

## 14-летний мониторинг бактериологической верификации туберкулеза костей и суставов у детей

А.Ю. Мушкин, Е.Ю. Малярова, Д.Б. Маламашин Д.Б., Т.Ф. Оттен, Н.С. Соловьева.

ФГБУ СПбНИИФ Минздрава России

Современная концепция диагностики туберкулеза предполагает возможность двух уровней формулирования диагноза [1]:

- диагноз туберкулеза **устанавливают** на основании данных анамнеза, клиники, специфических кожных тестов, результатов лучевой и инструментальной диагностики и т.д., но при отсутствии выделения микобактерии туберкулеза из зоны поражения рассматривают как **“не подтвержденный (не доказанный)”**. Для внелегочных локализаций указывается возможность установления диагноза на основании результатов гистологического исследования;

- к **“доказанным (установленным достоверно)”** относят случаи обнаружения *M. tuberculosis complex* в зоне поражения, идентифицированных бактериологическим культуральным или более современными молекулярно-генетическими методами.

Выделение понятия “установленного, но не доказанного” туберкулеза с позиций доказательной медицины предполагает теоретическую возможность ошибки диагноза, базирующегося на методах, не обладающих абсолютной специфичностью. Это касается и стандартных морфологических методов: с одной стороны, характерное для туберкулеза гранулематозное воспаление может наблюдаться при разных инфекционных и неинфекционных заболеваниях, с другой стороны, специфическая гранулема с центральным некрозом обнаруживается не во всех случаях туберкулезного поражения, что зависит от фазы процесса, реактивности организма и других факторов.

Несмотря на относительную редкость, поражения костей и суставов остаются наиболее частой внелегочной локализацией туберкулеза у детей. В последние годы внимание к этой патологии уделялось, прежде всего, при изучении поствакцинальных БЦЖ-оститов, этиологически являющихся частным вариантом инфекции, вызываемой микобактериями туберкулезного комплекса [3]. Вместе с тем, в современной литературе практически отсутствуют публикации по этиологическому подтверждению диагноза при костном туберкулезе у детей. Отсутствие характеристики возбудителя, в том числе спектра его лекарственной чувствительности, характерно для большинства случаев заболевания, хотя проблема лекарственной устойчивости, в т.ч. множественной и широкой, давно перестала быть уделом только “взрослой” фтизиатрии.

Исторически сложившаяся в Российской Федерации

система централизации лечения больных костно-суставным туберкулезом детей в специализированной хирургической клинике ФГБУ СПбНИИФ предоставляет уникальную возможность для эпидемиологического анализа ситуации за достаточно длительный период времени.

**Цель исследования** – оценить эффективность бактериологической диагностики костно-суставного туберкулеза у детей на основании анализа результатов многолетнего контроля.

**Дизайн исследования:** анализ результатов обследования сплошной ретроспективной когорты. Выбор глубины ретроспекции - 14 лет (январь 1999 – декабрь 2012) обусловлен стандартизацией культуральных методов исследований микобактерий в бактериологической лаборатории СПбНИИФ, в том числе - стандартизации идентификации вакцинного штамма *M. bovis BCG* начиная с 1999 г.

### Задачи исследования:

- определить частоту бактериологического подтверждения костно-суставного туберкулеза у детей с дифференциацией по клиническим формам;
- изучить структуру культур микобактерий, выделенных от больных туберкулезом костей и суставов;
- изучить особенности лекарственной чувствительности микобактерий, выделенных от больных туберкулезом костей и суставов.

