

Міністерство освіти і науки України
Дніпровський національний університет імені Олеся Гончара
Факультет медичних технологій діагностики та реабілітації
Кафедра загальної медицини з курсом фізичної терапії

ДИПЛОМНА РОБОТА
за освітньо-кваліфікаційним рівнем «Магістр»

«Особливості інфекційного контролю, бактерій збудників туберкульозу»

Виконавець –

студентка групи РМ-21м

«___» _____ 2023 р. _____ (підпис)

Керівник –

д-р біол. наук, професор

«___» _____ 2023 р. _____ А.І. Вінніков
(підпис)

Завідувач кафедри загальної медицини

з курсом фізичної терапії, д-р біол. наук, професор

«___» _____ 2023 р. _____ Т.М. Шевченко
(підпис)

м. Дніпро – 2023 р.

РЕФЕРАТ

Дипломна робота: 47 с., 9 табл., 50 джерел.

Об'єкт досліджень – є частота виявлення мікобактерій туберкульозу та спектр їх чутливості до антибіотиків

Методика та методи дослідження: Дослідити частоту виявлення туберкульозу при обстеженні різних груп пацієнтів з підозрою на туберкульоз, клінічним, мікроскопічним та молекулярно-генетичним методами обстеження пацієнтів бактеріологічні методи, диск-дифузійний метод.

Теоретична значущість роботи полягає у створенні компонента бази даних про поширення стійкості до антибіотиків серед умовно-патогенних мікроорганізмів, що викликають патологічні розлади у людини.

Практична значущість роботи полягає у розробці обґрунтування для підбору схеми раціональної антибіотикотерапії захворювань на туберкульоз.

Особистий внесок дослідника в ході виконання даної магістерської роботи полягає в самостійному проведенні літературного пошуку з досліджуваного питання, визначенні мети, положень завдань та гіпотези дослідження, бактеріологічному дослідженні та застосуванні методу антибіотикограми для вивчення чутливості мікобактерій туберкульозу до антибіотиків, а також у проведенні аналізу отриманих результатів.

Отже стійкість мікобактерій туберкульозу до протитуберкульозних препаратів є однією з найсерйозніших проблем в Україні. Визначення чутливості мікобактерій до медикаментозних препаратів є необхідним для своєчасної корекції лікування, а також є важливим показником епідемічної ситуації до туберкульозу.

RESUME

Thesis: 47 pp., 9 tables, 50 sources.

The object of research is the frequency of detection of mycobacterium tuberculosis and the spectrum of their sensitivity to antibiotics

Methodology and methods of research: To study the frequency of detection of tuberculosis during examination of different groups of patients with suspicion of tuberculosis, clinical, microscopic and molecular genetic methods of examination of patients, bacteriological methods, disc-diffusion method.

The theoretical significance of the work lies in the creation of a database component on the spread of antibiotic resistance among opportunistic microorganisms that cause pathological disorders in humans.

The practical significance of the work lies in the development of a rationale for selecting a rational antibiotic therapy scheme for tuberculosis.

The personal contribution of the researcher during the execution of this master's thesis consists in independently conducting a literature search on the research question, determining the goal, task statements and hypothesis of the research, bacteriological research and application of the antibioticogram method to study the sensitivity of tuberculosis mycobacteria to antibiotics, as well as in conducting an analysis of the obtained results.

Therefore, the resistance of tuberculosis mycobacteria to anti-tuberculosis drugs is one of the most serious problems in Ukraine. Determining the sensitivity of mycobacteria to drugs is necessary for timely correction of treatment, and is also an important indicator of the epidemic situation of tuberculosis.

ЗМІСТ

ВСТУП	5
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	8
1.1 Сучасні проблеми інфекційного контролю хворих на туберкульоз.	8
1.2. Характеристика мікобактерій туберкульозу	11
1.3. Проблеми вивчення чутливості збудників мікобактерій туберкульозу до антибіотиків	14
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ	20
2.1. Методи клінічного обстеження пацієнтів	20
2.2. Методи виділення та мікробіологічного вивчення біологічного матеріалу пацієнтів	24
2.3. Молекулярно-генетичні методи ідентифікації збудників туберкульозу і визначення рівнів стійкості до антибіотиків	24
РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ	30
3.1 Результати клінічного обстеження груп пацієнтів хворих або з підозрою на туберкульоз за категоріями	30
3.2 Результати виділення та мікробіологічного вивчення біологічного матеріалу хворих або з підозрою на туберкульоз за категоріями	38
3.3. Результати молекулярно-генетичної ідентифікації збудників туберкульозу і визначення рівнів стійкості до антибіотиків	44
ВИСНОВКИ	49
ПЕРЕЛІК ПОСИЛАНЬ	50

ВСТУП

Актуальність. В останні роки все більшого значення набуває ріст захворюваності на туберкульоз, виявлення стійких штамів мікобактерій туберкульозу до антибактеріальних препаратів. У цей час антибіотикостійкість є серйозною проблемою не тільки в Україні а в цілому світі. Виявлення стійких штамів мікобактерій туберкульозу до антибактеріальної терапії пов'язане з багатьма факторами: не контрольоване лікування, переривання лікування з різних причин (зловживання алкоголю, наркозалежність, асоціальний спосіб життя, супутні захворювання).

А також розповсюдження туберкульозної інфекції: не дотримання інфекційного контролю (етикет кашлю, носіння медичної маски пацієнтом, відвідування пацієнтів строго в засобах індивідуального захисту, ізоляція пацієнта - бактеріоносія, розподіл потоку хворих, розподіл пацієнтів за чутливістю). Стійкість до антибіотиків є загальною проблемою механізмів пов'язаних з синтезом стійкості до антибіотиків виникає внаслідок змін або мутацій в ДНК бактерій, або придбання ними генів стійкості до антибіотиків від інших видів бактерій. Останнє відбувається шляхом горизонтального перенесення генів. Ці зміни дозволяють бактеріям пережити вплив антибіотиків, призначених для їхнього знищення.

Мета. Дослідити частоту виявлення туберкульозу при обстеженні різних груп пацієнтів з підозрою на туберкульоз, клінічним, мікроскопічним та молекулярно-генетичним методами обстеження пацієнтів

Визначення біологічних властивостей мікобактерій туберкульозу. Дослідити частоту виявлення стійкості збудників туберкульозу до антибіотиків у пацієнтів хворих на туберкульоз, різної статті, віку, соціально-економічним положенням. Цей розділ є дослідницьким.

Відповідно до мети було поставлено наступні завдання:

- виділити з біологічного матеріалу від дорослих осіб з підозрою на туберкульоз та ідентифікувати ізоляти туберкульозу;

- визначити спектри стійкості виділених ізолятів до антибіотиків.

Об'єктом наукового дослідження є частота виявлення мікобактерій туберкульозу та спектр їх чутливості до антибіотиків.

Предметом наукового дослідження є штами мікобактерій туберкульозу, що виділені з біологічного матеріалу (мокротиння, промивні води бронхів, плевральна рідина) пацієнтів з підозрою на туберкульоз.

Гіпотеза наукового дослідження має такі положення:

- різноманітні властивості мікобактерій туберкульозу, існують різні рівні чутливості бактерій до туберкульозу;
- чутливість до антибіотиків є вирішальним фактором при призначенні проти туберкульозних схем лікування.

Теоретична значущість роботи полягає у створенні компонента бази даних про поширення стійкості до антибіотиків серед умовно-патогенних мікроорганізмів, що викликають патологічні розлади у людини.

Практична значущість роботи полягає у розробці обґрунтування для підбору схеми раціональної антибіотикотерапії захворювань на туберкульоз.

Особистий внесок дослідника в ході виконання даної магістерської роботи полягає в самостійному проведенні літературного пошуку з досліджуваного питання, визначенні мети, положень завдань та гіпотези дослідження, бактеріологічному дослідженні та застосуванні методу антибіотикограми для вивчення чутливості мікобактерій туберкульозу до антибіотиків, а також у проведенні аналізу отриманих результатів.

Наукова новизна полягає у застосуванні спектру чутливості до антибіотиків мікобактерій туберкульозу молекулярно-генетичним методом.

Список скорочень:

ІК- інфекційний контроль

ТБ- туберкульоз

МБТ- мікобактерії туберкульозу

БЦЖ- (бацила Кальметта-Герена) – це жива вакцина, яка призначена захищати немовлят і дітей молодшого віку від найбільш важких форм туберкульозу.

ВІЛ- інфекція-вірус імунодефіциту людини

ІНН- ізоніазид проти туберкульозний антибіотик першого ряду

РГ- пептидоглікан

АГ- арабіногалактан

ММ- мікомембрана

РДМ- димікоцерозати фтіоцеролу

ЛАМ- ліпоарабіноманнану

РІПЕ- 4 протитуберкульозні антибіотики першого ряду (ріфампіцин, ізоніазид, піразинамід, етамбутол)

ВРАЛ- 3 проти туберкульозні антибіотики другого ряду застосування (бедаквіліну, претоманіду та лінезоліду)

КСБ- кислотостійкі бацили

МЧ- медикаментозна чутливість

ПТП- проти туберкульозні препарати

З- піразинамід антибіотик першого ряду застосування

ПЛР- полімеразна ланцюгова реакція

ВООЗ- всесвітня організація охорони здоров'я

РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1 Сучасні проблеми інфекційного контролю хворих на туберкульоз.

Відомо що туберкульоз – це інфекційне захворювання, яке передається повітряно-крапельним шляхом. Тому велике значення має інфекційний контроль – це комплекс заходів, спрямованих на мінімальний ризик передачі мікобактерій туберкульозу до здорової людини. Інфекція передається від особи хворим на туберкульоз (зазвичай – легеневим) до здорової людини повітряно-крапельним шляхом, через вдихання інфекційного аерозолі, тобто дрібних часточок, які знаходяться у повітрі та містять життєздатні мікобактерії туберкульозу.

Профілактика та контроль туберкульозної інфекції є одним із ключових компонентів стратегії подолання туберкульозу, яка застосовується як на рівні установи, так і на національному рівні для запобігання поширенню захворювання на туберкульоз, у тому числі його стійких до ліків форм [1, 3]. Нам відомо що з 1999 року ВООЗ розробила та оновила міжнародну систему утручань ІРС для зниження ризику передачі та впливу *Mtb*. Згідно загально прийнятої практики в туберкульозі виділяють три рівні інфекційного контролю: адміністративний, контроль навколишнього середовища (інженерний) та захист органів дихання.

Адміністративний контроль це – найважливіший рівень інфекційного контролю. Це заходи спрямовані на зниження ризику контакту з людьми хворими туберкульозом [1, 2]. І включає сортування та ізоляцію пацієнтів із підозрюваною або підтвердженою інфекцією ТБ, швидку діагностику та початок лікування, сприяння дотриманню респіраторної гігієни [3, 7, 14].

Інженерний контроль – полягає у використанні засобів контролю навколишнього середовища для запобігання поширенню аерозолі і зниження його концентрації [4, 7].

Третій рівень -це використання засобів захисту органів *дихання* коли є високий ризик інфікуванням *M. tuberculosis*.

Відомо що профілактика туберкульозу включає дотримання заходів інфекційного контролю, та є важливою у лікувально-профілактичних закладах, місцях довгострокового перебування людей та проживання хворих на туберкульоз. Йдеться не лише про медичні заклади, а й про інші установи, які працюють з особами із груп високого ризику інфікування [2, 3, 39].

Встановлено що профілактика поділяється на специфічну і неспецифічну.

