

Лекарственная устойчивость микобактерий туберкулеза, полученных из операционного материала у больных туберкулезом легких

Е.А. Бородулина¹, П.В. Рогожкин^{1,2}, А.С. Олефиоров², А.В. Колесник²,
М.В. Ураксина^{1,2}

¹ Самарский государственный медицинский университет

² Самарский областной клинический противотуберкулезный диспансер им. Н.В. Постникова

Drugresistance of *Mycobacterium tuberculosis* from surgical material taken from patients with pulmonary tuberculosis

E. Borodulina¹, P. Rogozhkin^{1,2}, A. Olephirov², A. Kolesnik², M. Uraksina^{1,2}

¹ Samara State Medical University

² Samara Regional Clinical Anti-Tuberculosis Dispensary named after N.V. Postnikov

© Коллектив авторов, 2021 г.

Резюме

В настоящее время, несмотря на улучшение эпидемических показателей по туберкулезу, количество больных с лекарственно устойчивыми формами туберкулеза увеличивается, что усложняет лечение таких пациентов и увеличивает его сроки. **Цель исследования:** изучение лекарственной устойчивости микобактерий туберкулеза (ЛУ МБТ), полученных из операционного материала.

Материалы и методы исследования. В исследование включены 74 пациента с радикальными и диагностическими операциями на органах грудной клетки. Всех пациентов обследовали стандартными методами: микроскопия, молекулярно-генетические методы, посев на плотные и жидкие питательные среды мокроты и, в случае проведения бронхоскопии, БАЛЖ. Диагноз туберкулеза подтвержден морфологически у всех пациентов при гистологическом исследовании операционного материала. При анализе результатов ЛУ МБТ обнаружено, что среди впервые выявленных пациентов больше половины (59,3%) имели множественную (44,6%; $p < 0,001$) и широкую лекарственную устойчивость (14,7%; $p = 0,003$), при этом у 74,5% ($n = 35/47$) до операции МБТ не были выявлены в мокроте. Представлены частота развития лекарственной устойчивости к

противотуберкулезным препаратам первого и резервного ряда, структура лекарственной устойчивости в зависимости от группы диспансерного учета. Выполнен сравнительный анализ лекарственной чувствительности МБТ, выделенных из мокроты до операции и из операционного материала. Результаты исследования показали высокий процент лекарственной устойчивости МБТ, полученных в операционном материале пациентов с отрицательными анализами на МБТ. Более половины пациентов, не получающих антибактериальной терапии до операции, имеют множественную лекарственную устойчивость и широкую лекарственную устойчивость, что предполагает высокую региональную первичную лекарственную устойчивость микобактерий туберкулеза.

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

Summary

At present, with the improvement of epidemic indicators for tuberculosis, the number of patients with drug-resistant forms of tuberculosis is increasing, which complicates and increases the duration of treatment of such

patients. The aim of the work is to study drug resistance of mycobacterium tuberculosis (MBT) obtained from surgical material. **Methods.** 74 patients with radical and diagnostic operations on the chest organs were included into the study. All patients were examined by standard methods: microscopy, molecular genetic methods, culturing on solid and liquid nutrient media of sputum, and, in case of bronchoscopy, BALF. The diagnosis of tuberculosis was confirmed morphologically in all patients by histological examination of the surgical material. When analyzing the results of DR MBT, it was found that among the newly diagnosed patients, more than half (59.3%) had multiple (44.6%; $p < 0.001$) and extensive drug resistance (14.7%; $p = 0.003$), while in 74.5% ($n = 35/47$) before the operation MBT were not detected in sputum. The frequency

of development of drug resistance to anti-tuberculosis drugs of the first and reserve lines, and the structure of drug resistance depending on the group of dispensary registration are presented. Comparative analysis of MBT LS isolated from sputum before operations and from the operating material was conducted. 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 patients who did not receive antibiotic therapy before surgery have MDR and XDR, which suggests a high regional primary drug resistance of *Mycobacterium tuberculosis*.

Keywords: tuberculosis, drug resistance, mycobacterium tuberculosis, surgical material

Введение

В России отмечается стабилизация эпидемической ситуации по туберкулезу с тенденцией к ее улучшению. Однако, несмотря на улучшение эпидемических показателей, увеличивается количество больных с лекарственно устойчивыми формами туберкулеза, что значительно осложняет излечение [1].