### Критерии включения:

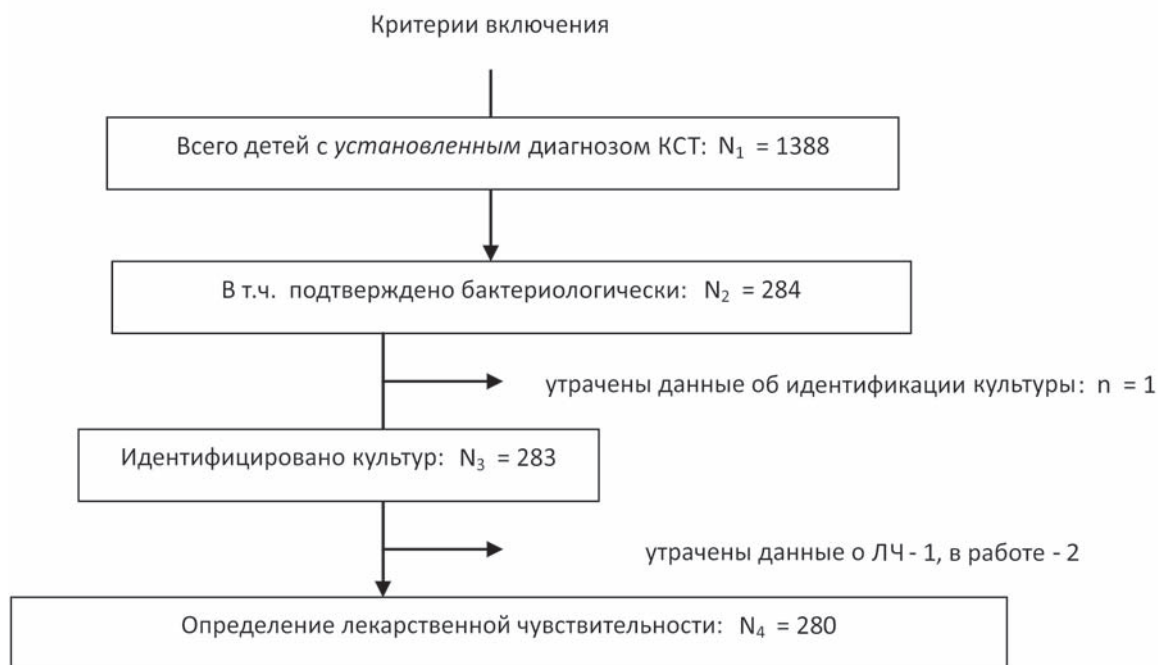
- факт оперативного лечения в детской хирургической клинике СПбНИИФ, либо в других учреждениях – сотрудниками клиники;
- установление диагноза на основании результатов гистологического и/или бактериологического исследования операционного материала;
- наличие документированных данных об исследовании материала в бактериологической лаборатории СПбНИИФ.

### Ограничения (условные критерии исключения)

Не анализируются результаты молекулярно-генетических и иммуногистохимических исследований, диагностическая ценность которых изучается в настоящее время и которые в указанный период не применялись (ИГХ) или применялись не регулярно (ПЦР).

### Материал и методы

Общая схема исследования представлена на рисунок 1.



**Рисунок 1.** Общая схема исследования

В период с 1999 по 2012 г.г. в детской хирургической клинике СПбНИИФ оперированы 1388 детей в возрасте от 10 месяцев до 17 лет с установленным по клинико-лучевым, а также гистологическим данным диагнозом костно-суставного туберкулеза. В структуре клинических форм преобладали пациенты с локальными очаговыми поражениями – 1081, туберкулезный спондилит выявлен у 196 больных, поражение крупных суставов – 109. При множественных костных локализациях учет проводили по клинически наиболее тяжелой патологии, считая таковой поражение позвоночника, менее тяжелой – артрит, наименее тяжелой – остит.

В подавляющем большинстве (более 99%) больные оперированы в клинике института. Операционный материал от всех больных исследован методом бактериоскопии с окраской флюорохромными красителями и посевом на плотные среды (Левенштейна-Йенсена, Финна-2); посев на жидкие среды в системе ВАСТЕС MGIT-960 используется, начиная с 2009 года. Идентификацию вакцинного штамма *M. bovis* BCG проводили на основании комплекса бактериологических, биохимических и ферментативных свойств культур, а также сполиготипирования [2, 4].

Лекарственную устойчивость микобактерий определяли методом абсолютных концентраций.

При неоднократном выделении культуры микобактерий, в т.ч. – при повторных операциях на разных очагах у одного больного, учет проводили по первому случаю идентификации.