Специфічна – це вакцинація та ревакцинація вакциною БЦЖ [3, 13, 32]

До неспецифічної профілактики відноситься :туберкуліно діагностика (проба Манту) один раз на рік віком до 15 років; флюорографічне обстеження (1раз на рік) після 16 років; рентгенографія органів грудної порожнини за медичними показаннями; хіміопрофілактика контактним особам (по показанням); дотримуватися правил особистої гігієни; збалансованого харчування; відмовитись від шкідливих звичок, особливо паління; вести здоровий спосіб життя; уникати простудних хвороб та своєчасно звертатись до лікарів.

Відомо що туберкульоз є серйозною глобальною проблемою охорони здоров'я на сьогоднішній день, незважаючи на зусилля з контролю над інфекційними захворюваннями і поставленою чіткою метою подолання туберкульозу до 2030 року. Але нажаль війна в Україні внесла свої корективи, вже за перший рік війни спостерігається ріст захворювання [1, 3, 5].

Тому своєчасна та точна діагностика має важливе значення для зниження захворюваності та смертності від туберкульозу

Встановлено що обстеження з метою виявлення ТБ проводиться за наявності таких симптомів: кашель більше двох тижнів; підвищена температура тіла більше 7 днів; задишка при незначному фізичному навантаженні; біль в області грудної клітки; поганий апетит, постійна слабкість; безпричинна втрата ваги; підвищена пітливість, особливо вночі; кровохаркання (наявність крові в мокроті).

Згідно загально прийнятої практики обстеження з метою виявлення поза легеневого ТБ проводиться за наявності таких симптомів: тривалий біль у хребті та великих суглобах нез'ясованої етіології; збільшення периферичних лімфатичних вузлів нез'ясованої етіології; хронічне захворювання нирок і сечовивідних шляхів; безпліддя у жінок і чоловіків нез'ясованої етіології; увеїт.

Відомо що до груп ризику ТБ належать: діти і дорослі, які мали близький контакт з хворим на ТБ; діти і дорослі, які живуть з ВІЛ; особи, які працюють або працювали в минулому у таких виробничих умовах, де є вплив діоксину силіціуму (шахтарі, металургійна галузь); медичні працівники; особи, які зловживають алкоголем чи вживають наркотики; військовослужбовці [28, 29].

Крім того, стійка до ліків форма туберкульозу є серйозною загрозою для зусиль з контролю та подолання туберкульозу. Тому існує потреба в ефективних методах діагностики та лікування мікобактерій туберкульозної інфекції. Існують значні досягнення в лабораторних діагностичних методах для виявлення мікобактерій туберкульозу, які спрямовані на доповнення або заміну існуючих звичайних методів з метою зменшення не діагностики та покращення лікування інфекційних захворювань [2, 6].

В наслідок багатьох дослідженнях встановлено що мікобактерії складаються з різних патогенних і сапрофітних видів мікобактерій, які виділені від людей і навколишнього середовища. Дві широкі групи мікобактерій, а саме туберкульозні та нетуберкульозні мікобактерії, мають деякі спільні риси, але їх значною мірою можна розрізнити за допомогою молекулярного аналізу та використання мікробіологічних тестів, які включають тест на зниження ніацину, тест на нітрати та тест на уреазу [2, 7].

Відомо що туберкульоз вражає будь-яку систему органів тіла, а клінічна картина залежить від місця ураження. Імунна система людини впливає на клінічну картину туберкульозу. Туберкульоз поділяють на первинний – частіше всього зустрічається легеневий, коли він вражає легені, та поза легеневий, коли є враження інших частин тіла, (поза легеневий туберкульоз): мозкові оболонки, нирки, кістки, печінку, шкіру тощо. Інфекція передається повітряно-крапельним

шляхом, коли хвора на активний легеневий або гортанний туберкульоз людина кашляє або чхає [5, 7, 39].

Встановлено що близько 99% дорослих людей живуть з живими паличками Коха в організмі, оскільки контакт з ними неминучий в умовах високої щільності населення. А от чи призведе зараження до хвороби, залежить від нашого імунітету. Якщо імунна система не спрацює як слід, то може розвинутих прихована інфекція або туберкульоз. Інколи від зараження до прояву хвороби минає рік.

Є кілька причин коли імунна система не спрацює: по-перше, мікобактерії вміють уникати знищення і впливати на імунну відповідь, по-друге, розвитку туберкульозу сприяють ВІЛ-інфекція, брак вітамінів А і D тощо [11, 12, 13].

Відомо що хвороба протікає приховано, і людина часто не звертає уваги на тривале погане самопочуття та намагається лікувати «застуду» і «кашель» самостійно. Тому лікування, яке розпочинається невчасно, вимагає більших затрат часу та зусиль.

Своєчасний початок лікування туберкульозу – це запорука успішного одужання. Тому вкрай важливо знати основні симптоми захворювання, щоб вчасно звернутися до лікаря.

1.2. Характеристика мікобактерій туберкульозу

Відомо що причину туберкульозу відкрив у 1882 році німецький мікробіолог Роберт Кох. Цим він підтвердив, що туберкульоз є хворобою, яка може передаватися від однієї людини до іншої. Він назвав агента, який виявив це – туберкульозна паличка. Кілька років потому було виявлено, що збудник прокази нагадує цю туберкульозну паличку, і обидві з них були класифіковані разом у групу під назвою *Mycobacterium* [5, 6].

Крім того при мікроскопічному огляді присутній характерний Фіолетовий паличкоподібний організм – це туберкульозна бактерія. Ця назва, що означає

«гриб-бактерія», відноситься до форми палички, коли вона росте в лабораторії, якщо її побачити в мікроскоп, вона утворює купи маленьких паличок із захисними шарами навколо них, і тому виглядає як гриб [10, 7, 42].

Відомо що бацила, яка викликає туберкульоз, називається *Mycobacterium tuberculosis*. У міру розвитку наукових методів дослідники з'ясовано, що туберкульозом інфікуються не лише люди, але й існує форма туберкульозу, яка інфікує корів та іншу худобу. Ця паличка отримала назву від латинського слова «корова» і отримала назву *Mycobacterium bovis*.

Встановлено що важливою «техногенною» версією *Mycobacterium bovis* є вакцина БЦЖ, на початку 20 століття вчені розробили версію бацили під назвою *Bacillus Calmette-Guérin* (BCG), яка була набагато менш інфекційною та агресивною.

Ця версія зараз використовується для вакцинації людей. Вводячи її в організм, вакцина викликає реакцію імунної системи та формує імунну відповідь проти «справжньої» мікобактерії туберкульозу – і в той же час вакцина достатньо нешкідлива, щоб не викликати туберкульозну інфекцію [15, 30].

Відомо що мікобактерії туберкульозу швидко гинуть під впливом прямих сонячних променів. Якщо мікобактерії захистити від сонячного світла, вони залишається живими і заразним до десяти тижнів (наприклад, у висохлій слині).

Це маленька бацила, яка може протистояти більшості дезінфікуючих засобів і часто залишається в стані спокою. Щоб вижити, їй потрібен кисень: тому її називають аеробною бактерією. *Mycobacterium tuberculosis* росте повільно: вона само відтворюється кожні 24 – 48 годин. Це надзвичайно повільно для бактерій. Є й інші бактерії, які розмножуються кожні 20 хвилин [20, 21].

В наслідок багатьох дослідженнях встановлено що бацила має паличкоподібне тіло і довжину приблизно 0,2 м.н. Його не видно неозброєним оком; щоб виявити це, потрібен мікроскоп. Тіло бацили оточене клітинною стінкою, яка має товсту міцну форму захищає вміст клітини від зовнішнього

оточення. Усередині бацили знаходяться так звані органели, невеликі мікро одиниці, які гарантують, що бацила може виробляти енергію, необхідну для виживання [17, 18, 40].

Відомо що за своєю анатомією *Mycobacterium tuberculosis* нагадує багато інших бактерій, але має унікальні особливості, які ускладнюють діагностику та лікування. Клітинна стінка бактерії надзвичайно товста і складна. Речовина під назвою міколева кислота знаходиться на клітинній стінці і захищає бацилу від імунної відповіді організму.

Саме ці міколієві кислоти також відповідають за певну характеристику всіх мікобактерій, яка використовується для ідентифікації *Mycobacterium tuberculosis* у діагностичних тестах.

Зазвичай бактерії ідентифікують шляхом додавання барвників на лабораторну поверхню, на якій вони ростуть. Цей процес називається «забарвленням». Різні бактерії по-різному реагують на фарбники, і це дозволяє розрізняти їх. Через товсту клітинну стінку з міколевими кислотами мікобактерії туберкульозу погано реагують на фарбувальні речовини. Насправді пофарбувати будь-яку мікобактерію дуже важко [7, 18].

Існує одна спеціальна техніка фарбування мікобактерій: фарбування за Цилем-Нільсеном, назване на честь двох німецьких лікарів, які вперше описали цей процес. При фарбуванні за допомогою фарби за Цилем-Нільсеном міколієві кислоти швидко забарвлюються і утримують їх усередині палички. Під мікроскопом бацила виглядає як яскраво-червона паличка, а поверхня, на якій вона росте, забарвлена в синій колір [23, 42].

Усі бактерії, які таким чином реагують на фарбування за Цилем-Нільсеном, називаються кислотостійкими бактеріями. Методика фарбування використовується для діагностики туберкульозної інфекції.

Зразок мокротиння (слизу, що відкашлюється з нижніх дихальних шляхів) фарбують за Цилем-Нільсеном. Якщо будуть виявлені кислотостійкі бактерії, це, швидше за все, *Mycobacterium tuberculosis*. Потім у лабораторному звіті

вказуємо «AFB positive», тобто виявлено кислотостійкі бактерії, і пацієнт хворіє на туберкульоз.

1.3. Проблеми вивчення чутливості збудників мікобактерій туберкульозу до антибіотиків

Відомо що туберкульоз (ТБ) є однією з найскладніших інфекцій для лікування, тому успіх лікування залежить від вірно підібраної антибактеріальної схеми.

Для отримання довготривалого одужання потрібне кілька місяців комплексної терапії. Причини, що зумовлюють тривале лікування, складні та багатofакторні.

Однак однією з основних труднощів лікування туберкульозу є стійкість інфікуючої бактерії *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb) до багатьох різних класів протимікробних засобів.

Цей огляд зосередиться на основних прогалинах у нашому розумінні внутрішньої стійкості Mtb до ліків і на тому, як функціональні та хімічно-генетичні методи можуть допомогти усунути ці прогалини. Краще розуміння внутрішньої стійкості до ліків допоможе закласти основу для стратегій роззброєння та обходу цих механізмів для розробки більш потужних протитуберкульозних методів лікування [8,22,45].

Інфекція *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb), як відомо, важко піддається лікуванню.

Стандартні схеми лікування чутливого до ліків туберкульозу (ТБ) зазвичай тривають 6 місяців і передбачають комбіновану терапію з 2 – 4 антибіотиками залежно від стадії лікування. Навіть після 6 місяців хіміотерапії у 5 – 10% пацієнтів може виникнути рецидив захворювання.

Відомо, що складність лікування туберкульозу може бути пов'язана з багатьма факторами, включаючи різне проникнення ліків в інфіковані вогнища і провали в лікуванні через токсичні побічні ефекти ліків [8, 46]. Однак

основним фактором, що ускладнює лікування туберкульозу, є проблема стійкості бактерій до ліків, яку в цілому можна класифікувати на дві основні категорії: внутрішня стійкість до ліків і набута стійкість до ліків [19, 25, 44].

