

Московский городской научно-практический
центр борьбы с туберкулезом
Департамента здравоохранения города Москвы
(«МНПЦ борьбы с туберкулезом»)



УТВЕРЖДАЮ

Директор МНПЦ
борьбы с туберкулезом
Д.М.Н.
Е.М. Богородская

ОТЧЕТ

о научно-исследовательской работе по договору
№001/2013/СШ от 19.04.2013 г. «Изучение микобактерицидной
активности ультрафиолетового излучения импульсной ксеноновой
лампы установеи УИКб-01 «Альфа» на микобактерии туберкулеза
с широкой лекарственной устойчивостью при различной
экспозиции излучения»

Москва, 2013

Москва, 2013

В соответствии с техническим заданием и календарным планом к договору (ДОГОВОР № 001/2013/СШ от 19 апреля 2013 года) в Централизованной микробиологической лаборатории (ЦБЛ) Московского научно-практического центра борьбы с туберкулезом ДЗМ (МНПЦ борьбы с туберкулезом) проведены изучение и оценка микобактерицидной активности ультрафиолетового излучения импульсной ксеноновой лампы установки УИКБ-01 «Альфа» на микобактерии туберкулеза с широкой лекарственной устойчивостью при различной экспозиции излучения.

Цель исследования:

Определение эффективной экспозиции бактерицидного воздействия импульсного ультрафиолетового излучения установки УИКБ-01 «Альфа» на контрольные тест-штаммы *Mycobacterium terrae*, *Mycobacterium H₃₇Rv* и десять клинических штаммов *Mycobacterium tuberculosis*, обладающих широкой лекарственной устойчивостью (Приложение 2).

При выполнении указанного исследования ООО «Научно-Производственное Предприятие «МЕЛИТТА» предоставило ЦБЛ МНПЦ борьбы с туберкулезом установку УИКБ-01 «Альфа» и основные параметры проведения эксперимента:

- а) Ламинарный шкаф II степени биологической безопасности;
- б) Импульсная ксеноновая лампа, которая устанавливается в ламинарном шкафу II класса биологической безопасности на расстоянии 40 см от поверхности чашки Петри с облучаемой микобактериальной суспензией;
- в) При проведении эксперимента (сеанса облучения) в поле воздействия импульсной ксеноновой лампы должны располагаться 4 облучаемые чашки с суспензией;
- г) Необходимые экспозиции облучения должны составлять 20 сек., 1 мин. и 3 минуты по таймеру прибора.

Во время проведения эксперимента эти условия выполнялись сотрудниками ЦБЛ и контролировались командированным в ЦБЛ сотрудником ООО НП «МЕЛИТТА».

В процессе выполнения исследования проведено:

1. Определение эффективной экспозиции бактерицидного воздействия импульсного ультрафиолетового излучения на контрольные тест-штаммы: *Mycobacterium terrae* (коллекция МНИИ эпидемиологии и микробиологии им.Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора), *Mycobacterium H₃₇Rv*, 10 (десять) клинических штаммов *Mycobacterium tuberculosis*, обладающих широкой лекарственной устойчивостью (устойчивые к изониазиду, рифампицину, аминогликозидам, этамбутолу, пиразинамиду, капреомицину, этионамиду и

фторхинолонам) на 36 чашках Петри с питательной средой Левенштейна-Иенсена, засеянных стандартной суспензией указанных штаммов в трех временных экспозициях.

2. Повторное определение лекарственной чувствительности штаммов МБ в случае появления их роста после сеансов облучения.

Аранжировка опыта и ее обоснование.

При аранжировки опытов по испытанию установки УИКб-01 «Альфа» бактерицидного действия на микобактерии туберкулеза выбрана микробная нагрузка 250 КОЕ на 1 куб.м.

1. В качестве тест - объектов использованы *Mycobacterium terrae*, *Mycobacterium H₃₇Rv* и десять клинических штаммов *Mycobacterium tuberculosis*, обладающих широкой лекарственной устойчивостью, выделенных от больных туберкулезом.

Лекарственная чувствительность всех тест-штаммов определена в соответствии с рекомендациями приказа Минздрава РФ № 109 от 21.03.2003 и рекомендациями ВОЗ от 2008 года. (Необходима таблица).

Стандартизацию дозы микобактерий (МБ) производили по стандарту № 5 ГИСК 500 000 000 микробных тел в 1 мл стерильного физиологического раствора с последующими серийными разведениями до получения требуемой микробной нагрузки (250 КОЕ).

Полученную микробную суспензию каждого испытуемого штамма МБ делили на 2 порции, одну из которых (контроль исследования) засевали без облучения. Вторую порцию микробной суспензии облучали при различных экспозициях (20 сек., 1 мин., 3 мин.) и засевали на жидкую и плотную среды.

По завершении посевов облученных суспензий опытные и контрольные пробирки и чашки Петри помещали в термальную камеру и в автоматизированный прибор *BACTEC MGIT 960* для инкубации.

Учет результатов производили микроскопически и макроскопически по истечению максимальных сроков культивирования и датам регистрации прибора *BACTEC MGIT 960*.

2. Изучена лекарственная чувствительность выделенных культур клинических штаммов (№№ 8, 11) ко всем вышеуказанным лекарственным препаратам.

Повторно определена лекарственная чувствительных двух штаммов МБТ (№№ 8,11), выросших после облучения при экспозициях 20 сек и 1 минута.

Установленная ранее лекарственная устойчивость указанных штаммов (№№ 8, 11) после облучения не изменилась (Приложение 2).