Для успешного лечения туберкулеза нужна быстрая и качественная этиологическая диагностика с определением лекарственной чувствительности (ЛЧ) микобактерий. Основным методом подтверждения диагноза туберкулеза остается сочетание микроскопического и бактериологического методов выявления МБТ [2]. Бактериоскопическое исследование является наиболее доступным, быстрым и дешевым методом, эффективным в основном у пациентов с прогрессирующими, деструктивными формами туберкулеза. В последнее десятилетие распространяются 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 [3–5]. В практике диагностических лабораторий противотуберкулезных учреждений используют GeneXpert MTB/RIF как экспресс-метод для поиска МБТ при обязательном параллельном применении классических методов диагностики [3, 5], с последующим подтверждением диагноза и определением ЛЧ возбудителя культуральными методами. Использование автоматизированных систем позволяет сокращать сроки постановки диагноза и выбора режима химиотерапии [4–6].

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 [7–9]. При сравнительном анализе данных ЛЧ микобактерий туберкулеза, выделенных из мокроты и операционного материала, отмечается различие, в ряде случаев достигающее 48,3% [6, 8–13]. Использование данных о ЛЧ непосредственно в очагах туберкулезного фокуса специфического поражения перспективно в определении комплексного подхода к тактике ведения больных туберкулезом [14].

Цель исследования

Изучить лекарственную устойчивость микобактерий туберкулеза, полученных из операционного материала.

Материалы и методы исследования

В исследование включены 74 пациента, которым в 2016–2018 гг. проводились радикальные и диагностические операции на органах грудной клетки. Всем пациентам до операции трехкратно проводились микроскопия мокроты по Цилю–Нильсену и бронхоальвеолярный лаваж (БАЛЖ) при выполнении бронхоскопии, молекулярно-генетические исследования GeneXpert MTB/RIF, посев на стандартные плотные и жидкие среды (BACTECMGIT).

У всех пациентов диагноз туберкулеза 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 противотуберкулезных препаратов (ПТП) как на препараты основного ряда (стрептомицин, изониазид, рифампицин, этамбутол), так и резервного ряда (канамицин, амикацин, этионамид, капреомидин, циклосерин, офлоксацин, моксифлоксацин, левофлоксацин, ПАСК). ТЛЧ на жидких средах проводился на системе BDBAC-TEC™ MGIT™ 960 с использованием наборов BACTEC MGIT 960 SIRE Kit (тест на чувствительность к стрептомицину, изониазиду, рифампицину, этамбутолу) и BACTEC MGIT 960 PZA Kit (тест на чувствительность к пипразинамиду). Для определения чувствительности к препаратам резервного ряда готовились растворы антибиотиков из чистой субстанции, которые добавлялись в пробирку BACTEC™ 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 $36,0 \pm 1,1$ года, мужчин было 35 (47,3%), женщин 39 (52,7%). У оперированных больных были следующие диагнозы: туберкулема — 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%), противотуберкулезная терапия до операции им не проводилась.

По данным лабораторного исследования до операции МБТ были выявлены в мокроте у 16 пациентов (21,6%). Наличие распада в легочной ткани при макроскопической оценке операционного материала определялось в 41,9% случаев (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.

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

Срок с момента выявления заболевания до оперативного вмешательства у пациентов с диагнозом «туберкулема» в среднем составил $8,2 \pm 1,2$ мес, «инфильтративный туберкулез» — $3,1 \pm 0,8$ мес, «фиброзно-кавернозный туберкулез» — $16,7 \pm 1,1$ мес. В группе больных (n=13), которым оперативные вмешательства выполнялись с диагностической целью, с момента выявления заболевания до операции прошло менее $1,6 \pm 1,1$ мес.

В операционном материале выявлена ЛУ МБТ к антибактериальным препаратам первого ряда: к изониазиду — в 90,5% случаев (n=67), к рифампицину — в 85,1% (n=63), к пипразинамиду — в 44,1% (n=33), к этамбутолу — в 41,9% (n=31), к стрептомицину — в 93,2% (n=69). Частота развития устойчивости к препаратам резервного ряда составила: к этионамиду — 78,4% (n=58), к канамицину — 55,4% (n=41), к офлоксацину — 37,8% (n=28), к моксифлоксацину — 31% (n=23), к амикацину — 16,2% (n=12), к левофлоксацину — 10,8% (n=8), к капреомидину — 9,6% (n=7), к ПАСК — 4,1% (n=3), к циклосерину — 0%.