Встановлено що внутрішня резистентність відноситься до вродженої властивості виду бактерій, яка робить антибактеріальний засіб або групу антибактеріальних препаратів менш ефективними [9, 24].

Важливо відзначити, що внутрішні механізми резистентності зазвичай присутні у всіх (або майже всіх) представників виду бактерій. У деяких випадках гени, що надають внутрішню резистентність, еволюціонували спеціально для захисту від антибактеріальних сполук, метилтрансферазу РНК, яка захищає рибосому від зв'язування макролідів, лінкозамідів і стрептограміну. В інших випадках гени, необхідні для мікробного росту та вірулентності, можуть сприяти внутрішній стійкості до ліків. Наприклад, багато основних генів у *Mtb* беруть участь у біосинтезі та регуляції клітинної оболонки. Клітинна оболонка *Mtb* захищає *Mtb* від імунного тиску господаря та служить селективним бар'єром для проникнення антибіотиків [15, 30].

Згідно загально прийнятої практики набута стійкість до ліків відноситься до стійкості до антибіотиків, яка розвивається через специфічні хромосомні мутації або горизонтальний перенос генів [10, 16]. У *Mtb* уся набута резистентність до ліків виникає в результаті мутації, оскільки немає доказів недавнього горизонтального перенесення генів у *Mtb* багато мутацій, які надають *Mtb* високого рівня набутої лікарської стійкості, добре вивчені та охарактеризовані. Наприклад, мутації часткової втрати функції ферменту *katG*, що активує ізоніазид (INH) та є основним механізмом, за допомогою якого виникає стійкість до INH. Стійкість до рифампіцину виникає в основному через точкові мутації в області визначення резистентності до рифампіцину на бета-субодиниці РНК-полімерази.

Незважаючи на те, що протягом багатьох років було виявлено багато мутацій, що викликають резистентність, зростає визнання мутацій стійкості до ліків, які виходять за межі активатора або мішені ліків і які зазвичай

спричиняють резистентність від низького до середнього. Така резистентність від низького до середнього є клінічно значущою але набагато гірше вивчений [22, 47].

Давно було визнано, що мікобактерії мають високий рівень внутрішньої стійкості до різноманітних антибіотиків [25, 48]. Цей фенотип, як правило, пояснюється відносною непроникністю оболонки мікобактерій, яка відрізняється від класичних грамнегативних або грампозитивних видів бактерій.

Оболонка *Mtb* – це складна мережа, що складається переважно з пептидоглікану, арабіногалактану та міколевої кислоти, яку ми будемо називати комплексом *mAGP*. У самому внутрішньому шарі, найближчому до плазматичної мембрани, знаходиться пептидоглікан (PG), який сам по собі ковалентно зв'язаний з мережею полімерів арабіногалактану з AG шляхом етерифікації, з'єднаний товстий шар довголанцюгових жирних кислот, званих міколевими кислотами, які утворюють двошарову псевдо зовнішню мембрану, відому як мікобактеріальна зовнішня мембрана (MOM) або мікомембрана.

У міколієві кислоти вкраплено вибрану групу білків, включаючи пориноподібні білки і системи секреції а також гліколіпіди, пов'язані з вірулентністю, такі як димікоцерозати фтіоцеролу (PDIM).

За межами MOM знаходиться мікобактеріальна капсула, яка складається головним чином зі складних вуглеводів, таких як α -D-глюкан і D-арабіно-D-маннан, а також вибраної групи ліпідів і білків. Через типові умови росту, які використовуються в мікобактеріальних середовищах, капсула зазвичай знімається з поверхні клітин *Mtb* і не досліджується під час аксенічного росту [19, 33].

Внутрішню стійкість *Mtb* до багатьох різних класів антибіотиків часто пояснюють непроникністю MOM. Гідрофільні розчини не здатні проходити через міколієві кислоти і, як вважають, покладаються на опосередковану білками транслокацію через пориноподібні білки [16, 35].

Вважається, що гідрофобні сполуки застрягають у міколевій кислоті з низьким рівнем рідини і не можуть ефективно пройти через MOM.

Існують значні дані на підтримку цієї моделі використання як хімічного, так і генетичного руйнування мережі міколевої кислоти для посилення поглинання та активності антибіотиків. Клінічні наслідки цього явища можна побачити в взаємодії між рифампіцином, який пригнічує РНК-полімеразу та етамбутолом, який пригнічує біосинтез арабіногалактану та ліпоарабіноманнану (LAM) [26, 37]. Оскільки арабіногалактан служить якорем для шару міколевої кислоти, інгібітори АГ, такі як етамбутол, також порушують MOM. Незважаючи на його відносно скромну активність, етамбутол включено до складу схем RIPE першого ряду (ріфампіцин, ізоніазид, піразинамід, етамбутол) для чутливого до ліків туберкульозу. Раніше висловлювалося припущення, що етамбутол служить головним чином як «мережа безпеки» для запобігання виникненню стійкого до рифампіцину та ізоніазиду туберкульозу).

Нещодавно клінічну важливість етамбутолу пояснювали ефективним розподілом цього препарату по всіх туберкульозних ураженнях легенів.

Окрім цих ролей, клінічний успіх етамбутолу може бути зумовлений його взаємодією з рифампіцином [27, 36]. Рифампіцин є гідрофобною високомолекулярною сполукою, для якої мікобактеріальна оболонка служить бар'єром проникності, порушуючи належне утворення арабіногалактану, етамбутол сприяє більш ефективному поглинанню рифампіцину для прояву його бактерицидної дії [27, 43].

Незважаючи на давню оцінку того, що поверхневі структури бактерій можуть перешкоджати поглинанню антибіотиків, фізико-хімічні деталі цього явища для мікобактерій не повністю зрозумілі.

Хіміко-генетичні дослідження показали, що пов'язані з mAGP мутанти в Mtb гіперчутливі до певних антибіотиків, але не до інших, що свідчить про те, що клітинна оболонка є відповідним бар'єром для певних препаратів, таких як рифампіцин і бедаквілін, але не для інших препаратів, таких як лінезолід.

В останньому сценарії незрозуміло, чи існують конкретні імпортери цих ліків чи на дифузію препарату не впливає оболонка. Хоча розмір сполуки, безсумнівно, негативно впливає на поглинання за певним порогом фізико-хімічні властивості, які дозволяють деяким сполукам, але не іншим, легко долати оболонку *Mtb*, не встановлені повністю [29, 43].

Майбутні хіміко-генетичні дослідження можуть бути зосереджені на профілюванні *mAGP*-асоційованих мутантів проти фізико-хімічно різноманітного набору протитуберкульозних сполук або на практиці будь-яких сполук, для яких можна кількісно контролювати поглинання, щоб визначити, які хімічні каркаси ефективно блокуються оболонкою *Mtb*.

Такого підходу можна досягти за допомогою існуючих бібліотек CRISPRi в масштабі генома.

Крім того, можна створити більш цільові бібліотеки (*degron* або CRISPRi), щоб спеціально націлюватися на гени, асоційовані з *mAGP*, і профілювати сприйнятливість кожного мутанта [29, 50].

Ці скринінги можуть допомогти виявити, які фізико-хімічні властивості пов'язані зі здатністю чи нездатністю проходити мікобактеріальну оболонку, і допомогти визначити «правила» поглинання ліків мікобактеріями.

Більш повне розуміння мікобактеріальної оболонки як бар'єру для поглинання антибіотиків прокладе шлях для кількох важливих застосувань [16, 49].

По-перше, ці знання можуть бути використані для кращого прогнозування синергічних комбінацій лікарських засобів та інформування про доклінічні випробування нових комбінованих терапій.

Наприклад, кілька досліджень показали, що бедаквілін можна потенціювати шляхом пригнічення правильного синтезу *mAGP*). Частково успіх комбінації бедаквіліну, претоманіду та лінезоліду (BPaL) може бути пов'язаний з руйнуванням міколевої кислоти претоманідом що призводить до збільшення поглинання бедаквіліну. Ця синергія, ймовірно, пошириться на доклінічні інгібітори DprE1 [17, 49].

По-друге, знання генетичної регуляції синтезу клітинної оболонки дозволить раціонально розставляти пріоритети для кандидатів на відкриття ліків на основі цілей. В ідеалі ці дослідження виявлять мішені, інгібування яких не тільки призводить до загибелі бактерій, але й посилює поглинання та активність інших препаратів [29, 31].

По-третє, як згадувалося вище, знання фізико-хімічних «правил», які дозволяють сполукам проходити через mAGP, допоможе спрямувати зусилля медичної хімії на покращення поглинання сполук [18, 38].

Нарешті, ці знання використовуємо для визначення специфічних механізмів синергії, спрямованих на різні компоненти комплексу mAGP.

Ізоніазид та етамбутол використовувалися разом у першій лінії терапії туберкульозу протягом десятиліть, але було показано, що вони є дещо антагоністичними або в кращому випадку доповнюють хіміко-генетичне профілювання сполук, що націлюються на клітинну оболонку, може допомогти виявити інші мішені, або в тому ж шляху, або в паралельних шляхах, які діятимуть синергетично, таким чином оптимізуючи терапевтичний потенціал цього дуже вразливого хімічного комплексу [19, 38].

РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1. Методи клінічного обстеження пацієнтів

Об'єктом клінічного дослідження були група пацієнтів в туберкульозному відділенні КП «КПТД»ДОР» Аналіз і вивчення результатів проводилися з використанням історій хвороб пацієнтів ,що перебували у відділенні з січня по березень 2023 року.

Використовувалися клінічно суб'єктивні і клінічно об'єктивні методи дослідження.

Відомо що до суб'єктивних належать: скарги хворого із приводу стану , анамнез відповідного захворювання (*anamnesis morbi*) та анамнез життя (*anamnesis vitae*). Об'єктивними методами клінічного обстеження є огляд , пальпація, перкусія й аускультация.

Нами було проведено клінічне обстеження 100 історій хвороб пацієнтів які поступили у відділення за три місяці 2023 року (з січня по березень) і поділено на такі категорії:

70-пацієнтів з підтвердженим діагнозом туберкульоз (серед них 10 жінок та 60 чоловіків)

30-пацієнтів з підозрою на туберкульоз(10 жінок та 20 чоловіки)

Всім були проведення такі клінічні дослідження: зріст; вага; температура тіла; артеріальний тиск; пульс; пальпація.

Використовувався метод аускультации ,суть якого полягає у прослуховуванні внутрішніх звуків тіла, за допомогою стетоскопа та з метою дослідження системи кровообігу і дихання (шуми серця і дихання), а також шлунково-кишкового тракту (шуми кишечника).Даний метод є невід'ємною частиною фізичного обстеження пацієнта і зазвичай використовується для надання переконливих доказів щодо включення або виключення різних патологічних станів, які клінічно проявляються у пацієнта.

Примінився метод перкусії, який закладається в постукуваннях по частинах тіла пальцями, руками або невеликими інструментами в рамках медичного огляду. Це робиться для визначення:

Розмір, консистенція та межі органів тіла; наявність або відсутність рідини на ділянках тіла. При перкусії частини тіла утворюється звук, схожий на гру на барабані. Звук є ознакою типу тканини всередині частини тіла або органу.