Результаты опытов представлены в таблице 1. (См. Приложение 1)

Заключение:

В условиях проведенной выше аранжировки опыта при использованных режимах облучения достигнут полный бактерицидный эффект в отношении *Mycobacterium terrae*, *Mycobacterium H₃₇Rv* и восьми из десяти клинических штаммов с широкой лекарственной устойчивостью.

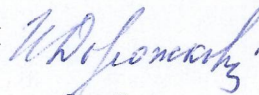
Получен рост двух клинических штаммов (№№ 8, 11) на жидкой и плотной питательных средах после 20 сек. и 1 мин. воздействия ксеноновой лампы установки УИКб-01 «Альфа» на суспензию этих штаммов и отсутствие роста МБТ при экспозиции 3 минуты.

Зав. отделом проблем лабораторной
диагностики туберкулеза и патоморфологии



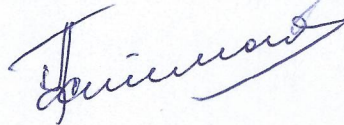
С.Г. Сафонова

Гл. н.с. отдела проблем лабораторной
диагностики туберкулеза и патоморфологии



И.Р. Дорожкова


Зав. ЦБЛ МНПЦ БТ



Г.Е. Фрейман

Согласовано:

Научный руководитель
МНПЦ борьбы с туберкулезом,
академик РАМН, проф.



В.И. Литвинов

29.08.2013г

ПРИЛОЖЕНИЕ 1 к Договору № 001/2013/СШ от 19 апреля 2013 г.

Результаты определения бактерицидной активности установки
УИКб-01 «Альфа» в отношении *Mycobacterium terrae*,
Mycobacterium H₃₇Rv и десяти клинических штаммов
Mycobacterium tuberculosis Таблица 1

| Условные номера исследованных культур МБ | Рост МБ после облучения | | | | | |
|--|-------------------------|--------|--------|----------|--------|--------|
| | Опыт | | | Контроль | | |
| | 20 сек. | 1 мин. | 3 мин. | 20 сек. | 1 мин. | 3 мин. |
| 1. <i>Mycobacterium terrae</i> | — | — | — | +++ | +++ | +++ |
| 2. <i>Mycobacterium H₃₇Rv</i> | — | — | — | +++ | +++ | +++ |
| 3. | — | — | — | +++ | +++ | +++ |
| 4. | — | — | — | +++ | +++ | +++ |
| 5. | — | — | — | +++ | +++ | +++ |
| 6. | — | — | — | +++ | +++ | +++ |
| 7. | — | — | — | +++ | +++ | +++ |
| 8. | +++** | +++ | — | +++ | +++ | +++ |
| 9. | — | — | — | +++ | +++ | +++ |
| 10. | — | — | — | +++ | +++ | +++ |
| 11. | ++* | ++ | — | +++ | +++ | +++ |
| 12. | — | — | — | +++ | +++ | +++ |

Примечание: (—) - отсутствие роста МБ;

(++, +++) - наличие роста МБ:

* ++ - 21 — 100 КОЕ (колониеобразующих единиц) — «умеренное» бактериовыделение;

**+++ — > 100 КОЕ — «обильное» бактериовыделение

Основание: ПРИКАЗ МЗ РФ от 21 марта 2003 г. № 109 «О совершенствовании противотуберкулезных мероприятий в Российской Федерации».

ПРИЛОЖЕНИЕ 2 к Договору № 001/2013/СШ от 19 апреля 2013 г.

Результаты определения резистентности исследованных культур МБ к противотуберкулезным препаратам

Таблица 2

| Условные номера исследованных культур | Противотуберкулёзные препараты I и II ряда | | | | | | | | | | | | | | |
|---------------------------------------|--|---|---|---|-----|----|----|----|-----|-----|-----|-----|-----|----|----|
| | S | I | R | E | PZA | Km | Et | Cs | PAS | Ofx | Lfx | Cfx | Mox | Am | Cm |
| 1. H ₃₇ Rv ATCC 25618 | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S |
| 2. M. terrae ATCC 15755 | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S |
| 3. | R | R | R | R | R | R | — | — | — | R | R | R | R | R | R |
| 4. | R | R | R | R | R | R | R | S | S | R | R | R | R | S | S |
| 5. | R | R | R | R | R | R | S | S | R | R | R | R | R | R | R |
| 6. | R | R | R | R | R | R | — | R | — | R | R | R | R | R | R |
| 7 | R | R | R | R | R | S | — | S | — | R | R | R | R | S | R |
| 8.1 (до облучения) | R | R | R | R | R | S | — | S | S | R | R | R | R | R | R |
| 8.2. (после облучения) | R | R | R | R | R | S | - | S | S | R | R | R | R | R | R |
| 9. | R | R | R | R | R | R | — | R | — | R | R | R | R | R | R |
| 10. (до облучения) | R | R | R | R | R | R | — | R | — | R | R | R | R | R | R |
| 11.1 (после облучения) | R | R | R | R | R | R | — | R | — | R | R | R | R | R | R |
| 11.2 | R | R | R | R | R | R | - | R | - | R | R | R | R | R | R |
| 12. | R | R | R | R | R | R | — | R | — | R | R | R | R | R | R |

Примечание: S – стрептомицин;
I – изониазид;
R – рифампицин;
E – этамбутол;

Km – канамицин;
Et – этионамид;
Cs – циклосерин;
PAS – ПАСК;

Ofx – офлоксацин;
Lfx – левофлоксацин;
Cfx – цiproфлоксацин;
Mox – моксифлоксацин;

Am – амикацин;
Cm – капреомицин.
PZA – пипразинамд

ATCC – American Type Culture Collection