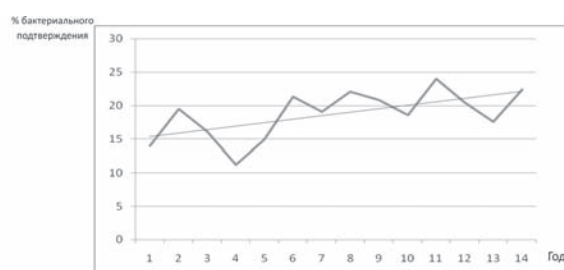
На этапах анализа из работы исключены данные по

двум утраченным культурам: в одном случае – до этапа типирования, во втором – до определения лекарственной чувствительности микобактерий (рисунок 1).

#### Результаты

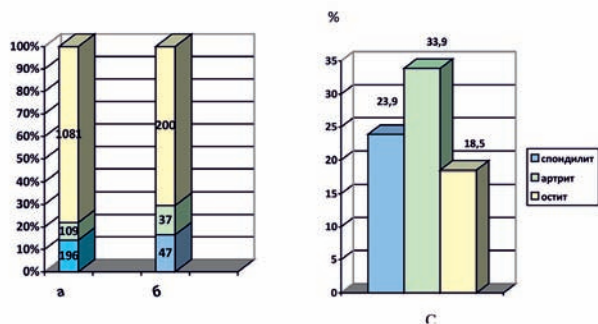
Из материала, полученного при оперативных вмешательствах у 1388 пациентов, микобактерии туберкулезного комплекса выделены в 284 случаях, что соответствует уровню бактериологического подтверждения, равному 20,4%.

Несмотря на нарастающий тренд, за все 14 лет изучения показатель не превысил 25% при колебаниях от минимума 11,2% (2002 г.) до максимума в 24% (2009 г.) (рисунок 2).



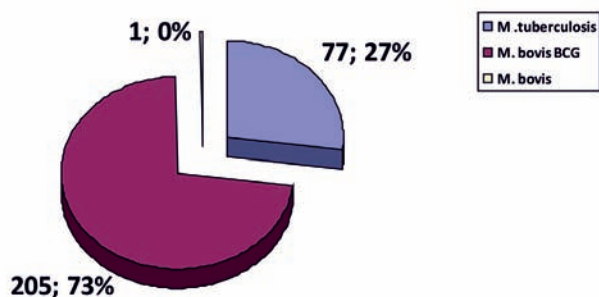
**Рисунок 2.** Тренд бактериологической верификации костного туберкулеза у детей за 14 лет (1999 – 2012 гг.)

Распределение клинических форм костного туберкулеза, рассчитанное для всех больных с установленным (а) и доказанным (б) диагнозом, свидетельствует об их относительной сопоставимости (рисунок 3 а, б). В то же время, средний уровень бактериологической верификации для спондилитов, артритов и оститов существенно различается, и составляет соответственно 23,94%, 33,9% и 18,5% (рисунок 3 с).



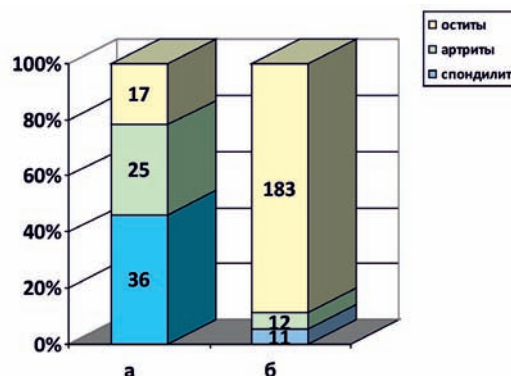
**Рисунок 3.** Структура клинических форм костного туберкулеза среди детей с установленным (а) и бактериологически доказанным (б) диагнозом и частота их бактериологического подтверждения (с)

Идентификация выделенных из операционного материала бактериальных культур свидетельствует о почти втрое более частом типировании вакцинного штамма *M. bovis* BCG в сравнении с *M. tuberculosis* (рисунок 4).



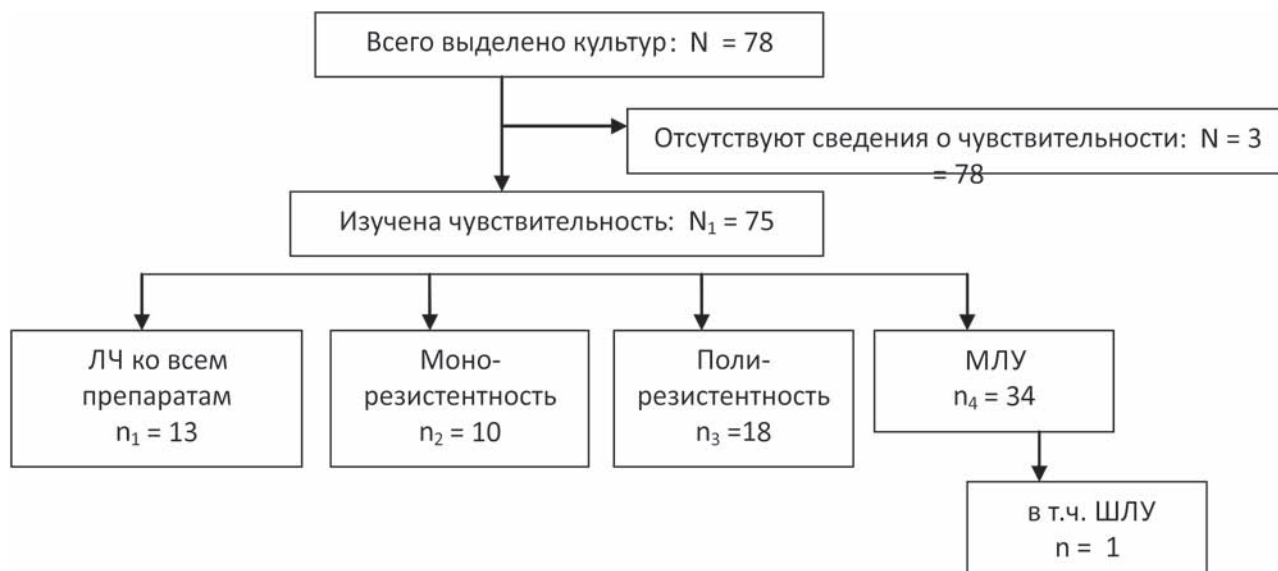
**Рисунок 4.** Результаты типирования 283 культур микобактерий, выделенных у детей, больных костно-суставным туберкулезом

Вместе с тем, структура клинических форм костного туберкулеза у больных с заболеванием, вызванным штаммами *M.tuberculosis* существенно тяжелее, чем при поствакцинальных осложнениях: в первой группе преобладают тяжелые поражения позвоночника и суставов, во второй - наименее тяжелые локальные формы (оститы) (рисунок 5).

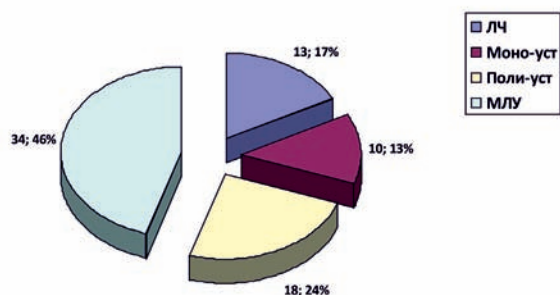


**Рисунок 5.** Структура клинических форм заболевания среди детей с достоверно подтвержденным костно-суставным туберкулезом, вызванным патогенными штаммами *M.tuberculosis* (а) и вакцинным *M. bovis* BCG (б)

Анализ чувствительности штаммов микобактерий к противотуберкулезным препаратам проведен по 75 из 78 культур. Результаты тестирования отражены на рисунке 5, а структура лекарственной устойчивости – на рисунке 6.



**Рисунок 6.** Распределение лекарственной чувствительности выделенных культур *M. tuberculosis*



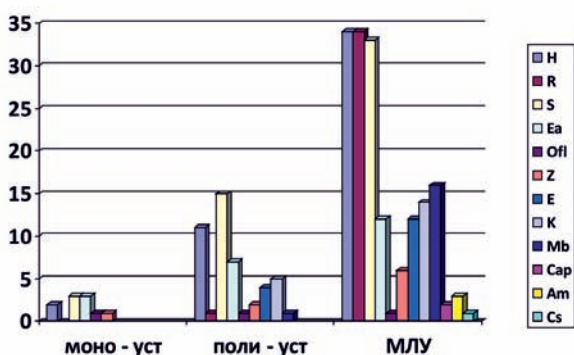
**Рисунок 6.** Структура лекарственной устойчивости *M. tuberculosis*, выделенных у 75 больных костным туберкулезом

В общей сложности устойчивость патогенных культур выявлена к 12 противотуберкулезным препаратам, при этом:

- среди культур с монорезистентностью обнаружена устойчивость к пяти разным препаратам, без какого-либо существенного преобладания одного из них;

- у полирезистентных культур существенно преобладает устойчивость к H и S;

- при МЛУ практически 100% культур помимо H и R устойчивы к S, от 30% до 45% - к E, Ea, K и Mb по каждому препарату (рисунок 7), при этом в 29 из 34 случаев (85,3%) микобактерии устойчивы к 4 и более (max – 7) препаратам.



**Рисунок 7.** Спектр лекарственной устойчивости выделенных при туберкулезе костей и суставов у детей вирулентных культур микобактерий

Микобактерии вакцинного штамма сохраняли лекарственную чувствительность ко всем тестируемым препаратам за исключением пипразинамида и циклосерина, что является их естественным свойством.

#### Закключение

Адекватность химиотерапии туберкулеза базируется на раннем определении лекарственной чувствительности микобактерий. Многолетний анализ особенностей костно-суставного туберкулеза у детей, проведенный

по данным специализированной по данной патологии хирургической клиники, выявляет определенные особенности этиологической верификации диагноза (в ее современном понимании):

1. Средний уровень бактериологического подтверждения диагноза, установленного на основании типичных клинико-лучевых и гистологических данных, составил 20,4% при колебаниях от 11,2% до 24%. Таким образом, в 3/4 случаев диагноз не удалось доказать культуральным методом, что заставляет, с одной стороны, согласиться с рекомендациями Всемирной организации здравоохранения использовать термины “установленный, но не подтвержденный” и “доказанный (или достоверно подтвержденный)” туберкулез, а с другой – для данной группы больных провести исследование информативности молекулярно-генетических и иммуногистохимических методов диагностики;

2. Наиболее высок уровень бактериологической верификации туберкулеза у детей с туберкулезом крупных суставов (33,9%); при спондилите и оститах он составляет соответственно 23,9%, и 18,5%;

3. Структура клинических форм костного туберкулеза, вызванного *M. bovis* BCG и *M. tuberculosis*, различна: среди поствакцинальных поражений значительно (81%) преобладают локальные формы – оститы, в то время, как заболевания, вызванные патогенными штаммами, более, чем в 70% случаев протекают с поражением позвоночника или крупных суставов;

4. Среди культур *M. tuberculosis*, выделенных при туберкулезе костей и суставов у детей, подавляющее большинство представляют лекарственно устойчивые: при полирезистентности чаще отмечается устойчивость к стрептомицину и изониазиду; при мультирезистентности - в 85% имеется устойчивость к 4 и более препаратам, в том числе почти 100% микобактерий помимо тубазида и рифампицина резистентны к стрептомицину, и более 30% - к этионамиду, этамбутолу, канамицину и/или микобутину.

#### Список литературы.

1. Лечение туберкулеза. Рекомендации – 4-е издание// Издание ВОЗ на русском языке, 2011 г. – 184 с.
2. Потапова Ю.С., Оттен Т.Ф., Малярова Е.Ю., Вишневский Б.И. Бактериологическая диагностика и идентификация возбудителей BCG-оститов у детей // Туб и болезни легких.-2011.-№ 7.-С. 24-29.
3. Руководство по легочному и внелегочному туберкулезу// под ред. Ю.Н.Левашева и Ю.М.Репина. СПб. – ЭЛБИ-СПб, 2008.- 544 с.
4. Mokrousov I., Vyazovaya A., Potapova Y., Vishnevsky B., Otten T., Narvskaya O. Mycobacterium bovis BCG-Russia clinical isolate with non-canonical spoligotyping profile//. J. Clin. Microbiol. -2010. -Vol. 48. -№ 12. -P. 4686-4687.