З метою поточення діагнозу використовувався метод ЕКГ (Електрокардіографія) – простий та інформативний метод функціональної діагностики, який заснований на реєстрації й аналізі електричних імпульсів, що виникають при роботі серця і їх графічного запису у вигляді зубців на спеціальну паперову плівку. Ми використовуємо електрокардіограф «Мідас» нами вводились дані пацієнта (ФІО, вік, ріст, АТ) ,все робили згідно інструкцій після чого результати ЕКГ друкували на паперовій стрічці, поділеній на великі та дрібні квадрати. При вертикальному підрахунку за їх допомогою визначали силу електричних розрядів (вольтаж), а при горизонтальному – час (секунди). Довжина дрібних клітин становить зазвичай 1 мм, що у горизонтальному положенні відповідає 0,04 с (або 0,08 с залежно від швидкості зняття кардіограми). Відповідно, великі квадрати, що складаються з 25 маленьких (5 на 5), дорівнюють 5 мм і 0,2 с.

За допомогою цих значень оцінювали основні параметри кардіограми:
зубці; інтервали; сегменти.

При проведенні кардіограми у трьох стандартних підведеннях найчастіше використовуються такі значення:

- зубець Р – показує ступінь скорочення та розслаблення передсердь;
- зубець Т – відображає реполяризацію міокарда та розслаблення шлуночків;
- зубець R – відображає поширення імпульсів по міокарду правого та лівого шлуночків;
- зубець S – показує збудження у базальному шарі шлуночків;
- зубець Q – показує збудження перегородки між шлуночками;
- інтервал PQ – фіксує час проведення збудження по передсердям міокарда;

- ST – показує період повного збудження шлуночків.

При закінченні апарат видає плівку, де автоматично вказаний попередній діагноз. Для заключного діагнозу плівку консультує лікар кардіолог.

Для визначення вентиляційної функції легень використовували метод спірографії. Ми використовуємо комплекс діагностичний спірометричний «MIR SPIRO» для проведення попередньої діагностичної оцінки і спостереження за пацієнтами. Після введення даних пацієнта (ФІО, вік, ріст, АТ) ,ми все робимо згідно інструкцій після чого результати спірограми друкуємо на паперовій стрічці, поділеній на великі та дрібні квадрати. Спірометрія записується, якщо сидячий суб'єкт кілька разів спокійно дихає при дихальному об'ємі, робить максимальний вдих, виконує форсований видих, який продовжується щонайменше 6 секунд із постійним інтенсивним зусиллям (форсована життєва ємність [FVC]), і, нарешті, робить енергійний повний вдих (інспіраторна життєва ємність).

Ці маневри представлені як петля об'єм-час або як петля потік-об'єм (побудова графіка потоку проти FVC та життєвій ємності вдиху). Петлі потоку-об'єму ретельно перевіряються на предмет спеціальних моделей, які можуть вказувати на різні клінічні або анатомічні стани. Серед найпоширеніших показників, отриманих за допомогою спірометричного відстеження, є ФЖЕЛ (літри), об'єм форсованого видиху в першу секунду видиху (ОФВ до ФЖЕЛ (у відсотках) і швидкість форсованого видиху в середині видиху (ФОВ, літри/секунду). Аналіз вимірних значень ОФВ 1 і ФЖЕЛ (та їх співвідношення) і загальної ємності легень дозволило нам поставити вентиляційний діагноз наявності обструктивної або рестриктивної фізіології знижений ОФВ 1 і низьке співвідношення ОФВ 1 /ФЖЕЛ у поєднанні з великою загальною ємністю легень вказують на обструктивне захворювання великих дихальних шляхів і бронхів. При закінченні апарат видає плівку ,де автоматично вказаний попередній діагноз. Для заключного діагнозу плівку консультує лікар

Для остаточного обстеження використовується основний метод дослідження - рентгенографія. Нами використовується рентген легень в двох проекціях: пряма (задньо - передня) проекція при рентгенографії легень; передньо - задній знімок

легенів; та виконання правого і лівого бокового знімка грудної клітини. Це використання випромінювання для отримання зображень тканин, органів, кісток і судин, з яких складається людське тіло. Лікування пацієнта залежить від точного отримання рентгенологічних зображень

Відомо що рентгенівське зображення засноване на тому факті, що тканина поглинає фотони рентгенівського променю залежно від електронної щільності тканини.

Це означає, що кістки поглинають більше фотонів, ніж м'яка тканина. Кількість фотонів, що проходять через тіло, потім буде допомогою плівки, або тепер за допомогою детекторів зображень, які перетворюють пряме ослаблення фотонів тілом у цифрові зображення.

Отримані зображення являють собою двовимірну проекцію тривимірної структури. Недоліком рентгенівських методів є іонізуюче випромінювання, яке обмежує корисність цих методів для поздовжніх досліджень.

При додатковому обстеженні використовується - комп'ютерна томографія. (КТ) широко використовується методам клінічної діагностики, і має такі переваги, як широка доступність, неінвазивне виявлення, низька вартість, висока ефективність, глибоке проникнення в біологічну тканину та легкий процес збору даних. (КТ) використовується на ослабленні рентгенівського випромінювання, викликаному поглинанням або розсіюванням фотонів рентгенівського випромінювання, коли вони взаємодіють з тканинами або контрастними речовинами.

Під рентгенівським опроміненням тверді частини тіла (такі як кістки та затверділі тканини), м'які тканини (такі як кровоносні судини, мозок, м'язи та пухлини) і повітряні порожнини в тілі можна легко відрізнити одна від одної завдяки їх відмінності в електронній густині.

Лабораторні дослідження

2.2. Методи виділення та мікробіологічного вивчення біологічного матеріалу пацієнтів

Об'єктом дослідження були зразки мокротиння, виділені від осіб хворих на туберкульоз (70 пацієнтів) та з підозрою на туберкульоз (30 пацієнтів). Дослідження виконані на базі бактеріологічного відділу Клінічно діагностичної лабораторії №1

Ми на основі існуючих рекомендацій стосовно техніки безпеки роботи з інфікуючим матеріалом дотримуємося таких правил: (ми одягнені у відповідні засоби індивідуального захисту, в спеціально відведеному місці, яке добре провітрюється, щоб запобігти вдиханню аерозолів неінфікованими людьми) Пояснюємо пацієнту метод збору біоматеріалу.

Потім проводимо диференціювання зразки мокротиння, від слини та слизу, оскільки останні не є нормальним матеріалом і можуть дати хибно негативні результати. Забезпечуємо належне маркування зразка із зазначенням імені пацієнта та дати збору. Зібраний зразок зберігається при температурі від 2 до 8 С і відразу транспортується в лабораторію в спеціальному термо контейнері з охолоджувачем.

2.3. Молекулярно-генетичні методи ідентифікації збудників туберкульозу і визначення рівнів стійкості до антибіотиків

Згідно загально прийнятої практики ідентифікація проводилась при використуванні МБТ методом ПЛР-тестуванні для виявлення МБТ використовують біологічні віділення ,такі як :мокротиння; бронхіальний секрет; плевральну рідину; й інші види діагностичного матеріалу.

Після забору біологічного матеріалу виділяємо ДНК. Потім до розчину отриманої ДНК додаємо реакційний буфер, суміш нуклеозидтрифосфатів, праймери, полімерази і проводим ампліфікацію в програмованому термостаті (термоциклері), та оцінюємо результат.

Присутність у пробі послідовності-мішені свідчить про наявність *M. tuberculosis* у дослідному зразку.

Проте, ПЛР не дає остаточної відповіді на питання про активність туберкульозного процесу, тому оцінювати отриманий результат потрібно з урахуванням клініко-рентгенологічних даних.

Метод ПЛР використовуємо як додатковий діагностичний метод під час диференціальної діагностики в комплексі з іншими методами лабораторної діагностики ТБ і не застосовуємо як скринінговий метод для виявлення хворих на ТБ через можливість не вірних позитивних результатів [29, 38].

Нами було використано найбільш ефективний метод діагностики - медикаментозної чутливості *M. tuberculosis* молекулярно-генетичний методи, що ґрунтується на гібридизації з ДНК-зондами (LPA), зокрема GenoType MTBDRplus.

При цьому нами проводились обробка матеріалу досліджень із використанням цих методів які охоплюють такі етапи:

- виділення ДНК з культур *M. tuberculosis* або безпосередньо з клінічного матеріалу;
- ПЛР для ампліфікації фрагментів генів, що асоціюються з медикаментозною стійкістю мікобактерій;
- гібридизація ПЛР-продуктів з ДНК-зондами;
- візуалізація результатів гібридизації, за якої відбувається детекція мікобактерій комплексу *M. tuberculosis*,
- а також наявність або відсутність мутацій у дослідних генах [29, 47].

Згідно загально прийнятої практики встановлено новий, ефективний та швидкий метод діагностики ТБ - тест GeneXpert MTB/RIF, що дає можливість проводити детекцію *M. tuberculosis* діагностичного матеріалу й чутливості до R (рифампіцину) за дві години.

Усі стадії тесту повністю автоматизовані. Екстракція, ампліфікація і детекція ДНК здійснюються автоматично в закритому картриджі, що зменшує можливість крос - контамінації.

Відомо що проведення дослідження є двоступінчастим процесом, що охоплює обробку клінічних зразків і власне ПЛР у режимі реального часу, під час якої відбувається ампліфікація специфічної послідовності гена *groB*, яка потім тестується молекулярними маяками (molecular beacons) на мутації в ділянці, що обумовлює стійкість до R.

Використання методики Xpert MTB/RIF для швидкого виявлення MDR - туберкульозу приміняємо в бактеріологічних лабораторіях ПТЗ і мікроскопічних пунктах у районах із високим рівнем захворюваності на ТБ [26, 29].

На відміну від попередньої версії Xpert MTB/RIF, для підвищення чутливості тесту картридж Xpert MTB/RIF Ultra, крім гена *groB*, включає дві різні мультикопійні мішені, а також у ньому використовується більша реакційна камера (50,0 мкл ПЛР-реакції в Xpert MTB/RIF Ultra порівняно з 25,0 мкл в Xpert MTB/RIF).

У нових картриджах Xpert MTB/RIF Ultra використовується повністю вкладена ПЛР, швидше термоциклювання (отримання негативного результату за 65 хв, позитивного - за 77 хв), а також поліпшені розчини та ферменти.

Згідно лабораторних результатів, скорочення термінів культивування мікобактерій із збереженням або збільшенням чутливості та специфічності методу є основним напрямком розвитку мікробіологічної діагностики туберкульозу в Україні.

Відомо, що за допомогою системи ВАСТЕС, рідкі середовища забезпечують більш швидке отримання результату порівняно з щільними. Фаза логарифмічного росту популяції мікобактерій досягається вже до 5 – 10-го дня після інокуляції в рідке середовище матеріалу від хворого на туберкульоз.

Отже стійкість мікобактерій туберкульозу до протитуберкульозних препаратів є однією з найсерйозніших проблем в Україні.

Визначення чутливості мікобактерій до медикаментозних препаратів є необхідним для своєчасної корекції лікування, а також є важливим показником епідемічної ситуації до туберкульозу.

Визначення медикаментозної стійкості мікобактерій є основою проведення епідеміологічного надзору та прогнозування епідеміологічної ситуації.

Велике значення для ухвалення конкретних рішень про проведення терапії хворого на туберкульоз має структура резистентності мікобактерій туберкульозу до препаратів.

Впровадження ВАСТЕС дозволило скоротити терміни виявлення збудника туберкульозу до 14 днів, а також проводити швидку ідентифікацію комплексу *M. tuberculosis* і визначати чутливість мікобактерій до медикаментозних препаратів. В індустріально розвинених країнах система ВАСТЕС отримала широке розповсюдження.

Слід підкреслити, що ВАСТЕС є єдиною повністю автоматизованою системою для визначення чутливості мікобактерій до медикаментозних препаратів, яка забезпечує прискорене тестування культури до практично усіх препаратів 1-го і 2-го ряду, в тому числі і до піразинаміду.