Определены виды ЛУ: МЛУ — 68,9% (n=51), ШЛУ — 17,8% (n=13), полирезистентность — 2,74% (n=2), монорезистентность — 4,1% (n=3). Лекарственная устойчивость отсутствовала в 6,85% случаев (n=5) (табл. 1).

При анализе результатов ЛУ по категориям больных можно отметить, что среди впервые выявленных пациентов больше половины (59,3%) имели МЛУ (44,6%) и ШЛУ (14,7%). При этом в данной группе

Таблица 1

Структура лекарственной устойчивости в секционном материале

Вид лекарственной устойчивости	Количество, абс./%	Критерий Пирсона (χ^2 , p)	Точный критерий Фишера (p)
Монорезистентность	3/4,1±1,97%	$\chi^2=0,53$ p=0,4672	p=0,3594
Полирезистентность	2/2,7±1,61%	$\chi^2=1,35$ p=0,2454	p=0,2209
Множественная лекарственная устойчивость	51/68,9±2,18%	$\chi^2=60,79$ p=0,0000	p=0,0000
Широкая лекарственная устойчивость	13/17,8±3,67%	$\chi^2=4,05$ p=0,0442	p=0,0380
Лекарственная чувствительность	5/6,8±2,48%	$\chi^2=110,70$ p*=0,0000	P*=0,0000

* Сравнение лекарственной чувствительности и лекарственной устойчивости (в целом).

Таблица 2

Сравнительный анализ тестов лекарственной чувствительности микобактерий туберкулеза, 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 лекарственной устойчивости (количество АБП)
H, S	H, S, Am, Cm, E, Eto, Km, OfI	+6
H, R, S, Am, Cm, Eto, Km	H, R, S, Am, Cm, Eto, Km	0
H, R, S, Km	H, R, S, Km, E, Eto, Mfx, OfI	+4
H, R, E, S	H, R, E, S, Eto, Km, OfI	+3
H, R, S, Km	H, R, S, Km, OfI	+1
H, R, E, S	H, R, E, S, Eto, Z	+3
R, H, S, Eto, Of, Km	R, H, S, Eto, OfI, Km, Mfx, E	+2
R, H, E, S, OfI, Eto	R, H, E, S, OfI, Eto, Mfx	+1
H, R, S	H, R, S, Km	+1

Примечание: H — изониазид; R — рифампицин; Z — пирразинамид; E — этамбутол; S — стрептомицин; Km — канамицин; Am — амикацин; Eto — этионамид; Cm — капреомицин; Lfx — левофлоксацин; Mfx — моксифлоксацин; OfI — Офлохацин; Cs — циклосерин; PAS — аминосалициловая кислота.

у 74,5% (35 из 47) пациентов до операции не были выявлены МБТ в мокроте.

В группе с рецидивом туберкулеза 9 из 10 пациентов (90%) имели МЛУ. Все пациенты в этой группе были с диагнозом «туберкулема», 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», 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 (7 пациентов — 53,8%) имели МЛУ, лекарственная чувствительность была сохранена только у 30,8% (4 пациентов). Количество больных с сохраненной ЛЧ было наибольшим в диагностической группе.

У 9 пациентов до операции определена ЛУ МБТ, после операции выполнен сравнительный анализ ТЛЧ МБТ, выделенных из мокроты до операции и из операционного материала (табл. 2).

Несовпадение результатов составило 89% (n=8/9), при этом во всех случаях в операционном материале спектр ЛУ был шире (от одного до 6 препаратов). В анализе секционного материала ЛУ была больше на 1–2 препарата (44,4%, 4 из 9), 3–4 препарата (33,3%, 3 из 9),

6 препаратов (11,1%, 1 из 9). Максимальное несоответствие ТЛЧ (6 ПТП) было у одного пациентов с диагнозом «инфильтративный туберкулез», 3–4 препарата у пациентов с диагнозом «туберкулема». Минимальная разница в спектре ТЛЧ (1–2 препарата) была у пациентов с фиброзно-кавернозным туберкулезом.

Заключение

Комплексное лабораторное исследование резцированного участка легкого, пораженного туберкулезом, позволило получить данные об особенностях патологического процесса, возбудителе заболевания. Определение ЛЧ к ПТП в операционном материале выявило различия до 90% с результатами исследования мокроты у бактериовыведителей и позволило определить ЛУ МБТ у пациентов без бактериовыведения.

Лекарственно-устойчивые штаммы МБТ у диагностических пациентов, не получавших химиотерапии до операции, составили почти 70%, при этом более половины имели МЛУ и ШЛУ, что предполагает высокую региональную первичную лекарственную устойчивость МБТ.

Полученный анализ спектра ЛУ МБТ из операционного материала позволяет изменить схемы послеоперационной химиотерапии, формируя персонализированный подход к лечению.

Список литературы

1. Васильева И.А., Белюловский Е.М., Борисов С.Е., Стерликов С.А. Заболеваемость, смертность и распространенность как по-

казатели бремени туберкулеза в регионах ВОЗ, странах мира и в Российской Федерации. Часть 1. Заболеваемость и распространенность туберкулеза. Туберкулез и болезни легких 2017; 95 (6): 9–21 [Vasilyeva I.A., Belilovsky E.M., Bori-

- sov S.E., Sterlikov S.A. Incidence, mortality and prevalence as indicators of tuberculosis burden in who regions, countries of the world and the Russian Federation. Part 1. tuberculosis incidence and prevalence. *Tuberkuljoz i bolezni ljogkih* 2017; 95 (6): 9–21 (In Russ.)] <https://doi.org/10.21292/2075-1230-2017-95-6-9-21>.
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 [Rodionova Y.D., Gusyakova O.A., Lyamin A.V., Borodulina E.A., Kozlov A.V. Evaluation of the effect of sputum storage conditions on the vital properties of tuberculous mycobacteria. *Tuberkuljoz i bolezni ljogkih* 2017; 95 (1): 42–46 (In Russ.)]. <https://doi.org/10.21292/2075-1230-2017-95-1-42-46>.
 3. Steingart K.R., Sohn H., Schiller I., Kloda L.A., Boehme C.C., Pai M., Dendukuri N. Xpert® TB/RIF assay for pulmonary tuberculosis and rifampicin resistance in adults. *Cochrane Database Syst. Rev.* 2013; 1: CD009593. doi: 10.1002/14651858.CD009593.
 4. Бадлеева М.В., Басаева А.Г., Деметьева К.Н. Методы выявления микобактерий и диагностика туберкулеза. Научные исследования и современное образование 2017; 33–35 [Badleeva M.V., Basaeva A.G., Dement'eva K.N. Methods for detecting mycobacteria and diagnostics of tuberculosis. *Nauchnyye issledovaniya i sovremennoye obrazovaniye* 2017; 33–35 (In Russ.)].
 5. Бородулина Е.А., Инькова А.Т., Бородулин Б.Е., Поваляева Л.В. Пути оптимизации выявления туберкулеза в пульмонологическом отделении. *Туберкулез и болезни легких* 2018; 96 (5): 22–26. [Borodulina E.A., Inkova A.T., Borodulin B.E., Povalyayeva L.V. Ways to optimize detection of tuberculosis in a pulmonology unit. *Tuberkuljoz i bolezni ljogkih* 2018; 96 (5): 22–26. (In Russ.)]. <https://doi.org/10.21292/2075-1230-2018-96-5-22-26>.
 6. Белоусова К.В., Кравченко М.А., Бердников Р.Б., Вахрушева Д.В., Скорняков С.Н., Еремеева Н.И. Сравнительный анализ клинически значимых биологических свойств *Mycobacterium tuberculosis*, выделенных из резецированных участков легких и респираторного материала. *Фундаментальные исследования* 2014; 9 (11): 2452–2455 [Belousova K.V., Kravchenko M.A., Berdnikov R.B., Vahrusheva D.V., Scornyakov S.N., Eremeeva N.I. Comparative analysis of clinically significant biological properties of *Mycobacterium tuberculosis* was isolated on cut sections of the lungs and respiratory material. *Fundamental'nye issledovaniya* 2014; 9 (11): 2452–2455 (In Russ.)].
 7. 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.
 8. 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 [Jablonskij P.K., Vasil'ev I.V., Sokolovich E.G. The role of surgery in the diagnosis and treatment of pulmonary tuberculosis. *Vestnik Sankt-Peterburgskogo universiteta. Medicina* 2016; 3: 64–70 (In Russ.)].
 9. Pontali E., Matteelli A., D'Ambrosio L. et al. Rediscovering high technology from the past: thoracic surgery is back on track for multidrug-resistant tuberculosis. *Expert review of anti-infective therapy* 2012; 10 (10): 1109–1115.
 10. Бобровская К.В., Кравченко М.А., Бердников Р.Б. Лекарственная чувствительность микобактерий туберкулеза, полученных из мокроты и операционного материала больных с туберкулемами легких. *Уральский медицинский журнал* 2013; 2 (107): 50–53 [Bobrovskaya K.V., Kravchenko M.A., Berdnikov R.B. Drug sensitivity of *Mycobacterium tuberculosis* obtained from sputum and surgical material of patients with pulmonary tuberculosis. *Ural'skiy meditsinskiy zhurnal* 2013; 2 (107): 50–53 (In Russ.)].
 11. Некрасов Е.В., Анастасов О.В., Роскошных В.К., Задорожный А.И., Губин Е.А., Филинчук О.В. Бактериологическая характеристика мокроты и операционного материала у больных, прооперированных по поводу туберкулеза легких. *Российский медицинский журнал* 2011; (6): 45–47 [Nekrasov E.V., Anastasov O.V., Roskoshnyh V.K., Zadorozhnyy A.I., Gubin E.A., Filinyuk O.V. Bacteriological characteristic of sputum and surgical material in patients operated on for pulmonary tuberculosis. *Rossiyskiy meditsinskiy zhurnal* 2011 (6): 45–47 (In Russ.)].
 12. 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.
 13. Елипасhev А.А., Полуэктоv Е.И., Шпрыков А.С. Значение бактериологического исследования операционного материала у больных туберкулезом легких. *Медицинский альманах* 2015; 5: 118–121 [Elipashev A.A., Polyektov E.I., Shprykov A.S. Significance of bacteriological research of surgical material in patients with pulmonary tuberculosis. *Medicinskiy almanac* 2015; 5: 118–121 (In Russ.)].
 14. Рогожкин П.В., Бородулина Е.А. Отдаленные результаты лечения больных туберкулезом легких, перенесших радикальную резекцию. *Туберкулез и болезни легких* 2018; 96 (3): 24–28. [Rogozhkin P.V., Borodulina E.A. Remote results of treatment of patients with pulmonary tuberculosis who underwent radical resection. *Tuberkuljoz i bolezni ljogkih* 2018; 96 (3): 24–28 (In Russ.)]. <https://doi.org/10.21292/2075-1230-2018-96-3-24-28>.

Поступила в редакцию 04.12.2020 г.

Сведения об авторах:

Бородулина Елена Александровна — доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой фтизиатрии и пульмонологии Самарского государственного медицинского университета; 443099, Самара, Пионерская ул., д. 48; e-mail: borodulinbe@yandex.ru; ORCID 0000-0002-3063-1538;

Рогожкин Петр Владимирович — старший лаборант кафедры фтизиатрии и пульмонологии Самарского государственного медицинского университета; 443099, Самара, Пионерская ул., д. 48; врач — торакальный хирург Самарского областного клинического противотуберкулезного диспансера; 443068, Самара, ул. Ново-Садовая, д. 154; e-mail: rogojkin-petr@mail.ru; ORCID 0000-0003-2734-6178;

Олефинов Александр Сергеевич — врач — торакальный хирург Самарского областного клинического противотуберкулезного диспансера; 443068, Самара, ул. Ново-Садовая, д. 154; e-mail: Kfh828@mail.ru;

Колесник Анна Владимировна — врач — торакальный хирург Самарского областного клинического противотуберкулезного диспансера; 443068, Самара, ул. Ново-Садовая, д. 154; e-mail: anna-nazina@mail.ru;

Ураксина Мария Владимировна — аспирант кафедры фтизиатрии и пульмонологии Самарского государственного медицинского университета; 443099, Самара, Пионерская ул., д. 48; e-mail: mmuraxina@gmail.com; ORCID 0000-0002-6682-2440.