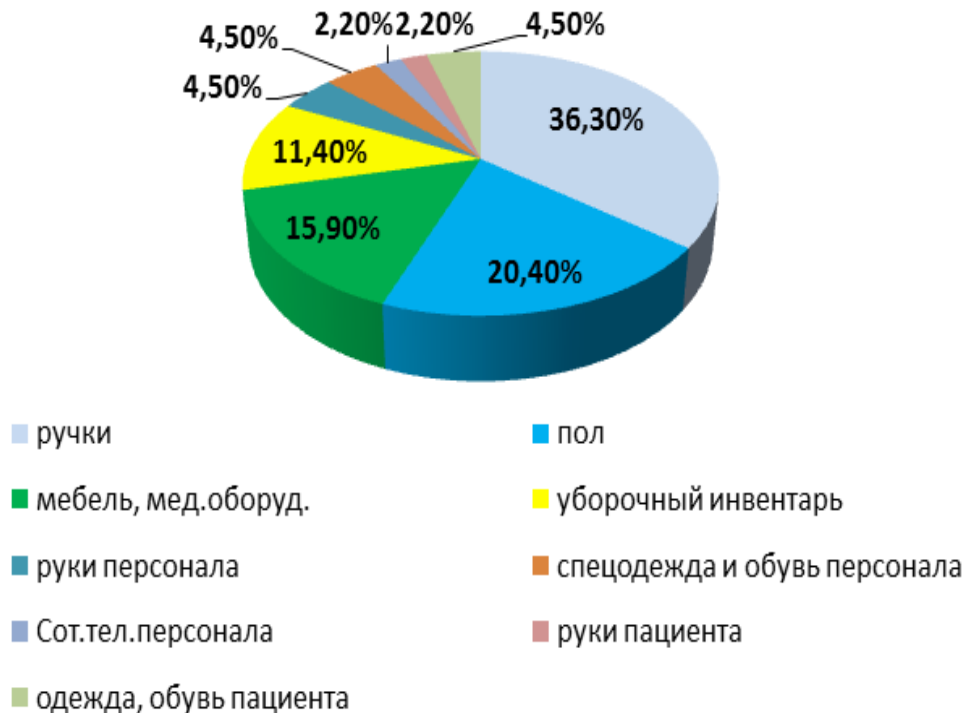


Рисунок 1. Точки отбора, контаминированные ДНК МБТ в количестве, достаточном для определения наличия мутаций устойчивости.

Результаты исследований представлены в таблицах 1-5 и на рисунке 1.

Представленные в таблице 1 данные, показывают, что наличие маркера ДНК МБТ IS6110 удалось определить в 132 пробах (96,4%). Количество ДНК достаточное для определения мутаций устойчивости было зафиксировано в 17 пробах (35,4%), полученных с объектов отделения для лечения вновь выявленных

больных туберкулезом с бактериовыделением по мазку, и в 27 (75,0%) пробах, полученных с объектов отделения для лечения больных хроническим туберкулезом легких с бактериовыделением по мазку. Культуры МБТ были обнаружены в 8 (16,3%) посевах смывов, полученных с объектов отделения для

Таблица 1

Результаты аэробации новой технологии в отделениях противотуберкулезного стационара

Наименование отделения	Кол-во смывов, n	Наличие маркера ДНК МБТ IS6110		Наличие достаточного количества ДНК для определения мутаций устойчивости		Культура МБТ на ПС	
		Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
Отделение для лечения в/в больных туберкулезом с бактериовыделением и без бактериовыделения по мазку	49	48	97,9	17	35,4	8	16,3
Отделение для лечения больных хроническим туберкулезом без бактериовыделения по мазку	51	48	94,1	—	—	—	—
Отделение для лечения больных хроническим туберкулезом легких с бактериовыделением по мазку	37	36	97,3	27	75,0	7	19,4
Итого:	137	132	96,4	44	32,1	15	10,9

лечения вновь выявленных больных туберкулезом с бактериовыделением по мазку, и в 7 (19,4%) посевах смывов, полученных с объектов отделения для лечения больных хроническим туберкулезом легких с бактериовыделением по мазку.