Відповідно до міжнародних стандартів розрізняють наступні категорії стійкості МБТ до ПТП.

Монорезистентність – стійкість тільки до одного (будь-якого) протитуберкульозного препарату.

Полірезистентність – стійкість до двох і більше протитуберкульозних препаратів, за виключенням резистентності одночасно до ізоніазиду та рифампіцину.

Мультирезистентність (або MDR від англ. Multy Drug Resistance) – це особлива категорія серед полірезистентних штамів, у яких є стійкість до ізоніазиду та рифампіцину одночасно, незалежно від резистентності до інших препаратів.

Нами застовувалися середовище Левенштейна-Єнсена для визначення МЧ *M. tuberculosis* до ПТП. Це середовище використовують всі мікробіологічні лабораторії для отримання порівняних результатів.

Особливістю такого ПТП, як піразинамід (Z), є його висока протитуберкульозна активність при знижених значеннях кислотності середовища

(pH 5,5). У той же час, для культивування *M. tuberculosis* на щільних яєчних середовищах оптимальним є значення pH, близьке до нейтрального.

Ці обставини не дозволяють використовувати стандартних методик для визначення чутливості *M. tuberculosis* до Z на щільних яєчних живильних середовищах [29, 48].

Згідно існуючих нормативів відомо що під час постановки ТМЧ *M. tuberculosis* має бути правильна підготовка інокулята, тому правильне приготування бактеріальної суспензії штаму має дуже велике значення для отримання достовірного результату.

Якщо число бактерійних одиниць дуже мале, стандартної кількості інокулята буде недостатньо для визначення «критичної» частки стійких штамів. Якщо число мікобактерій дуже велике, ріст резистентних штамів, що природним чином утворюються, може симулювати стійкість до ПТП [8, 29].

Важливим також є вік культури, що використовується для приготування посівної суспензії. Тести на визначення МЧ *M. tuberculosis* до ПТП повинні проводити тільки з культурами, що активно ростуть (3-4 тижні). Використання старої культури для приготування посівної суспензії може призвести до хибного результату дослідження.

Оскільки у разі використання непрямих методів ТМЧ *M. tuberculosis*, підготовка бактерійного інокуляту проводиться в лабораторії.

Під час приготування мікобактеріальної суспензії для засіву може бути вибрано таке співвідношення чутливих і резистентних мікроорганізмів, яке не відповідає дійсній ситуації в ураженому органі пацієнта.

У зв'язку із цим, потрібно правильно проводити відбір бактерійної маси для дослідження (обов'язково робити змиви зі всієї поверхні середовища з культурою).

Важливе значення під час проведення ТМЧ має також тривалість інкубації [25, 29].

Відомо що для визначення ТМЧ *M. tuberculosis* використовуються тільки стандартизовані методи дослідження, що дозволяють:

- правильно вести лікування пацієнтів;
- інтерпретувати й порівнювати дані, одержані з різних джерел;
- проводити оцінення рівнів МС *M. tuberculosis* до ПТП, а також тенденцій, які спостерігаються в різних регіонах або країнах.

Наразі немає єдиного універсального методу визначення МЧ *M. tuberculosis*.

Існують культуральні методи з використанням щільних і рідких живильних середовищ із автоматичною детекцією росту мікобактерій, а також молекулярно-генетичні експресні методи. Вибір одного чи іншого методу визначається методичними підходами, і використовуються в країні.

Для ефективного управління моніторингом, забезпеченням епідеміологічного нагляду за МС *M. tuberculosis* до ПТП і розповсюдженням стійких штамів збудника, а також для порівняння результатів досліджень та ефективності лікування в межах світової спільноти в масштабах кожної країни рекомендують використовувати тільки один із наявних уніфікованих методів, регламентований внутрішніми нормативними документами країни [29].

РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

3.1 Результати клінічного обстеження груп пацієнтів хворих або з підозрою на туберкульоз за категоріями

Незважаючи на значні наукові досягнення, туберкульоз залишається недостатньо діагностований та моніторинговим. Зберігаються проблеми, пов'язані з недостатньою діагностикою прихованих випадків, а також із тривожною появою стійкості до ліків. Це посилюється через перешкоди правильного визначення різних груп пацієнтів і супутніх захворювань, при цьому гарантуючи, що тестування можна проводити в більш сільській місцевості країн із низьким і середнім рівнем доходу.

Клінічні дослідження проводилися чотирьом групам пацієнтів – 70 – пацієнтів з підтвердженим діагнозом туберкульоз (серед них 10 жінок та 60 чоловіків); 30 – пацієнтів з підозрою на туберкульоз (серед них 10 жінок та 20 чоловіків); Всім були проведенні стандартні показники клінічного обстеження при прийомі пацієнтів такі клінічні дослідження: зріст; вага; температура тіла; артеріальний тиск; пульс; пальпація.

Дані таблиці 3.1 показують нам що наявні групи пацієнтів, та застосування цих методів дало нам змогу визначити наступне: середній зріст у чоловіків коливається в межах (1,65-1,95), у жінок (1,55-1,65); Артеріальний тиск має тенденцію зниження у пацієнтів з підтвердженим діагнозом туберкульоз ніж у пацієнтів з підозрою як у жінок так і чоловіків. Вага має велике значення з таблиці 3.1, чітко прослідковується значне зниження ваги у пацієнтів з діагнозом туберкульоз ,ніж з підозрою, як у жінок так і чоловіків. Що стосується пульсу також є тенденція зниження у пацієнтів з туберкульозом ,ніж у пацієнтів з підозрою.

Таблиця 3.1

Стандартні показники клінічного обстеження при прийомі пацієнтів

Характеристика груп	Попередній діагноз	Зріст (м)	Вага (кг)	Температура тіла (t)	Артеріальний тиск (мм рт. ст.)	Пульс (ЧСС)
Жінки (10 пацієнтів)	Пацієнти з діагнозом туберкульоз	1,55-1,65	45-50	37,2-38,0	90;100/50;60	50-60
Чоловіки (60 пацієнтів)	Пацієнти з діагнозом туберкульоз	1,65-1,95	60-80	37,2-38,0	100-110/60-80	60-70
Чоловіки (20 пацієнтів)	Пацієнти з підозрою на туберкульоз	1,65-1,95	70-90	36,6-37,0	120-130/70-80	60-80
Жінки (10 пацієнтів)	Пацієнти з підозрою на туберкульоз	1,55-1,65	60-80	36,6-36,9	120-130/70-80	60-80

Можна зробити припущення з даних таблиці 3.1, та було визначено що чоловіків хворіє (75%); більше ніж жінок(25%); хворі на туберкульоз мають вагу меншу норми, фібрильну та субфібрильну температуру, знижений тиск та (ЧСС)

З метою поточення діагнозу ми використовували метод ЕКГ (Електрокардіографія) – простий та інформативний метод функціональної діагностики, який заснований на реєстрації й аналізі електричних імпульсів, що виникають при роботі серця і їх графічного запису у вигляді зубців на спеціальну паперову плівку. Ми використовуємо електрокардіограф «Мідас».

Для визначення вентиляційної функції легень використовували метод спірографії. Ми використовуємо комплекс діагностичний спірометричний «MIR SPIRO» для проведення попередньої діагностичної оцінки і спостереження за пацієнтами.

В таблиці 3.2, було представлена група пацієнтів з діагнозом туберкульоз (70пацієнтів) та з підозрою на туберкульоз (30пацієнтів). Нами були проведенні наступні дослідження: електро кардіограма, спірограма, рентгенографія органів грудної клітки.

Для остаточного обстеження використовується основний метод дослідження - рентгенографія. Нами використовується рентген легень в двох проекціях: пряма (задньо - передня) проекція при рентгенографії легень; передньо - задній знімок легенів; та виконання правого і лівого бокового знімка грудної клітини. Це використання випромінювання для отримання зображень тканин, органів, кісток і судин, з яких складається людське тіло. Лікування пацієнта залежить від точного отримання рентгенологічних зображень

При дослідженні виявили наступне: у пацієнтів з підозрою (30%) нормальний синусовий ритм на електрокардіограмі, змін не виявлено на спірограмі та в легенях без видимих паталогічних змін. У пацієнтів з діагнозом туберкульоз (70%) виявили: дифузні зміни міокарда, зміни обструктивного типу, В обох легеня дисемінація вогнищ, фокісні тіні, фіброз.

Таблиця 3.2

Визначення фізіологічних параметрів та рентгенографії грудної клітини пацієнтів

Характеристика груп	Попередній діагноз	Електро кардіограма	Спірограма	Рентгенографія органів грудної клітки
Жінки (10 пацієнтів)	Пацієнти з діагнозом туберкульоз	Дифузні зміни міокарда	Зміни обструктивного типу	В обох легень дисемінація вогнищ, фокісні тіні, фіброз.
Чоловіки (60 пацієнтів)	Пацієнти з діагнозом туберкульоз	Дифузні зміни міокарда. неповна блокада прав. ніж. пучка Гіса	Зміни рестриктивного типу	В обох легень дисемінація вогнищ, фіброз фокісні тіні з дрібними ділянками деструкції
Чоловіки (20 пацієнтів)	Пацієнти з підозрою на туберкульоз	Нормальний синусовий ритм	Змін не виявлено	В легенях без видимих патологічних змін
Жінки (10 пацієнтів)	Пацієнти з підозрою на туберкульоз	Нормальний синусовий ритм	Змін не виявлено	В легенях без видимих патологічних змін

При аналізі даних з таблиці 3.2, порівнюючи ступінь захворюваності можна припустити що частота порушення серцево-судинної системи, дихальної системи та зміни на рентгенограмі викликає порушення роботи інших органів і систем у пацієнтів які хворіють на туберкульоз, і може викликати інші захворювання. Це свідчить про потребу додаткового обстеження, комплексної діагностики та лікування.

В таблиці 3.3 представленні група пацієнтів з підозрою на туберкульоз (30%), та захворюванням (70%) .Їм було проведено наступні дослідження:

Таблиця 3.3

Загальні та біологічні показники

Характеристика груп	Попередній діагноз	Загальний аналіз крові	Біохімічний аналіз крові	Цукор крові Мм/л	Швидкий тест на ВІЛ	Швидкий тест на гепатит В,С
Жінки (10 пацієнтів)	Пацієнти з діагнозом туберкульоз	Гемоглобін 134 Еритроцити 4,64 Тромбоцити 244 Лейкоцити 8,95	Аланінамінотрансфераза 25,9 Аспартатамінотрансфераза 21,1 Білірубін 6,28 Креатинин 71,07 Сечова кислота 438 Загальний білок 57,9 Альбумін 36,59 Амілаза 72,2 Калій 4,72	6-8	негативний	негативний
Чоловіки (60 пацієнтів)	Пацієнти з діагнозом туберкульоз	Гемоглобін 145 Еритроцити 4,32	Аланінамінотрансфераза 251	7-10	позитивний	позитивний

		Тромбоцити 248 Лейкоцити 6,97	Аспаратамінотрансф ераза 197 Білірубін 6,05 Креатинин 49,59 Сечова кислота 609,9 Загальний білок 59,62 Альбумін 36,53 Амілаза 89,9 Калій 4,96			
Чоловіки (20 пацієнтів)	Пацієнти з підозрою на туберкульоз	1,65-1,95	70-90	36,6-37 ,0	негативний	негативний
Жінки (10 пацієнтів)	Пацієнти з підозрою на туберкульоз	1,65-1,95	70-90	36,6-37 ,0	негативний	негативний

Нами було проаналізовано таблицю 3.3 та зроблено припущення, що пацієнти з супутніми захворюваннями хворіють на туберкульоз частіше ніж пацієнти без додаткових захворювань. Це дещо ускладнює лікування пацієнтів, тому що вони потребують додаткового лікування (цукрового діабету, ВІЛ-інфекції та інші,) паралельно з лікуванням туберкульозу. А також в процесі лікування підвищуються інші показники крові (АлАТ; АсАт; білірубін; креатинин;), це свідчить про побічну реакцію організму хворого на проти туберкульозні препарати. Таким пацієнтам призначають додаткове лікування (антигістамінні препарати, гепатопротектори, ферменти)

3.2 Результати виділення та мікробіологічного вивчення біологічного матеріалу хворих або з підозрою на туберкульоз за категоріями

Відомо що результати кислотостійкої мікроскопії завжди повинні клінічно співвідноситися з історією захворювання, оглядом та іншими відповідними дослідженнями [17]. Для хворого на туберкульоз підтвердження одужання встановлюється за допомогою негативної кислотостійкої мікроскопії в кінці схеми лікування. Подібним чином, інфекційність хворого на туберкульоз також можна оцінити за допомогою мікроскопії мокротиння. З іншого боку, мультирезистентний туберкульоз і туберкульоз із надзвичайною лікарською стійкістю не можна відрізнити від чутливого *M. tuberculosis* за допомогою цієї техніки. Ідентифікація цих штамів потребує спеціальних та чутливих досліджень, таких як культура та тести на лікарську чутливість (ТМЧ).

Встановлено що рекомендована кількість полів зору для дослідження становить 150 для мазка розміром 3 см x 2 см і 100 для мазка розміром 2 см x 1 см (Примітка: 150 і 100 полів зору позначаємо як «1 довжина», що означає поля зору досліджуються від одного кінця до іншого). Слід, однак, зазначити, що деякі країни мають свої власні вказівки щодо інтерпретації та звітування про результати.

Таблиця 3.4

Результати мікроскопічного дослідження під час забарвлення за методом Ціля-Нільсена

Кількість кислотостійких бактерій	Найменша кількість імерсійних полів зору, обов'язкових для перегляду	Форма запису результатів	Інтерпретація результатів дослідження
кислотостійкі бацили не виявлено	300	Негативний	Негативний
1-2 кислотостійкі бацили у препараті	300	Рекомендовано повторити дослідження	Результат не оцінюється
Від 3 до 9 кислотостійкі бацили у 100 полях зору	100	Зазначати точну кількість у полях зору (3-9 кислотостійкі бацили у 100)	Позитивний
Від 10 до 99 кислотостійкі бацили у 100 полях зору	100	1+	Позитивний
Від 1 до 10 кислотостійкі бацили у 1 полі зору	50	2+	Позитивний

Більше ніж 10 кислотостійкі бацили у 1 полі зору	20	3+	Позитивний
--	----	----	------------

Згідно таблиці 3.4 результати мікроскопічного дослідження під час забарвлення за методом Ціля-Нільсена позначаються таким чином:

1. Кислотостійких бактерій не виявлено – позначаємо як «0». Це означає, що AFB не спостерігалось в 2 довжинах (тобто, 300 полів зору), таким чином даючи «негативний» результат. 1-9 AFB в 1 довжині - Записуємо фактичну кількість побачених AFB (наприклад, +1, +2, +9).

2. Кислотостійких бактерій (AFB) не виявлено – позначаємо як «0». Це означає, що AFB не спостерігалось в 2 довжинах (тобто, 300 полів зору), таким чином даючи «негативний» результат.

3. 1-9 AFB в 1 довжині – Записуємо фактичну кількість побачених AFB (наприклад, +1, +2, +9).

4. 10-99 AFB в 1 довжині - Повідомляємо як "1+". Це позитивний результат.

5. 1-10 AFB на поле протягом щонайменше 50 с поля зору - визначаємо як "2+". Це позитивний результат.

6. Більше 10 AFB на поле в принаймні 20 полях зору. Це позитивний результат і дуже заразний[29].

При мікроскопічному дослідженні мокроти на кислотостійкі бактерії, використовується такий метод. Починається з виготовлення мазка. Типовий мазок має розмір 3 см на 2 см, він також може мати розміри 2 см на 1 см. Змащування проводим шляхом натискання та рівномірного нанесення мокротиння на предметне скло. Робимо мазок однакової товщини в центрі предметного скла, щоб полегшити візуалізацію за допомогою мікроскопа [29, 38].

Встановлено що кислотостійкі структури ми спостерігаємо під мікроскопом за допомогою двох основних методів: фарбування карболфуксином і флуорохромної процедури. Ми використовували в лабораторії обидва методи.

Фарбування – карболфуксином складається з методу Ціля-Нільсена та методу Кіньюна. У методі Ціля-Нільсена змазані предметні скла спочатку фарбуємо карболфуксином (CF) [29, 41]. Це робиться шляхом занурення мазка в краплю карболфуксину і подальшого нагрівання за допомогою спиртівки, доки не буде видно, як піднімається пара.

Стежимо, щоб не відбулося кипіння, оскільки це може змінити результати тесту. Пляма та мазок залишаються в контакті протягом приблизно 10 хвилин, а потім даємо їм охолонути, таким чином затримуючи пляму стінкою бактеріальної клітини. Ці кроки роблять весь мазок, включаючи кислотостійкі бацили, червоними. Після фіксації плям другий крок спрямований на змивання надлишків плями з мазка.

Для цього обережно промиваємо мазок струменем води, а потім покриваємо його кислим спиртом на 2-3 хвилини. Спирт-кислот має здатність повністю знебарвлювати всі не кислотостійкі організми, М. туберкульоз.

Потім слайди фарбуємо вдруге метиленовим синім, який служить контрфарбою. Рекомендований час контакту плями з мазком становить 1 хвилину, але він значною мірою залежить від якості метиленового синього. Контрфарбування створює ефективний візуальний контраст червоних кислотостійких паличок під час мікроскопії.

Метод фарбування за Цилем-Нільсеном також називають гарячим методом, оскільки він передбачає нагрівання фарби карболфуксином. На відміну від цього, історичний метод фарбування під назвою метод Кіньюна не передбачає нагрівання і тому відомий як холодний метод. В даний час холодний метод вже застарів [29, 41].

Процедура флуорохром переважно використовує один із двох барвників, барвник аурамін-О або барвник аурамін-родамін. Auramine-O гідрохлоридний барвник, який змушує пофарбований АФВ випромінювати флуоресценцію (зелену або жовту) під час перегляду під флуоресцентним мікроскопом. На відміну від методу Ціля-Нільсена, нагрівання не потрібне для проникнення плями в бактерії.

Однак час контакту плями з мазком має бути не менше 20 хвилин, щоб кислотостійкі організми правильно підхопили пляму. Після того як аураміновий барвник повністю забарвить мазок, на одну-дві хвилини наносять краплю кислого спирту, щоб знебарвити мазок. Метиленовий синій або перманганат калію використовується як контр фарбувальник для створення фонового кольору. Перманганат калію є кращим, оскільки він забезпечує темніший фон, що забезпечує кращий контраст і чутливість порівняно з метиленовим синім [29, 49].

Останній крок — обережно промиваємо предметне скло повільною проточною водою та дати йому висохнути. Потрібно уникати промокання предметного скла, оскільки це може пошкодити пофарбований мазок.

Численні дослідження порівнювали метод Ціля-Нільсена з процедурою флуорохрому. Результати, отримані обома методами, вважаються високо відтворюваними. Це означає, що обидва методи однаково здатні виявити кислотостійкі бактерії в зразку мокротиння [29, 38]. Хоча, цікаво відзначити, що кілька досліджень показують, що флуоресцентна мікроскопія з більшою ймовірністю позитивно визначить зразок мокротиння з меншою кількістю кислотостійких бактерій. Він також має ту перевагу, що займає вдвічі менше часу, ніж світлова мікроскопія, щоб визначити зразок негативним на кислотостійкі бацили [29, 48].

АФБ-мікроскопія показана при підозрі на туберкульоз. Позитивна мікроскопія підтверджує наявність кислотостійкої палички. Необхідно бути обережним, щоб не інтерпретувати позитивні результати як *M. tuberculosis*, оскільки фарбування за Цилем-Нільсеном і аураміном вказують лише на наявність кислотостійких бактерій.

В таблиці 3.5 представленні група пацієнтів з підозрою на туберкульоз (30%), та захворюванням (70%) .Ім було проведено наступні дослідження : мікроскопічний метод та посів культури. Пацієнти з захворюванням мали мікроскопію встановлена наявність на поживному середовищі ріст мбт; посів позитивний мікобактерії туберкульозу (виявлено). Інша група пацієнти з

підозрою на туберкульоз мали такі результати мікроскопія негативна мікобактерії туберкульозу (не виявлено), а посів позитивний мікобактерії туберкульозу (виявлено).

Це свідчить про те що повинна бути повна, чітка картина клініки ,аналізи мокротиння та рентгенограми органів грудної клітки. Та тісна співпраця між лікарями поліклініки, стаціонару і лабораторії.

Таблиця №3.5

Виділення мікобактерій туберкульозу мікроскопічним методом і посівом

Характеристика груп	Попередній діагноз	Мікроскопія	Посів
Жінки (10 пацієнтів)	Пацієнти з діагнозом туберкульоз	Встановлено ріст мікобактерії туберкульозу	Позитивний мікобактерії туберкульозу (виявлено)
Чоловіки (60 пацієнтів)	Пацієнти з діагнозом туберкульоз	Встановлено ріст мікобактерії туберкульозу	Негативний мікобактерії туберкульозу (не виявлено)
Чоловіки (20 пацієнтів)	Пацієнти з підозрою на туберкульоз	Негативний мікобактерії туберкульозу (не виявлено)	Позитивний мікобактерії туберкульозу (виявлено)
Жінки (10 пацієнтів)	Пацієнти з підозрою на туберкульоз	Негативний мікобактерії туберкульозу (не виявлено)	Негативний мікобактерії туберкульозу (не виявлено)

В результаті опрацювання дослідження (мікроскопія, посів) на виявлення мікобактерій туберкульозу ,було виявлено що негативна мікроскопія 70%, негативний посів 60%, зміни на R-грамі 30%, це свідчить про те ,що діагноз туберкульоз встановлюється в результаті повного дослідження (мікроскопія, посів, рентгенограма органів грудної клітки).

3.3. Результати молекулярно-генетичної ідентифікації збудників туберкульозу і визначення рівнів стійкості до антибіотиків

Основні принципи та підходи до діагностичного процесу, на яких базується вітчизняний нормативний документ, відповідають рекомендованим експертами Всесвітньої організації охорони здоров'я для країн європейського регіону. При тестуванні на туберкульоз необхідно провести молекулярно-генетичний тест, щоб виявити наявність ДНК *Mycobacterium tuberculosis* у діагностичному зразку.

Потім (залежно від можливостей лабораторії) використовується та чи інша технологія для виявлення мутацій, пов'язаних із резистентністю *M. tuberculosis*. до максимально можливого діапазону ліній AMBP I та II. Після отримання результатів посіву в автоматизованій системі BACTEC MGIT, яка на сьогодні є золотим стандартом дослідження лікарської чутливості *M. Tuberculosis* до АМБП I та II ліній, за необхідності коригують схему лікування відповідно до фенотипового тесту препарату чутливість. Хоча туберкульоз можна вилікувати, виявити захворювання не завжди легко, і резистентність до ліків стає все більш поширеною. Розробка методів швидкої та точної ідентифікації туберкульозу, особливо для туберкульозу з негативним результатом мазка та мультирезистентного туберкульозу, має вирішальне значення для покращення показників лікування, зниження резистентності до ліків та неефективності лікування та запобігання передачі туберкульозу

Згідно таблиці 3.6 визначення рівнів стійкості до антибіотиків, та результати молекулярно-генетичного дослідження. Була досліджена група

пацієнтів з діагнозом туберкульоз (70%), та пацієнти з підозрою на туберкульоз (30%)

Всім пацієнтам з підозрою на туберкульоз проводимо первинний діагностичний тест GeneXpert. Дослідження проводили чотирьом групам пацієнтів:

1. група – жінки (10 пацієнтів) з діагнозом туберкульоз, дослідженням GeneXpert (первинний діагностичний тест) було виявлено мікобактерії туберкульозу ,та проведено дослідження ВАСТЕС виявлено стійкість до рифампіцину.

2. група – чоловіки (60 пацієнтів) з діагнозом туберкульоз дослідженням GeneXpert (первинний діагностичний тест) було виявлено мікобактерії туберкульозу сліди ,та проведено дослідження ВАСТЕС виявлено чутливість до рифампіцину, ізоніазиду, піразинаміду, етамбутолу.

3. група – чоловіки (20 пацієнтів) з підозрою на туберкульоз, дослідженням GeneXpert (первинний діагностичний тест) було виявлено мікобактерії туберкульозу ,та проведено дослідження ВАСТЕС виявлено чутливість до рифампіцину, ізоніазиду, піразинаміду, етамбутолу

4. група – жінки (10 пацієнтів) з підозрою на туберкульоз дослідженням GeneXpert (первинний діагностичний тест) було виявлено сліди мікобактерії туберкульозу ,та проведено дослідження ВАСТЕС виявлено стійкість до рифампіцину.

В ході лабораторної діагностики було встановлено (МБТ+) це означає що мікобактерії туберкульозу виявлено; (R+) рифампіцин чутливий. Документи подаються на розгляд експертної групи, після чого встановлюється діагноз туберкульоз легень першої категорії. Якщо в ході лабораторної діагностики було встановлено (МБТ+) це означає що мікобактерії туберкульозу виявлено; (R-) рифампіцин стійкий. Документи подаються на розгляд експертної групи, після чого встановлюється діагноз туберкульоз легень четвертої категорії. Та призначається відповідне лікування. Згідно з останніми міжнародними рекомендаціями з діагностики туберкульозу, перевагу слід надавати

молекулярно-генетичним діагностичним тестам і культуральним дослідженням на рідких поживних середовищах.

Таблиця 3.6

Визначення рівнів стійкості до антибіотиків, та результати молекулярно-генетичного дослідження.

Характеристика груп	Попередній діагноз	GeneXpert (первинний діагностичний тест)	ВАСТЕС
Жінки (10 пацієнтів)	Пацієнти з діагнозом туберкульоз	Мікобактерії туберкульозу виявлено	Стійкий до рифампіцину
Чоловіки (60 пацієнтів)	Пацієнти з діагнозом туберкульоз	Мікобактерії туберкульозу виявлено, сліди	Чутливість до рифампіцину, ізоніазиду, піразинаміду, етамбутолу
Чоловіки (20 пацієнтів)	Пацієнти з підозрою на туберкульоз	Мікобактерії туберкульозу виявлено	Чутливість до рифампіцину, ізоніазиду, піразинаміду, етамбутолу
Жінки (10 пацієнтів)	Пацієнти з підозрою на туберкульоз	Мікобактерії туберкульозу виявлено, сліди	Стійкий до рифампіцину

Згідно таблиці 5.6 на основі вище перелічених дослідженнях було встановлено: з 100% (30 пацієнтів) з підозрою - встановлено діагноз туберкульоз 30%; з них 20% чутливого туберкульозу; 10% стійкого туберкульозу.

На основі вище вказаних даних можна зробити припущення, що моніторинг результатів тесту на чутливість до лікарських засобів може сприяти веденню лікування туберкульозу та підвищити успіх лікування. Стійкість до ізоніазиду та піразинаміду має тенденцію до зростання в Україні. Необхідні подальші клінічні дослідження для вивчення регіональних і глобальних факторів, що впливають на розвиток стійкості до антибактеріальних препаратів.

Також нами було проведення визначення резистентності до таких антибіотиків: ампіцилін, цефепім, меропенем, гентаміцин, офлоксацин та ципрофлоксацин.

Було встановлено що більшість виділених штамів умовно-патогенних мікроорганізмів володіли стійкістю хоча б до одного препарату.

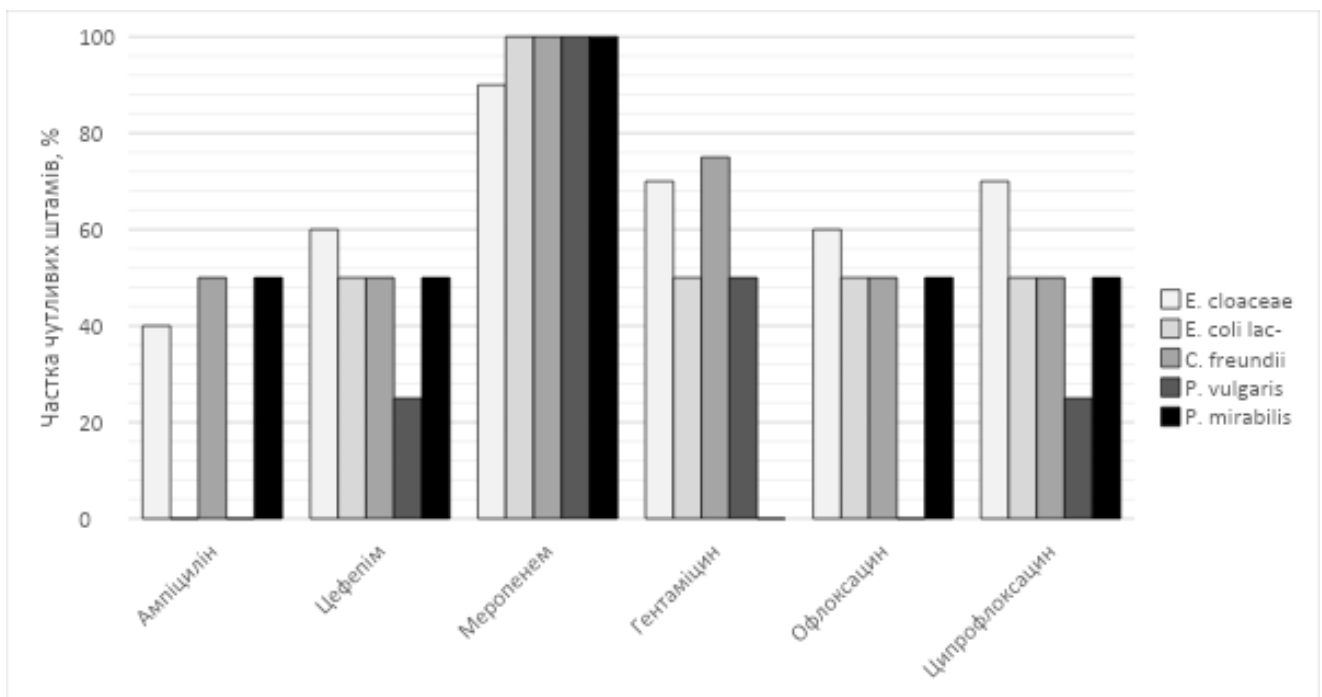


Рис. 3.1 Чутливість до антибіотиків виділених штамів туберкульозу

З представлених даних (рис 3.1) очевидно, що найбільший рівень чутливості всі виділені штами проявили до меропенему: лише 1 штама з 22 мав стійкість до вказаного препарату. Також високу ефективність визначено для ципрофлоксацину та гентаміцину: більше 50% штамів чутливі, за винятком двох штамів *P. mirabilis*, які були стійкими до гентаміцину. Найменш ефективним виявився ампіцилін, чутливими до якого були менше 50% штамів. Вірогідно, такий високий рівень стійкості можна пояснити тим, що мішенню дії антибактеріальних препаратів є біосинтез клітинної стінки, яка в грамнегативних бактерій тонка та прихована під зовнішньою мембраною, що робить антибіотики, спрямовані на її руйнування, малоефективними. Подібна ж тенденція відмічена ще і для цефепіму – препарату, який також належить до групи, що впливає на біосинтез клітинної стінки.

Набуття резистентності умовно-патогенними мікроорганізмами є небезпечним через інтенсивне поширення подібних генів у мікробних спільнотах за рахунок процесів генетичної рекомбінації. На сучасному етапі ці процеси інтенсифіковані, зокрема, крім внутрішньовидової передачі вже зафіксовані випадки міжвидового перенесення генів, що збільшує спектр резистентної мікробіоти [19, 29, 34]. Це особливо небезпечно у внутрішньолікарняних умовах, а також у довкіллі, де такі мікроорганізми виступають резервуаром генів стійкості.

У різних дослідженнях було встановлено зростання рівня стійкості до антибіотиків серед клінічних ізолятів. Так, для бактерій кількість резистентних до ампіциліну штамів сьогодні вже перевищує 75 %, при цьому інші штами належать до помірно стійких до препарату і тільки одиничні ізоляти є чутливими. Отримані дані типові для різних країн світу, у тому числі для США та країн ЄС [17, 50].

ВИСНОВКИ

1. Клінічне обстеження пацієнтів з попереднім діагнозом наявності туберкульозу, було встановлено, що хворіє в групі чоловіків (75%), в групі жінок (25%), характерна наявність ваги менше норми, наявність фебрильної та субфебрильної температури, знижений тиск та частота серцевих скорочень.

2. Дослідивши фізіологічні параметри та рентгенографічні дослідження грудної клітини пацієнтів, було встановлено, що частота порушення серцево-судинної системи, дихальної системи та зміни на рентгенограмі викликає порушення роботи інших органів і систем.

3. Попередній діагноз туберкульоз був підтверджений при мікроскопічному дослідженні біологічних проб та бактеріологічному дослідженні і специфічному фарбуванні по. Ціля-Нільсена Дані мікробіологічним дослідження підтверджуються рентгенограма органів грудної клітки

4. Молекулярно-генетичні дослідження за методом GeneXpert показали присутність збудників туберкульозу, та стійкість до рифампицину (20%). В той же час штами виявили певний рівень чутливості до ізоніазиду, піразинаміду, етамбутолу (60%);

ПЕРЕЛІК ПОСИЛАНЬ

1. Наказ МОЗ України від 01.02.2019 №287 «Про затвердження Стандарту інфекційного контролю для закладів охорони здоров'я, що надають допомогу хворим на туберкульоз» Офіційний вісник України від 24.05.2019 — 2019 р., стор. №39
2. Фещенко, Ю. І. "Сучасні тенденції вивчення проблем туберку-льозу." Український пульмонологічний журнал №1 (2019): 8-24.
3. Самофалова, Д. О. "Аналіз механізмів взаємодії основних мішеней таргетної терапії туберкульозу з їх селективними інгібіторами." Фактори експериментальної еволюції організмів 28 (2021): 140-145.
4. Черняева, Е. Н. (2012). Биохимические механизмы лекарственной устойчивости *Mycobacterium tuberculosis*. *Biological Communications*, (2), 77-91
5. Фещенко Ю. І. Погляд на проблему боротьби з туберкульозом в Україні Український пульмонологічний журнал. – 2016. – № 3. – С. 5–1
6. Устїнов О. В. МОЗ України повідомляє про розроблення концепції програми протидії туберкульозу Український медичний часопис. – 2017
7. Професійні інфекційні хвороби Ю.І. Кундієв, М. А. Андрейчин, А. М. Нагорна, Д.В. Варивончик. – К. : ВД «Авіцена», 2014. – 529 с.
8. Хіміорезистентний туберкульоз: поширеність та профіль стійкості мікобактерій туберкульозу до антимікобактеріальних препаратів В. М. Мельник, І. О. Новожилова, В. Г. Матусевич та ін. Український пульмонологічний журнал. – 2013. – № 3. – С. 19–23.
9. Фещенко Ю.І., Мельник В.М. Сучасні погляди на епідситуацію з туберкульозу в Україні Укр. пульмонол. журнал – 2003 – № 2 – С. 75-80.
10. Лабораторна діагностика туберкульозної інфекції: навчальний посібник Ю.І. Фещенко, О.А. Журило, А.І. Барбова. Всеукраїнське спеціалізоване видавництво «Медицина» 2019р ст. 272-284
11. Туберкульоз. Профілактика. Лікування. Реабілітація

Борис Скачко. Всеукраїнське спеціалізоване видавництво «Медицина» 2006р ст. 58-72

12. Паліативна та хоспісна допомога хворим на туберкульоз

Юрій Фещенко, Василь Князевич, Олена Разнатовська, Наталія Гріцова. Всеукраїнське спеціалізоване видавництво «Медицина» 2017р ст. 130-134

13. Наказ МОЗ України від 03.08.2021 № 1614 Про організацію профілактики інфекцій та інфекційного контролю в закладах охорони здоров'я та установах закладах надання соціальних послуг соціального захисту населення. Офіційний вісник України від 29.10.2021 — 2021 р., № 82, стор.

14. Наказ МОЗ України від 03.08.2020 № 1777 Про затвердження Заходів та Засобів щодо попередження інфікування при проведенні догляду за пацієнтами. Офіційний вісник України від 27.11.2020 — 2020 р., № 93, стор

15. Методичні рекомендації з визначення чутливості мікроорганізмів до антмікробних препаратів / Т.О. Гаркавенко, О.І. Горбатюк, Т.Г. Козицька .– К: ДНДІЛДВСЕ, 2021. – 101 с.

16.Механізми стійкості до антибіотиків представників родини Enterbacteriaceae К.Р. Коцюба, О.С. Воронкова, А.І. Вінніков, Т.М. Шевченко Visn. Dnipropetr. Univ. Ser. Biol. Med. – 2014. – 5(1). – С. 33–38.

17.Микробиология Дикий И.Л., Холупяк И.Ю., Шевелева Н.Ю. и др. – Х.: Прапор, 2004. – 624 с.

18.Мікробіологічний моніторинг динаміки антибіотикорезистентності клінічних ізолятів E.coli С.К. Джораєва, В.В. Гончаренко, О.В. Щоголева Дерматологія та венерологія. – 2019. – №2 (84). – С. 40-45.

19.Наказ МОЗ України № 167 від 05.04.2007 «Про затвердження методичних вказівок щодо визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів» – К: МОЗ України, 2007. – 63 с.

20. Поздеев О.К., Гэотар О. Медицинская микробиология -Мед, 2001. – 778с.
21. Посохова К.А., Вікторів О.П. Антибіотики (властивості, застосування, взаємодія). – Тернопіль: ТДМУ, 2005. – 296 с.
22. Салманов А.Г. Антибіотикорезистентність нозокоміальних штамів *Escheichia coli* в хірургічних стаціонарах України: результати багатоцентрового дослідження (2011—2015 рр.) Міжнародний журнал антибіотики та пробіотики. – 2017. – № 1 (1). – С. 29-48.
23. Санітарна мікробіологія Вінніков А.І., Черевач Н.В., Полішко Т.М. та ін. – Дніпропетровськ: Видавництво Дніпропетровського національного університету, 2006. – 300с.
24. Тимошук С.А., Симочко Л.Ю. Поширення антибіотикорезистентних мікроорганізмів у навколишньому природному середовищі .Екологічні науки. – 2020. – 29 (Т. 2). – С. 11-15.
25. Характеристика видового складу мікробіоти та її антибіотикорезистентність у дорослих пацієнтів кардіохірургічного профілю С. В. Варбанець, М. М. Фурман, О. Ю. Марченко, Г. В. Філоненко Вісник серцево-судинної хірургії. – 2018. – №4. – С. 67-70.
26. Цимбаліста О.Л. Проблема резистентності мікроорганізмів до антибіотиків (лекція) Современная педиатрия. – 2017. – 2(82). – С. 52-57.
27. Циркуляція антибіотикорезистентних ізолятів бактерій родини Entercteriaceae у системі людина – водні екосистеми М. В. Савенко, М. В. Кривцова, Є. Я. Костенко Український журнал медицини, біології та спорту. – 2021. – Том 6, № 3 (31). С. 232-237.
28. Чуловська У. Б., Толох О.С. Правильні рішення у застосуванні антибактеріальної терапії загострень хронічного обструктивного захворювання легень Український пульмонологічний журнал. – 2011. – № 2. – С. 55-59.

29.Наказ МОЗ України від 27.06.2019 № 1462 Про затвердження Інструкції з мікробіологічної діагностики туберкульозу Офіційний вісник України від 28.07.2019 — 2019 р., № 87, стор

30.Minion J, Shenai S, Vadwai V, Tipnis T, Greenaway C, Menzies D, Ramsay A, Rodrigues C, Pai M. Fading of auramine-stained mycobacterial smears and implications for external quality assurance. *J Clin Microbiol.* травень 2011 р.;49(5):2024-6.

31.Mekonen A, Ayele Y, Berhan Y, Woldeyohannes D, Erku W, Sisay S. Фактори, які сприяли низькоякісним мазкам мокротиння для виявлення кислотостійких бацил (AFB) у вибраних медичних центрах Ефіопії: перспектива контролю якості. *PLoS One.* 2018 рік;13(6):e0198947.

32. World Health Organization (WHO). Global Tuberculosis Report 2020, Geneva: World Health Organization. 2020. <https://www.who.int/publications/i/item/9789240013131>. Accessed 1 June 2021.

33. World Health Organization (WHO). Impact of the COVID-19 pandemic on TB detection and mortality in 2020, Geneva: World Health Organization. 2021. <https://www.who.int/publications/m/item/impact-of-the-covid-19-pandemic-on-tb-detection-and-mortality-in-2020>. Accessed 1 June 2021.

34. World Health Organization (WHO). WHO guidelines on tuberculosis infection prevention and control, 2019 update, Geneva: World Health Organization. 2019. <https://www.who.int/tb/publications/2019/guidelines-tuberculosis-infection-prevention-2019/en/>. Accessed 1 June 2021.

35. Nathavitharana RR, Bond P, Dramowski A, Kotze K, Lederer P, Oxley I, Peters JA, Rossouw C, van der Westhuizen HM, Willems B, Ting TX, von Delft A, von Delft D, Duarte R, Nardell E, Zumla A. Agents of change: the role of healthcare workers in the prevention of nosocomial and occupational tuberculosis. *Presse Med.* 2017;46(2 Pt 2):e53–e62. doi: 10.1016/j.lpm.2017.01.014.

36. World Health Organization (WHO). Meeting report of the WHO expert consultation on the definition of extensively drug-resistant tuberculosis, 27–29 October 2020, Geneva: World Health Organization. 2021. <https://www.who.int/publications/i/item/meeting-report-of-the-who-expert-consultation-on-the-definition-of-extensively-drug-resistant-tuberculosis>. Accessed 1 June 2021.

37. Cohen KA, Abeel T, McGuire AM, Desjardins CA, Munsamy V, Shea TP, Walker BJ, Bantubani N, Almeida DV, Alvarado L, Chapman SB, Mvelase NR, Duffy EY, Fitzgerald MG, Govender P, Gujja S, Hamilton S, Howarth C, Larimer JD, Maharaj K, Pearson MD, Priest ME, Zeng Q, Padayatchi N, Grosset J, Young SK, Wortman J, Mlisana KP, O'Donnell MR, Birren BW, Bishai WR, Pym AS, Earl AM. Evolution of extensively drug-resistant tuberculosis over four decades: whole genome sequencing and dating analysis of *Mycobacterium tuberculosis* isolates from KwaZulu-Natal. *PLoS Med*. 2015;12(9):e1001880. doi: 10.1371/journal.pmed.1001880.

38. Jo K. Preventing the transmission of tuberculosis in health care settings: administrative control. *Tuberculosis Respir. Dis*. 2016;80(1):21–26. doi: 10.4046/trd.2017.80.1.21.

39. Sissolak D, Marais F, Mehtar S. TB infection prevention and control experiences of South African nurses—a phenomenological study. *BMC Public Health*. 2011;11:262. doi: 10.1186/1471-2458-11-262.

40. Naidoo S, Seevnrain K, Nordstrom DL. Tuberculosis infection control in primary health clinics in eThekweni, KwaZulu-Natal, South Africa. *Int J Tuberculosis Lung Dis*. 2012;16(12):1600–1604. doi: 10.5588/ijtld.12.0041.

41. Verkuil S, Middlekoop K. Protecting our front-liners: occupational tuberculosis prevention through infection control strategies. *Clin Infect Dis*. 2016;62(suppl3):S231–S237. doi: 10.1093/cid/civ1184.

42. Haeusler IL, Knights F, George V, Parrish A. Improving TB infection control in a regional hospital in the Eastern Cape South Africa. *BMJ Open Qual*. 2019;8(1):e000347. doi:10.1136/bmjopen-2018-000347.

43.Mpagama SG, Mbelele PM, Chongolo AM, Lekule IA, Lyimo JJ, Kibiki GS, Heysell SK. Gridlock from diagnosis to treatment of multidrug-resistant tuberculosis in Tanzania: low accessibility of molecular diagnostic services and lack of healthcare worker empowerment in 28 districts of 5 high burden TB regions with mixed methods evaluation.*BMC Public Health*.2019;**19**:395. doi:10.1186/s12889-019-6720-6.

44.Ndusilo ND, Heysell SK, Mpagama SG, Gratz J, Segesela FH, Pazia SJ, Wang X, Houpt ER, Kibiki GS. Improvement in plasma drug activity during the early treatment interval among Tanzanian patients with multidrug-resistant tuberculosis.*PLoS ONE*.2015;**10**(3):e0122769. doi:10.1371/journal.pone.0122769.

45.Sekandi JN, Zalwango S, Martinez L, Handel A, Kakaire R, Nkwata AK, Ezeamama AE, Kiwanuka N, Whalen CC. Four degrees of separation: social contacts and health providers influence the steps to final diagnosis of active tuberculosis patients in urban Uganda.*BMC Infect Dis*.2015;**15**:361. doi:10.1186/s12879-015-1084-8.

46.Martinez L, Xu L, Chen C, Sekandi JN, Zhu Y, Zhang C, Whalen CC, Zhu L. Delays and pathways to final tuberculosis diagnosis in patients from a referral hospital in urban China.*Am J Trop Med Hyg*.2017;**96**(5):1060–1065.

47.Yimer SA, Bjune GA, Holm-Hansen C. Time to first consultation, diagnosis and treatment of TB among patients attending a referral hospital in Northwest, Ethiopia.*BMC Infect Dis*.2014;**14**:19. doi:10.1186/1471-2334-14-19.

48.Lin C, Lin W, Chen T, Lu P, Huang P, