

рушениями. *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований*. 2013; 8(3): 108—11.

10. Сухих Г.Т., Шуршаллина А.В., Верясов В.Н. Иммуноморфологические особенности эндометрия у женщин с хроническим эндометритом. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2006; 141(1): 113—5.
11. Эллиниди В.Н., Давыдова Н.И., Калинина Н.М., Михнина Е.А., Добротворцева О.А. Современные возможности диагностики хронического эндометрита. *Журнал акушерства и женских болезней*. 2003; 52(3): 64—8.

REFERENCES

1. Vdovichenko Yu.P., Lescheva T.V. The use of combined therapy for the treatment of chronic endometritis after long-term presence of intrauterine contraceptive devices. *Reproduktivnoe zdorovye zhenshiny*. 2005; 4(24): 147—8. (in Russian)
2. Olsen M.A., Butler A.M., Willers D.M., Gross G.A., Hamilton B.H., Fraser V.J. Attributable Costs of Surgical Site Infection and Endometritis After Low Transverse Cesarean Section. *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* 2010; 31(3): 276—82.
3. Olsen M.A., Butler A.M., Willers D.M., Gross G.A., Fraser V.J. Comparison of Costs of Surgical Site Infection and Endometritis after Cesarean Section Using Claims and Medical Record Data. *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* 2010; 31(8): 872—5.
4. Tarasenko Yu.N. Optimization of complex treatment of postpartum endometritis based on the use of local antimicrobial therapy. *Byulleten' medicinskikh internet-konferenci*. 2012; 2(11): 840—3. (in Russian)
5. Muratova G.K., Subanova G.A., Matkerimov A.T., Askerov A.A.

- Questions diagnosing endometritis. *Vestnik Oshskogo gosudarstvennogo universiteta*. 2016; 4: 96—9. (in Russian)
6. Agarkov N.M., Afanasova E.P. Shear performance of system immunity in acute endometritis. Integrative processes in education and medicine — 2014: *Materialy mezhdunarodnoy nauchno-prakticheskoy konferentsii*. Kursk; 2014: 1: 3—5. (in Russian)
 7. Anokhova L.I., Pateyuk A.V., Kuznik B.I., Zagorodnaya Ye.D. Comparative effect of thymalin, timogen and Roncoleukin on the condition of immunity and hemostasis during the development of endometritis after cesarean section. *Sibirskiy meditsinskiy zhurnal (g. Irkutsk)*. 2012; 108(1): 48—51. (in Russian)
 8. Anohova L.I., Pateyuk A.V., Belokrinskaya A.V. Comparative effects of treatment with roncoleukin and genferon on some indicators of immunity and hemostasis during the development of endometritis after cesarean section. *Meditsina v Kuzbasse*. 2013; 1: 49—54. (in Russian)
 9. Danusevich I.N. State of the endocrine and immune systems in women with chronic endometritis and reproductive disorders. *Mezhdunarodnyy zhurnal prikladnykh i fundamental'nykh issledovaniy*. 2013; 8(3): 108—11. (in Russian)
 10. Sukhikh G.T., Shurshalina A.V., Veryasov V.N. Immunomorphological characteristics of endometrium in women with chronic endometritis. *Byulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny*. 2006; 141(1): 113—5. (in Russian)
 11. Jellinidi V.N., Davydova N.I., Kalinina N.M., Michnina E.A., Dobrotvortseva O.A. Modern diagnostics of chronic endometritis. *Zhurnal akusherstva i zhenskikh bolezney*. 2003; 52(3): 64—8. (in Russian)

Поступила 01.06.17

Принята к печати 15.06.17

МИКРОБИОЛОГИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2017

УДК 616.995.121-078

Федянина Л.В., Максимова М.С.

15-ЛЕТНИЙ ОПЫТ ДИАГНОСТИКИ ДИРОФИЛЯРИОЗА ЧЕЛОВЕКА

ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова», 119991, Москва

Представлены результаты работы клинко-диагностической лаборатории Института медицинской паразитологии, тропических и трансмиссивных заболеваний им. Е.И. Марциновского по диагностике дирофиляриоза человека, вызываемого *Dirofilaria repens*. За 15 лет диагностировано 165 случаев. Подавляющее большинство дирофилярий (89,7%) мигрировали и локализовались поверхностно (под кожей или слизистой оболочкой): в 88 случаях — на голове, из них 43,6% в области орбиты, в 25 случаях на туловище, из них 4 на гениталиях, 35 под кожей конечностей. В 16 случаях дирофилярии мигрировали во внутренние органы: в 10 — в легкие, в 4 — в плевру, в 1 — в тонкую кишку, в 1 — в сальник. При плевральной локализации заболевание протекало под маской туберкуломы, злокачественной опухоли, экссудативного плеврита, новообразования неясной этиологии.

Ключевые слова: лабораторная диагностика; *Dirofilaria repens*; микрофилярия; паразитемия; плевральной локализация.

Для цитирования: Федянина Л.В., Максимова М.С. 15-летний опыт диагностики дирофиляриоза человека. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2017; 62 (12): 753-757. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2017-62-12-753-757>

Fedyanina L.V., Maksimova M.S.

THE 15 YEARS' EXPERIENCE OF DIAGNOSTIC OF HUMAN DIROFILARIASIS

The E.I. Martcinovskii institute of medical parasitology, tropical and transmissible diseases of the Federal state autonomous educational institution of higher education "The I.M. Sechenov first Moscow state medical university" of Minzdrav of Russia, 119992 Moscow, Russia

Для корреспонденции: Максимова Мария Сергеевна, мл. науч. сотр. научного отдела Института медицинской паразитологии, тропических и трансмиссивных заболеваний им. Е.И. Марциновского ФГАОУ ВО ПМГМУ им. И.М. Сеченова; e-mail: maksimovmarij@yandex.ru

*The article presents the results of studies of the clinical diagnostic laboratory of the E.I. Martcinovskii institute of medical parasitology, tropical and transmissible diseases related to diagnostic of human dirofilariasis brought in by *Dirofilaria repens*. During last 15 years, 165 cases were diagnosed. The most of dirofilaria (89.7%) migrated and localized superficially under skin or mucous membrane: on the head in 88 cases and out of them 43.6% in the area of eye-socket, in 25 cases on the body out of them 4 on genitalia, in 35 cases under skin of extremities. In 1 cases dirofilaria migrated to inner organs: 10 in lungs, 4 in pleura, 1 in small intestine, 1 in omentum. In case of pleuropulmonary localization the disease was taking its course under mask of tuberculoma malignant tumor, exudative pleurisy, neoplasm of obscure etiology.*

Key words: laboratory diagnostic; *Dirofilaria repens*; microfilaria; parasitemia; pleuropulmonary localization.

For citation: Fedyanina L.V., Maksimova M.S. The 15 years' experience of diagnostic of human dirofilariasis. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics) 2017; 62 (12): 753-757. (in Russ.). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2017-62-12-753-757>*

For correspondence: Maksimova M.S., junior researcher of the scientific department of the E.I. Martcinovskii institute of medical parasitology, tropical and transmissible diseases of the Federal state autonomous educational institution of higher education "The I.M. Sechenov first Moscow state medical university". e-mail: maksimovmarij@yandex.ru

Conflict of interests. The authors declare absence of conflict of interests.

Acknowledgment. The study had no sponsor support.

Received 22.06.2017
Accepted 29.06.2017

Введение. В последние десятилетия во многих регионах мира, в том числе в России, наблюдается стойкая тенденция роста заболеваемости человека дирофиляриозами, расширяется ареал распространения паразитоза [1—5]. Эту тенденцию объясняют как природными, так и социальными факторами [1, 6, 7]. Потепление климата ведет к увеличению численности переносчиков-комаров, ускорению развития возбудителя, увеличению числа оборотов инфекции [2, 6, 7]. В социальном плане распространению инвазии способствуют интенсивные миграционные процессы, рост туризма, в том числе экотуризма в эндемичные зоны, путешествия с собаками [1, 6, 7].

Человека могут инфицировать 4 вида *Dirofilaria*. Чаще всего обнаруживаются *D. repens* и *D. immitis*, в Восточном полушарии инвазия человека обусловлена *D. repens*, в Западном преобладает *D. immitis* [2, 5]. Дирофиляриоз — природно-очаговый трансмиссивный зооноз. Дефинитивные хозяева возбудителя — псовые, кошачьи, виверровые. Заражение происходит при укусе инфицированным комаром. Инвазионные микрофилярии активно внедряются в кожу, линяют и превращаются в следующую стадию. Личинки мигрируют, многократно линяют и в среднем через 7—8 мес достигают половозрелой стадии [8]. Пути миграции личинок, юных и взрослых нематод проходят в подкожно-жировой клетчатке. Взрослые нематоды локализуются чаще всего на открытых частях тела: голове, шее, конечностях, торсе [8, 9]. В редких случаях *D. repens* мигрируют во внутренние органы, гениталии [7, 9, 10]. В типичных случаях вокруг осевших дирофилярий формируется паразитарная гранулема, затем соединительнотканная капсула. Дирофилярии могут персистировать в организме человека от 4—5 мес до 2 лет. С миграцией связаны характерные и очень тяжелые симптомы [7—9]. Человек ощущает передвижение гельминта, видит возникающие под кожей уплотнения, пятна эритемы [7, 11]. Гельминт может перемещаться со скоростью до 30 см в сутки. В случае локализации под конъюнктивой пациенты могут видеть нематоду в зеркале. Орбитальная локализация чрезвычайно опасна и регистрируется примерно в 50% случаев.

Цель работы — ознакомление врачей различной специализации с многолетним опытом работы лаборатории по диагностике дирофиляриоза человека.

Материал и методы. В клинико-диагностическую лабораторию (КДЛ) Института медицинской паразитологии, тропических и трансмиссивных заболеваний им. Е.И. Марциновского для диагностики дирофиляриозов поступали следующие биологические материалы

- изолированные нематоды или их фрагменты, реже — кусочки удаленных тканей;
- гистологические препараты;
- кровь.

Изолированные гельминты, фиксированные или живые (или их фрагменты), поступали чаще всего после хирургических вмешательств. Зарегистрировано несколько случаев самопроизвольного выхода нематод из-под кожи (свод стопы, внутренняя сторона бедра) или из-под слизистой оболочки полости рта. При исследовании гельминта мы определяли его пол, родовую и видовую принадлежность. *D. repens* — полупрозрачная нитевидная нематода молочно-белого цвета. Длина тела 100—170 мм, ширина 0,46—0,65 мм. Кутикула филярий имеет нежную поперечную и более грубую гребневидную продольную исчерченность. Полость тела заполнена трубками пищеварительной, выделительной и репродуктивной систем.

Капсулу или фрагменты тканей осторожно послойно разрезали или разделяли препаровальными иглами, выделяли гельминта или его фрагменты. Далее исследовали материал под бинокулярной лупой или под малым увеличением микроскопа, определяя систематические признаки — исчерченность кутикулы. Просматривали содержимое матки. Если в полости капсулы содержалась жидкость, ее исследовали методом концентрации, как кровь.

Исследование гистологических препаратов. При микроскопии гистологических срезов главным диагностическим признаком дирофилярий является наличие на поперечных или косых срезах гребешков кутикулы (рис. 1, 2). Они хорошо сохраняются даже при наличии частичного лизиса в очагах некробиоза и некроза. При просмотре срезов в трубках репродуктивной системы могут обнаруживаться эмбрионы или микрофилярии (рис. 3, 4). Вокруг филярий наблюдается картина острого или хронического аллергического воспаления. В свежих инфильтратах эозинофилы составляют иногда до 50—70% клеточного состава, присутствуют клетки лимфоцитарного ряда, макрофаги. При дальнейшей

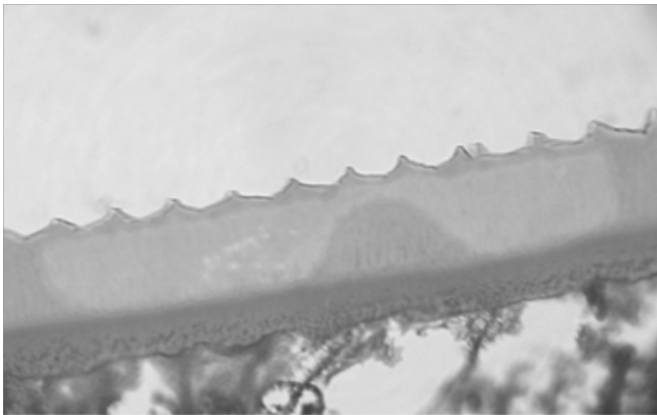


Рис. 1. Гребешки кутикулы и микрофилярии на поперечном срезе.

Здесь и на рис. 2 и 3: окраска гематоксилином и эозином; ув. 10×40 .

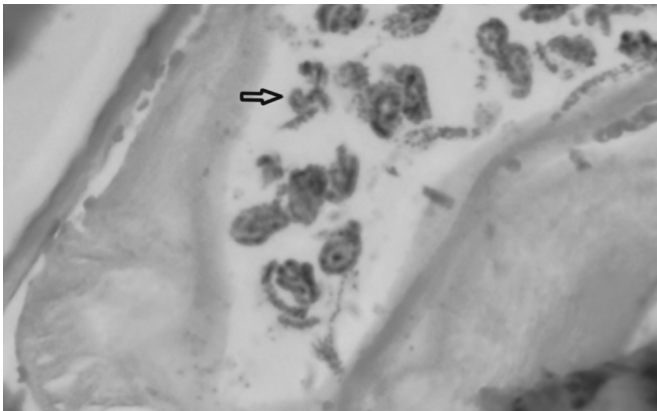


Рис. 2. Микрофилярии в полости тела нематоды.

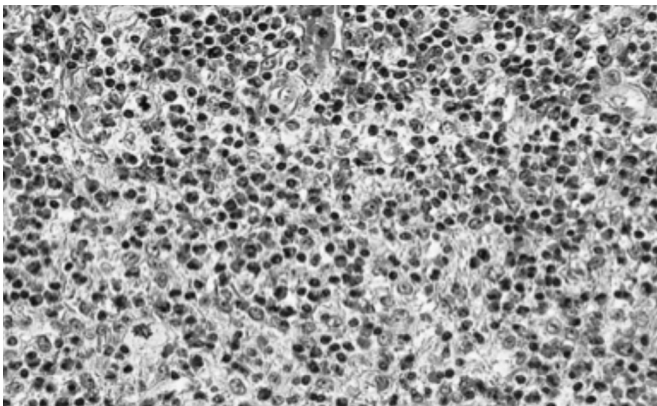


Рис. 3. Эозинофилы в клеточном инфильтрате вокруг микрофилярии.

шем формировании паразитарной гранулемы появляются нейтрофилы, гигантские эпителиоидные клетки типа рассасывания инородных тел, формируется соединительнотканная капсула. В ряде случаев деструктивно-резорбтивные процессы затрудняют диагностику: из-за лизиса морфологические признаки плохо различаются или вообще не видны.

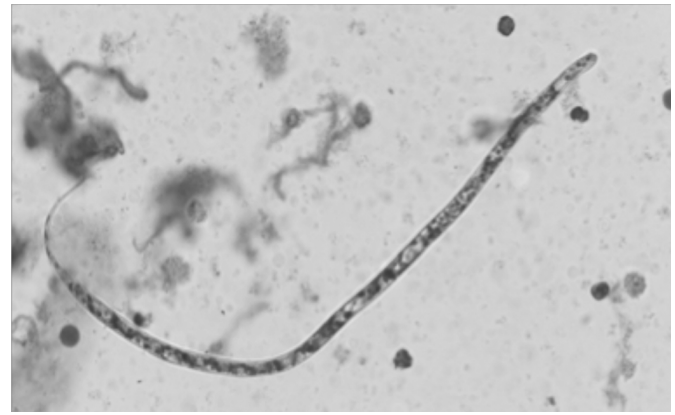


Рис. 4. Микрофилярия *D. repens* в толстой капле крови. Окраска по Романовскому; ув. 10×100 .

Исследование крови. В мире зарегистрировано всего несколько достоверных случаев паразитемии при диروفилариозе человека, один из них впервые в России — в нашей лаборатории [11]. Учитывая быстрые темпы распространения этого паразитоза, мы проводим исследование крови во всех случаях подозрения на диروفилариоз даже при установленном диагнозе. При исследовании на микрофилярии гемолизированной венозной крови мы применяем модификацию метода концентрации Кнота. Для гемолиза используется 2% формалин или дистиллированная вода в соотношении 1:9. При использовании формалина к осадку добавляют для контрастирования каплю раствора метиленового синего. В дистиллированной воде микрофилярии остаются живыми и сохраняют подвижность после центрифугирования. Осадок микроскопируют или готовят из него мазки. Препараты толстых капель и тонких мазков окрашивают по Романовскому. Единственный случай паразитемии, диагностированный в нашей лаборатории, выявлен при исследовании капли свежей крови из пальца методом прямой микроскопии. Личинки при этом сохраняли подвижность и легко визуализировались. Микрофилярии *D. repens* имеют закругленный головной конец и заостренный хвостовой. Длина личинки 0,22—0,29 мм, ширина соответствует диаметру эритроцита. Чехлик отсутствует. Ядерная колонка не достигает вершины хвостового конца.

Результаты и обсуждение. За 15-летний период работы КДЛ Института медицинской паразитологии, тропических и трансмиссивных заболеваний им. Е.И. Марциновского выявлено 165 случаев диروفилариоза человека (см. таблицу), обусловленного *D. repens*. Чаще подвергались заражению женщины и независимо от пола — люди в возрасте 40—70 лет. Дети, подростки, лица старше 80 лет представлены единичными случаями. В подавляющем большинстве случаев — 88 (53,3%) — диروفиларии локализовались на голове и в 72 из них — в орбитальной области. Зрегистровано 4 случая локализации диروفиларий на гениталиях: 1 — в половой губе женщины, 2 — под кожей мошонки, 1 — под кожей полового члена. Результаты соответствуют данным литературы.

Обращает на себя внимание довольно большое количество диروفиларий (9,6%), мигрирующих в легкие и плевру: 10 и 4 соответственно. Миграция в легкие ти-

Обнаружение *D. repens* в КДЛ Института медицинской паразитологии, тропических и трансмиссивных заболеваний им. Е.И. Марциновского за 15-летний период

Общее число случаев		Локализация, n (%)					внутренние органы
		поверхностная (подкожная, подслизистая)					
		голова		тело		конечности	
Мужчины	Женщины	Орбитальная область	Височная область, лобная доля, затылок, ротовая полость, гортань, слюнные железы	Шея, Грудь, Спина, Живот, подмышечная область, молочная железа, паховая область, копчик, ягодицы, гениталии (мошонка, половые губы, половой член)	Верхняя и нижняя	Легкие — 10 плевра — 4 тонкая кишка — 1 сальник — 1	
70	95	72 (43,6)	16 (9,6)	26 (15,2)	35 (21,2)	16 (9,6)	
Всего ...165							

пична для *D. immitis*, но не для *D. repens*. В одном случае кусочек легочной ткани с дирофилярией из парафинового блока тестирован в ПЦР [9, 11]. Последовательность нуклеотидов характерна для *D. repens*, а не для *D. immitis*.

Диагностика дирофиляриозов человека, как клиническая, так и лабораторная, представляет большие трудности. Пациенты первично обращаются к врачам других специальностей: дерматологам, офтальмологам, онкологам, хирургам и другим. К паразитологам они попадают после консультации перечисленных специалистов. При этом дирофиляриоз мимикрирует под диагнозы атеромы, невуса, фибромы, фурункула, кисты, тромбофлебита и т. д., а при миграции во внутренние органы — экссудативного плеврита, туберкуломы, злокачественной опухоли и других [6, 11]. У пациентов с упорным ощущением ползания под кожей подозреваются навязчивые состояния, фобии.

Мы согласны с другими авторами, что официальная статистика, как и представленные в этом сообщении данные, не отражает истинной заболеваемости дирофиляриозами [12], но иллюстрирует только часть случаев. Рутинные методы концентрации при исследовании крови на микрофилярии эффективны только при определенных значениях паразитемии. В случае, диагностированном в нашей лаборатории [11], в начале наблюдения в капле свежей крови из пальца обнаруживали 1—2 микрофилярии в 100 мкл (не всегда!). В конце наблюдения определялась 1 микрофилярия в 1 мл крови из вены при применении метода концентрации. Как выяснилось в процессе и после лечения, у нашей пациентки под кожей мигрировали и визуализировались 4 филарии.

Заключение. Следует отметить хорошую осведомленность врачей в Москве о дирофиляриозах как о возможном этиологическом факторе профильных патологических состояний, в том числе в легких и плевре. Необходима дальнейшая популяризация знаний об этом паразитозе при подготовке студентов и интернов медицинских вузов, постдипломном повышении квалификации, сертификации врачей КЛД и других специалистов.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бронштейн А.М., Супряга В.Г., Ставровский Б.И. и др. Дирофиляриоз человека в Московском регионе. *Медицинская паразитология*. 2003; 3: 51—6.
2. Сергиев В.П., Супряга В.Г., Бронштейн А.М. и др. Итоги изучения дирофиляриоза человека в России. *Медицинская паразитология*. 2014; 36: 3—9.
3. Сергиев В.П., Супряга В.Г., Морозов Е.Н., Жукова Л.А. Дирофиляриоз человека: диагностика и характер взаимоотношений возбудителя и хозяина. *Медицинская паразитология*. 2009; 3: 1—6.
4. Genchi C., Mortarino M., Rinaldi L. et al. Changing climate and changing vector-borne disease distribution: the example of *Dirofilaria* in Europe. *Veterinary Parasitology*. 2011; 176(4): 295—9.
5. Pampiglione S., Rivasi F. Human dирофиляриоз due to *Dirofilaria (Nochtiella) repens*: an update of world literature from 1995—2000. *Parasitologiya*. 2000; 42: 231—54.
6. Бронштейн А.М., Малышев Н.А., Жаров С.Н. и др. Первый в России случай выявления длительной микрофиляриемии *Dirofilaria repens* и первый опыт комбинированной терапии дирофиляриоза *repens*. *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2013; 3: 47—52.
7. Бронштейн А.М., Федянина Л.В., Малышев Н.А. и др. Дирофиляриоз человека, вызываемый *Dirofilaria (Nochtiella) repens* — мигрирующий гельминтоз кожи и внутренних органов: новые данные о «старой» болезни. Анализ собственных наблюдений и обзор литературы. *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2016; 3.
8. Аракелян Р.С. *Эпидемиолого-эпизоотологические особенности дирофиляриоза на территории Астраханской области*. Дис. канд. мед. наук. М.; 2007.
9. Морозов Е.Н., Супряга В.Г., Ракова В.М. и др. Дирофиляриоз человека: клинико-диагностические признаки и методы диагностики. *Медицинская паразитология*. 2014; 2: 13—7.
10. Федянина Л.В., Максимова М.С., Тихонова Д.В. и др. Клинический случай дирофиляриоза. *Медицинская паразитология*. 2016; 4: 52—4.
11. Федянина Л.В., Шатова С.М., Ракова В.М. и др. Микрофиляриоз

мия при диروفилариозе человека, вызванном *Dirofilaria repens* Raillie et Henry, 1911. Описание случая. *Медицинская паразитология*. 2013; 2: 3—7.

12. Бронштейн А.М., Малышев Н.А., Лучшев В.И. и др. Первый аутохтонный случай диروفилариоза лёгких в России. *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2011; 3: 50—3.

REFERENCES

1. Bronshtein A.M., Supryaga V.G., Stavrovskii B.I. et al. Human dirofilariasis in the Moscow region. *Meditsinskaya Parazitologiya*. 2003; (3): 51—6. (in Russian)
2. Sergiev V.P., Supryaga V.G., Bronshtein A.M. et al. Results of studies of human dirofilariasis in Russia. *Meditsinskaya Parazitologiya*. 2014; (3): 3—9. (in Russian)
3. Sergiev V.P., Supryaga V.G., Morozov E.N., Zhukova L.A. Human dirofilariasis: diagnosis and the pattern of pathogen-host relations. *Meditsinskaya Parazitologiya*. 2009; (3): 3—6. (in Russian)
4. Genchi C., Mortarino M., Rinaldi L. et al. Changing climate and changing vector-borne disease distribution: the example of *Dirofilaria* in Europe. *Veterinary Parasitology*. 2011; 176(4): 295—9.
5. Pampiglione S., Rivasi F. Human dirofilariasis due to *Dirofilaria (Nochtiella) repens*: an update of world literature from 1995—2000. *Parazitologiya*. 2000; 42: 231—54.
6. Bronshtein A.M., Malyshev N.A., Zharov S.N. et al. The first case of a long mikrofilariemia due to *Dirofilaria repens* and the first experi-

- ence of a combine therapy. *Epidemiologiya i infeksionnye bolezni*. 2013; 3: 47—52. (in Russian)
7. Bronshtein A.M., Fedyanina L.V., Malyshev N.A. et al. The human dirofilariasis caused by *Dirofilaria (Nochtiella) repens*: an migrating helminthiasis of a skin and entera: new data on «old» disease. Analysis of own observations and literature review. *Epidemiologiya i infeksionnye bolezni*. 2016; 3. (in Russian)
 8. Arakelyan R.S. *Epidemiology — epizootology features of the Dirofilariasis in the Astrakhan region* [Epidemiologo-epizootologicheskie osobennosti Dirofilariasis na territorii Astrakhanskoy oblasti]. Diss. Moscow, 2007. (in Russian)
 9. Morozov E.N., Supryaga V.G., Rakova V.M. et al. Human dirofilariasis: clinic — diagnostic signs and diagnostic methods. *Meditsinskaya Parazitologiya*. 2014; 2: 13—7. (in Russian)
 10. Fedyanina L.V., Maximova M.S., Tikhonova D.V. et al. Clinical case of a dirofilariasis. *Meditsinskaya Parazitologiya*. 2016; 4: 52—4. (in Russian)
 11. Fedyanina L.V., Shatova S.M., Rakova V.M. et al. Mikrofilariemia on the human dirofilariasis, due to *Dirofilaria repens* (Railliet et Henry, 1911). The cases description. *Meditsinskaya parazitologiya*. 2013; 2: 3—7.
 12. Bronshtein A.M., Malyshev N.A., Luchshev V.I. et al. The first autochthonny case of the human pulmonary dirofilariasis in Russia. *Epidemiologiya i infeksionnye bolezni*. 2011; 3: 50—3. (in Russian)
 13. Fedyanina L.V. Two interesting cases of the human dirofilariasis. *Meditsinskaya parazitologiya*. 2010; 2: 43—4. (in Russian)

Поступила 22.06.17

Принята к печати 29.06.17

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2017

УДК 615.281.03:616-002.5].015.8.076.7

Смирнова Н.С., Шипина Л.К., Лапенкова М.Б., Владимирский М.А.

ПРИМЕНЕНИЕ ЛИТИЧЕСКОГО МИКОБАКТЕРИОФАГА D29 ДЛЯ УСКОРЕННОГО ФЕНОТИПИЧЕСКОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ МИКОБАКТЕРИЙ ТУБЕРКУЛЕЗА К ПРОТИВОТУБЕРКУЛЕЗНЫМ ПРЕПАРАТАМ

ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова», НИИ фтизиопульмонологии, Минздрава РФ, 127994, Москва

В условиях широкого распространения лекарственно-устойчивых штаммов микобактерий туберкулеза (МБТ) необходимость ускоренных, в том числе фенотипических, методов определения чувствительности микобактерий к антимикробным химиотерапевтическим препаратам в клинических образцах является актуальным вопросом. Представлены результаты применения ускоренного фенотипического метода определения чувствительности к антимикробным химиотерапевтическим препаратам клинических штаммов МБТ на основе применения литического микобактериофага D29. Принцип метода состоит в оценке размножения микобактериофага в клетках МБТ в зависимости от ингибирования метаболизма растущих микобактерий в присутствии чувствительных к ним антибактериальных препаратов. Размножение микобактериофага оценивается посредством количественного анализа ДНК фага в полимеразной цепной реакции в реальном времени (ПЦР-РВ). В работе использованы 102 клинических штамма МБТ, полученные после первичного культивирования или рекультивирования в пробирках системы MGIT (Bactec). После получения положительных результатов роста МБТ образцы инкубировали в течение 48 ч в CO₂-инкубаторе в присутствии критических концентраций 10 широко употребляемых при лечении туберкулеза лекарственных субстанций в жидкой питательной среде Миддлбрук 7H9, обогащенной компонентами OADC, в формате 24-луночного культурального планшета с объемом питательной среды 1 мл на лунку, после чего в лунки планшета вносили 2 • 10³ плакообразующих единиц микобактериофага D29. Через 24 ч проводилось количественное определение ДНК фага с помощью ПЦР-РВ с использованием реагентов фаг D29, ООО «Синтол». Увеличение порогового уровня флюоресценции C_t более чем на 2 цикла в пробах с антибиотиком в сравнении с контролем свидетельствует о чувствительности исследуемого штамма МБТ к антибиотику. При сравнительном исследовании с посевом на питательную среду Левентштейна - Йенсена уровень совпадений полученных результатов составил 91%. При сравнительном исследовании с тест-системой Bactec ограниченного числа штаммов с определением чувствительности для 10 препаратов уровень совпадений результатов — 96%. Подтверждены данные об обратной зависимости величины ΔC_t и минимальной ингибирующей концентрации препарата. Отмечена предполагаемая высокая эффективность возможного набора реагентов на основе приведенного метода по критерию цена/качество.

Ключевые слова: микобактерии туберкулеза; лекарственная чувствительность; микобактериофаги.

Для корреспонденции: Владимирский Михаил Александрович, д-р мед. наук, проф., зав. лаб. иммунол. исследований и мол. диагностики туберкулеза; e-mail: mvladimirskij@mail.ru