Таким образом, в результате применения новой технологии бактериологического контроля поверхностей объектов окружающей среды ЛПУ в отношении возбудителя туберкулеза, удалось установить, что 96,4% исследованных поверхностей противотуберкулезного стационара контаминированы ДНК МБТ.

Кроме того, в отделениях для лечения больных туберкулезом легких с бактериовыделением по мазку в 32,1% случаях количество ДНК позволяет детектировать мутации устойчивости, а в 10,9% позволяет выделить культуры с поверхностей объектов. Полученные данные показывают, что поверхности

противотуберкулезного стационара резервируют МБТ и являются эпидемически опасными объектами. Помимо этого, новая технология позволяет, быстро, в течение 1-2 дней выделить ДНК МБТ и определить потенциальную эпидемиологическую опасность исследуемого объекта.

Данные таблицы 2 позволяют констатировать, что в 97,9% смывов количество микобактериальных кле-ток на обследуемых объектах составляло от 1 до 10, в 33,1% смывах – от 100, в 10,9% смывов – более 1000. Реальное количество МБТ в пробе, по данным специалистов лабораторий молекулярно-генетических методов исследований, может превышать, гарантируемое методиками количество в несколько раз.

Таким образом, в 10,9% случаев на обследуемых поверхностях находилось от 1000 жизнеспособных клеток МБТ.

Таблица 2

Массивность контаминации поверхностей объектов противотуберкулезного стационара МБТ, исходя из чувствительности методов

Вид исследования	Положительные пробы, полученные с поверхностей, %	Предполагаемое количество МБТ в пробе, КОЕ
Наличие маркера ДНК IS6110 (РТ-ПЦР)	97,9%	1-10
Наличие достаточного количества ДНК для определения мутаций устойчивости (тест-система «ТБ-Биочип»)	33,1%	100-300
Наличие роста культур МБТ на среде Левенштейна-Йенсена	10,9%	≥1000

Данные, представленные в таблице 3, демонстрируют результаты определения мутаций устойчивости ДНК МБТ в пробах, где количество ДНК было достаточным для проведения данных исследований. Так, в 44 (100%) пробах были обнаружены мутации устойчивости

в генах *rpoB*, *katG* и *gyrA*. Т.е., в 100% случаев всех выделенных ДНК с поверхностей в количестве достаточном для определения мутаций устойчивости к ПТП – это ДНК с мутациями полирезистентности к ПТП.

Таблица 3

Характеристика мутаций устойчивости ДНК МБТ, определенных тест-системой «ТБ-Биочип»

Ед. учета	Мутации устойчивости (n=44) к:				
	R – <i>rpoB</i>		H		FQ - <i>gyrA</i>
			<i>katG</i>	<i>inhA</i>	
	Ser531 --> Leu	His526 --> Arg	Ser315 --> Thr(1)	<i>inhA_T15</i>	Asp94 --> Gly
Абс.	44	2	44	3	44
%	100%	4,5%	100%	6,8%	100%

На рисунке 1 представлены точки отбора контаминированные ДНК МБТ с установленными мутациями устойчивости. Наиболее интенсивный уровень контаминации отмечен на дверных ручках (палат, туалетов, процедурных кабинетов). Далее в убывающем порядке располагались поверхности полов, мебели и медицинского оборудования, уборочный инвентарь (ведра и ветошь), руки, спецодежда и обувь персонала, обувь и одежда пациентов, сотовые телефоны персонала и руки пациентов.

Данные о генотипировании культур, выделенных с поверхностей предметов ПТС, и их чувствительности к ПТП, представлены в таблице 4. Для 13 культур была исследована их лекарственная чувствительность методом абсолютных концентраций. Все эти культуры оказались устойчивыми к препаратам I ряда, канамицину и каприомицину; 8 (61,5%) культур резистентны к офлоксацину. Несмотря на то, что 4 культуры фенотипически проявили чувствительность к офлоксацину, молекулярно-генетические методы

позволили выявить мутации устойчивости к этому препарату. В связи с этим, можно констатировать, что все культуры, выделенные с поверхностей в противотуберкулезном стационаре – это культуры с множественной и широкой лекарственной устойчивостью. Это обстоятельство объясняется тем, что больные, выделяющие микобактерии туберкулеза (МБТ) с МЛУ находятся в стационарах дольше, чем больные, выделяющие лекарственно чувствительные МБТ.

Результаты MIRU-VNTR-типирования позволили определить, что 9 культур МБТ представляют генотип Beijing, в 4-х пробах обнаружена смесь генотипов Beijing и Ural, что свидетельствует о перекрестной контаминации объектов МБТ.

Таким образом, с поверхностей объектов ПТС выделены культуры МБТ принадлежащие, преимущественно генетическому семейству Beijing, с множественной и широкой лекарственной устойчивостью.

Таблица 4
Генотипическая принадлежность и чувствительность культур МБТ, выделенных с поверхностей противотуберкулезного стационара, к противотуберкулезным препаратам

Отделение	Точки отбора проб	Генотипы культур МБТ	Чувствительность МБТ к ПТП, определенная методом абсолютных концентраций											
			Str	Inh	Rif	E	K	Pt	Pas	Cs	Ofi	Cap		
Отделение для лечения в/в больных туберкулезом с бактериовыделением и без бактериовыделения по мазку	Обувь мед.сестры процедурного кабинета	Beijing	R	R	R	S	R	R	R	S	S	S	R	R
	Ручка двери санитарной комнаты	Beijing	R	R	R	S	R	R	R	S	S	S	R	R
	Подоконник (место для курения)	Beijing	R	R	R	S	R	R	R	S	S	S	R	R
	Пол туалета	Beijing	R	R	R	S	R	R	R	S	S	S	R	R
	Ведро для мытья полов (санитарная комната)	Beijing	R	R	R	S	R	R	R	S	S	S	R	R
	Пол санитарной комнаты	Beijing	R	R	R	S	R	R	R	S	S	S	R	R
	Руки пациента	Beijing + Ural	Нет данных											
	Пол кабины для сбора мокроты	Beijing + Ural	R	R	R	S	R	R	R	S	S	S	R	R
	Пол туалета	Beijing + Ural	R	R	R	S	R	R	R	S	S	S	R	R
	Ручка двери палаты	Beijing + Ural	R	R	R	S	R	R	R	S	S	S	S	R
Отделение для лечения больных хроническим туберкулезом легких с бактериовыделением по мазку	Ручка водопроводного крана в палате	Beijing + Ural	R	R	R	S	R	R	R	S	S	S	R	R
	Обувь мед.сестры процедурного кабинета	Beijing + Ural	R	R	R	S	R	R	R	S	S	S	R	R
	Ручка двери туалета	Beijing + Ural	R	R	R	S	R	R	R	S	S	S	R	R

Str - стрептомицин, Inh - изониазид, Rif - рифампицин, E - этамбутол, K - канамицин, Pt - протионамид, Pas - ПАСК, Cs - циклосерин, Ofi - офлоксацин, Cap - капреомицин, R - резистентный, S - чувствительный

Культуры МБТ, выделенные с поверхностей объектов противотуберкулезного стационара были подвергнуты воздействию туберкулоцидных растворов ДС «Лизарин», т.к. данное ДС в течение полугода использовалось в этом учреждении для текущей дезинфекции поверхностей объектов. В связи с тем, что культуры были выделены с поверхностей объектов, было очевидно, что дезинфекционные мероприятия, проводимые в исследуемых отделениях, были недостаточными для уничтожения жизнеспособных клеток возбудителя туберкулеза. Полученные данные по оценке эффективности рекомендованных

Инструкцией по применению режимов применения ДС «Лизарин» на культуры МБТ, выделенные с поверхностей, подтвердили предположение об их низкой туберкулоцидной активности. В частности, после воздействия растворов в концентрации 0,5% (45 мин воздействия), 1,0% (45, 60 и 90 мин воздействия) и 2,0% (10 мин воздействия) был обнаружен сплошной рост МБТ (более 100 КОЕ) всех изолятов, выделенных с поверхностей. 10-ти минутное воздействие 2,0% раствора ДС «Лизарин» на культуры МБТ, выделенные с поверхностей, было недостаточным даже для достижения бактериостатического эффекта.

Таблица 5

Результаты изучения влияния растворов ДС «Лизарин» на жизнеспособность культур МБТ, выделенных с поверхностей объектов противотуберкулезного стационара

Отделение	Точки отбора проб	Генотипы культур МБТ	Количество КОЕ МБТ (M±m), выросшее на ПС Левенштейна-Йенсена, после воздействия ДС «Лизарин», с повышенными концентрациями растворов при 60 минутной экспозиции:				
			2,0% (0, 28% по ДВ)	3,0% (0,42% по ДВ)	4,0% (0,56% по ДВ)	5,0% (0,70% по ДВ)	6,0% (0,84% по ДВ)
Отделение для лечения в/в больных туберкулезом с бактерио-выделением и без бактерио-выделения по мазку	Обувь мед.сестры процедурного кабинета 1	Beijing	>100	1,3±0,4	0	0	0
	Ручка двери санитарной комнаты	Beijing	>100	0	0	0	0
	Подоконник (место для курения)	Beijing	1,5±0,5	0	0	0	0
	Пол туалета 1	Beijing	2,5±0,5	0	0	0	0
	Ведро для мытья полов (санитарная комната)	Beijing	32±19	0	0	0	0
	Пол санитарной комнаты	Beijing	17,5±3,5	0	0	0	0
	Руки пациента		6,5±0,5	0	0	0	0
Отделение для лечения больных хроническим туберкулезом легких с бактерио-выделением по мазку	Пол кабины для сбора мокроты	Beijing	>100	3,5±0,8	1,3±0,4	0	0
	Пол туалета 2	Beijing	>100	0,7±0,3	0	0	0
	Ручка двери палаты	Beijing + Ural	>100	0	0	0	0
	Ручка водопроводного крана в палате	Beijing + Ural	6,0±1,2	0	0	0	0
	Обувь мед.сестры процедурного кабинета 2	Beijing + Ural	3,0±1,0	0	0	0	0

Эти результаты свидетельствуют о высокой устойчивости МБТ, находящихся на поверхностях объектов, к воздействию туберкулоцидных растворов ДС «Лизарин». Возможно, микобактерии туберкулеза адаптировались к систематическому воздействию низких концентраций катионных

поверхностно-активных веществ (КПАВ), входящих в состав действующих веществ (ДВ) данного ДС, что сопровождалось фенотипическими изменениями клеток. Кроме того рост резистентности мог происходить за счет селекции устойчивых вариантов возбудителя туберкулеза под действием низких

концентраций химических веществ. Действительно в 0,5% растворе ДС «Лизарин» суммарно содержится всего лишь 0,075% ДВ, в 1,0% растворе – 0,15% ДВ, что является недостаточным для достижения туберкулоцидного эффекта при воздействии на МБТ.

Известно, что достаточной концентрацией КПАВ в качестве ДВ в растворах ДС для инактивации жизнеспособности МБТ является концентрация ДВ не менее 0,2-0,3% при времени воздействия 60 минут [23].

В связи с этим, нами были проведены исследования, в которых концентрации растворов, соответственно и концентрации ДВ в них, были увеличены, с целью экспериментального поиска режима дезинфекции ДС «Лизарин» с реальной туберкулоцидной активностью. Время воздействия составляло 60 минут. Результаты исследования представлены в таблице 5.

Как видно из данных, представленных в таблице 5, к 60-ти минутному воздействию 2,0% раствора (0,28% по ДВ) ДС «Лизарин» все культуры проявили устойчивость, поскольку обнаружен рост КОЕ МБТ на поверхности питательной среды, однако интенсивность роста разных культур была неодинаковой. На культуры выделенные с обуви медицинской сестры процедурного кабинета, с ручки двери санитарной комнаты, пола кабины для сбора мокроты, пола туалета и ручки двери палаты указанный режим не оказал никакого влияния, ни бактериостатического ни, тем более, бактерицидного, поскольку после его воздействия был обнаружен интенсивный, более 100 КОЕ, рост МБТ. В то же время, было отмечено значительное снижение интенсивности роста остальных культур МБТ, хотя рост единичных колоний МБТ был зафиксирован, что свидетельствует о наличии устойчивых к данному режиму воздействия, отдельных особей возбудителя. После воздействия 3,0% раствора (0,42% по ДВ) на культуры, выделенные с поверхностей, рост у подавляющего большинства из них не был обнаружен. Хотя были выделены культуры с обуви медицинской сестры процедурного кабинета (обнаружен рост $1,3 \pm 0,4$ КОЕ), с пола кабины для сбора мокроты ($3,5 \pm 0,8$ КОЕ) и с пола туалета ($0,7 \pm 0,3$). Увеличение концентрации раствора ДС «Лизарин» до 4,0% (0,56% по ДВ) позволило инактивировать большинство культур, за исключением культуры, выделенной с пола кабины для сбора мокроты, т.к. был обнаружен рост единичных колоний ($1,3 \pm 0,4$ КОЕ). Только 5,0% раствор (0,70% по ДВ) обеспечил инактивацию жизнеспособности всех испытанных культур. Следовательно, реальной туберкулоцидной

активностью обладает режим применения ДС «Лизарин» с концентрацией рабочего раствора 5,0%, содержащего 0,70% ДВ при времени воздействия 60 мин. Концентрация раствора 5,0% превышает в 10 раз минимальную туберкулоцидную концентрацию, рекомендованную Инструкцией по применению (0,5% (0,07% по ДВ)). Таким образом, минимальной концентрацией КПАВ в составе ДС «Лизарин», вызывающей полное подавление заметного невооруженным глазом роста микобактерий туберкулеза, выделенных с поверхностей объектов противотуберкулезного стационара, является 0,7% концентрация.

Заключение

Результаты исследований, представленные в данной работе, позволяют констатировать, что в исследованном противотуберкулезном стационаре 96,4% поверхностей контаминированы ДНК МБТ. В 32,1% проб количество ДНК МБТ было достаточным для определения мутаций устойчивости, что свидетельствует, исходя из чувствительности методов, о наличии не менее 100-300 клеток МБТ в исследуемой пробе смыва. Мутации устойчивости были обнаружены в 100% случаев в генах *groV*, *katG* и *gyrA*, т.о. ДНК МБТ выделенные с поверхностей в количестве достаточном для определения мутаций устойчивости – это ДНК с мутациями полирезистентности к ПТП.

Наиболее интенсивный уровень контаминации ДНК МБТ отмечен на дверных ручках (палат, туалетов, процедурных кабинетов). Далее в убывающем порядке располагаются поверхности полов, мебели и медицинского оборудования, уборочный инвентарь (ведра и ветошь), руки, спецодежда и обувь персонала, обувь и одежда пациентов, сотовые телефоны персонала и руки пациентов.

Обнаружение ДНК МБТ на предметах внутрибольничной среды, на руках, одежде и обуви пациентов - больных туберкулезом, является следствием естественного распространения возбудителя от источника инфекции. Поэтому меры Инфекционного контроля должны быть направлены на минимизацию рисков загрязнения МБТ окружающего больного предметов и распространения возбудителя в помещениях стационара. Наиболее перспективными мероприятиями для достижения этой цели является, на наш взгляд: ранняя и быстрая диагностика бациллярной формы заболевания; своевременное определение пациентов с МЛУ туберкулезом; макси-

мально раннее начало адекватной этиотропной терапии; изоляционно-ограничительные мероприятия; обязательное использование бактериовыделителями барьерных средств защиты органов дыхания; обучение пациентов мытью рук перед каждым выходом из палат и после одевания хирургических масок; обучение пациентов культуре кашля. Для предотвращения переноса МБТ из палат на подошвах обуви необходимо использовать бахилы.

В связи с тем, что культуры МБТ, выделенные с поверхностей, принадлежат к генетическому семейству Beijing и являются культурами с экстремальной лекарственной устойчивостью, необходимо построение системы изоляционно-ограничительных мероприятий, основанное на разделении потоков больных на основе дифференциации изолятов *M. tuberculosis* на генетические группы Beijing и nonBeijing.

Наиболее перспективным изоляционно-ограничительным мероприятием, по нашему мнению, является создание КОМФОРТАБЕЛЬНЫХ палат для бактериовыделителей, исключающих необходимость выхода для посещений туалетных и душевых комнат, где пересекаются потоки больных, и изоляция больных в этих палатах должна длиться до прекращения бактериовыделения, подтвержденного методом ПОСЕВА. Авторы понимают, что в настоящее время, создание таких палат в масштабе государства является практически невыполнимой задачей, но когда-то и полет в космос считался фантастической идеей, а был реализован гражданами нашей страны!...

Выявления ДНК МБТ с мутациями полирезистентности, соответствующее микробному загрязнению 100-300 и более микобактериальных клеток (исходя из чувствительности метода), на сотовых телефонах сотрудников, также представляет следствие естественного распространения возбудителя в условиях противотуберкулезного стационара, но вряд ли является допустимым. В связи с тем, что сотовые телефоны выносятся за пределы противотуберкулезных стационаров, они могут стать факторами передачи экстремально-устойчивых форм возбудителя к восприимчивому организму, входящему в круг общения сотрудника. Для предупреждения распространения нозокомиального туберкулеза подобным образом, целесообразно в перечень мер инфекционного контроля внести пункт, запрещающий использование личных сотовых телефонов персоналом во время выполнения функциональных обязанностей

в помещениях с высоким риском возникновения и распространения нозокомиального туберкулеза.

Помимо этого, обеспечение противотуберкулезных стационаров адекватно функционирующими системами принудительной приточно-вытяжной вентиляции с фильтрами тонкой очистки позволит снизить уровень контаминации воздуха инфекционными аэрозолями, предотвратить образование вторичных аэрозолей и, как следствие, снизить контаминацию поверхностей.

Результаты оценки эффективности растворов ДС «Лизарин» в отношении культур МБТ, выделенных с поверхностей, показали, что для обеспечения надежной дезинфекции в отношении возбудителя туберкулеза концентрация ДВ в рабочем растворе должна быть повышена в 10 раз (при 60 минутном воздействии), по сравнению с минимальной, рекомендованной производителем. Необходимо отметить, что среди более 500 наименований ДС зарегистрированных и разрешенных к применению в РФ, более половины представляют ДС подобные испытанному в данной работе – ДС на основе КПАВ. Поэтому, в соответствии с Руководством Р.4.2.2643-10 «Методы лабораторных исследований и испытаний дезинфекционных средств для оценки их эффективности и безопасности» и Методическими указаниями МУ 3.5.2596-10 от 20.03.10 г. «Методы изучения и оценки туберкулоцидной активности дезинфицирующих средств», при выборе ДС для применения в противотуберкулезном учреждении необходимо руководствоваться перечнем зарегистрированных в России ДС, режимы которых тестированы на тест-микобактерии *M.terrae* (перечень большинства ДС размещен на сайте www.dezreest.ru) [15, 24, 35].

В целом, включение новой технологии бактериологического контроля наличия МБТ на поверхностях объектов производственной среды противотуберкулезного стационара в систему мер Инфекционного контроля позволит обнаружить возбудителя туберкулеза и/или фрагменты его нуклеиновых кислот (ДНК) с поверхностей объектов, что может служить маркером контаминации и накопления клеток МБТ на этих объектах внутрибольничной среды, и в течение 1-2 суток установить потенциальную эпидемическую опасность исследуемого объекта, а так же применить наиболее эффективные противоэпидемические мероприятия.

Список литературы

1. Благодарный Я.А. Источники туберкулеза и меры профилактики. – Алма-Ата. – 1980. – 244 с.
2. Вишневский Б.И., Оттен Т.Ф., Нарвская О.В., Вишневская Е.Б. Клиническая микробиология// Руководство по легочному и внелегочному туберкулезу. Под. ред. чл.-корр. РАМН проф. Ю.Н. Левашева, проф. Ю.М.Репина. С-Петербург: ЭЛБИ-Спб. – 2006. – С. 95-115.
3. Горина Г.П., Власова Н.А., Марьяндышев А.О. и др. Нозокомиальная инфекция среди больных туберкулезом легких с множественной лекарственной устойчивостью в Архангельской области // Материалы 9 съезда Российского общества фтизиатров. – М. – 2011.
4. Еремеева Н.И., Кравченко М.А., Канищев В.В., Федорова Л.С. Вопросы преодоления устойчивости микобактерий разных видов с дезинфицирующим средствам// Дезинфекционное дело. – 2007. – №3. – С. 35-39.
5. Еремеева Н.И., Кравченко М.А., Канищев В.В. Методика оценки эффективности дезинфицирующих средств, применяемых в противотуберкулезных учреждениях// Усовершен. мед.технология. Разрешена к применению Росздравнадзором, разрешение № 2009/235.
6. Еремеева Н.И., Вахрушева Д.В., Канищев В.В. Роль дезинфекционных мероприятий в системе комплекса мер биологической безопасности противотуберкулезного учреждения // «Фтизиатрия и пульмонология». – 2011. – №2. – С. 156-158.
7. Еремеева Н.И., Вахрушева Д.В., Кравченко М.А. Результаты оценки микобактерицидной активности дезсредств //Туберкулез и болезни легких. – 2011. – №4. – С. 137-138.
8. Еремеева Н.И., Канищев В.В., Кравченко М.А., Вахрушева Д.В., Умпелева Т.В. Экспериментальная оценка устойчивости лекарственно-чувствительных культур *Mycobacterium tuberculosis* разных генетических кластеров к воздействию дезинфицирующих средств на основе катионных поверхностно-активных веществ // Медицинский академический журнал, Приложение. – 2012. – ноябрь – С.316-318.
9. Зуева М.Н. Эффективное выделение микобактерий с поверхностей различных материалов / Дис. канд. мед. наук, 1996.
10. Канищев В.В. Отвечает ли задачам профилактики ВБИ использование в ЛПО дезсредств в режиме, рекомендуемом в отношении бактерий (кроме туберкулеза) // Дезинфекционное дело. – 2011. – №2. – С.36- 44.
11. Канищев В.В., Еремеева Н.И. Некоторые научные и практические аспекты применения дезинфицирующих средств в практике ЛПО // Поликлиника. - 2013. - № 4(2). – С. 104-110.
12. Корначев А.С. Особенности эпидемического процесса внутрибольничного туберкулеза и его профилактики / Дисс. д-ра мед. наук. М, 2006.
13. Корначев А.С., Семина Н.А., Журавлев А.Л. и соавт. Оценка интенсивности контаминации микобактериями туберкулеза производственной среды различных типов медицинских учреждений // Эпидемиология и инфекционные болезни. – 2007. – №2. – С. 52-54.
14. Космодамианский В.Н. Пути и способы заражения туберкулезом. Скрытая инфекция / Многотомное руководство по туберкулезу. – М. – 1959. – Т.1. – С. 54-58.
15. МУ 3.5.2596-10 от 20.03.10 г. «Методы изучения и оценки туберкулоцидной активности дезинфицирующих средств».
16. Мясникова Е.Б. Вопросы эпидемиологической диагностики нозокомиального туберкулеза // Материалы Всероссийской научно-практической конференции «Совершенствование медицинской помощи больным туберкулезом». – Санкт-Петербург. – 2011. – С.43-44.
17. Мясникова Е.Б. Клинико-эпидемиологические критерии диагностики нозокомиальной туберкулезной инфекции у пациентов // Материалы 1-го Конгресса Ассоциации «Национальная Ассоциация фтизиатров» «Актуальные проблемы и перспективы развития противотуберкулезной службы в Российской Федерации». – Санкт-Петербург. – 2012. – С. 241-242.
18. Национальная концепция профилактики инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи. Утверждена 06.11.2011 Главным государственным санитарным врачом РФ Г.Г. Онищенко.
19. О совершенствовании противотуберкулезных мероприятий в Российской Федерации / Приказ № 109 МЗ РФ от 21.03.03.
20. Оттен Т.Ф., Вишневский Б.И., Нарвская О.В. и др. Молекулярно-эпидемиологическое исследование случаев нозокомиальной туберкулезной инфекции // Материалы 9 съезда Российского общества фтизиатров. – М. – 2011.
21. Платонов Г.И. Обсемененность

объектов микобактериями как критерий оценки эпидемиологической опасности очага туберкулезной инфекции // *Материалы Всесоюзной конференции по санитарной микробиологии.* – М. – 1978. – С. 57.

22. Платонов Г.И., Бобрелова А.Г., Зудина М.А. и др. К вопросу организации бактериологического контроля заключительной дезинфекции в очагах туберкулеза // *Сборник научных трудов Московского НИИ вакцин и сывороток вып. 27.* – М. – 1978. – С. 52-55.

23. Проект методических рекомендаций МР.1.3.5.-11 «Обоснование выбора химических дезинфицирующих и стерилизующих средств для применения в организациях, осуществляющих медицинскую деятельность». www.niid.ru.

24. Руководство Р 4.2.2643-10 «Методы лабораторных исследований и испытаний дезинфекционных средств для оценки их эффективности и безопасности».

25. Руководство по биологической безопасности лабораторных исследований при туберкулезе. Всемирная организация здравоохранения. – 2013.

26. Система инфекционного контроля в противотуберкулезных учреждениях / Под ред. Л.С. Федоровой. – М. – Тверь: ООО «Издательство «Триада»», 2013. – 192 с.

27. СП 3.1.1295-03 «Профилактика туберкулеза».

28. Федорова Л.С. Проблемы дезинфекции при нозокомиальной туберкулезной инфекции //

Сборник трудов Российской научно-практической конференции. – Москва. – 1998. – С.67.

29. Федорова Л.С. Туберкулез и дезинфекция // *Дезинфекционное дело.* – 2007. – №3. – С. 31-34.

30. Федорова Л.С. Направления и перспективы исследований в области дезинфекции // *Эпидемиология и гигиена.* – 2012. – №4. – С. 46-49.

31. Черноусова Л.Н., Пузанов В.А. и др. Лабораторная диагностика туберкулеза. Методические материалы к проведению цикла тематического усовершенствования. – М.: Р.Валент. – 2012. – 704 с.

32. Чугунихина Н.В. Идентификация, циркуляция и выживаемость МБТ в помещениях фтизиатрических стационаров / Автореф. дис. канд. – М., 1973.

33. Яблонский П.К. Российская фтизиатрия сегодня – выбор пути развития // *Мед. альянс.* – 2013. – №3. – С. 5-24.

34. Яковлев Н.И. Эпидемическая опасность различных очагов туберкулезной инфекции // *Проблемы туберкулеза.* – 1989. – №4. – С. 3-6.

35. Аналитический портал «Дезреестр» www.dezreest.ru

36. Philip Supply et al. Proposal for Standardization of Optimized Mycobacterial Interspersed Repetitive Unit-Variable-Number Tandem Repeat Typing of Mycobacterium tuberculosis. *J Clin Microbiol.* 2006.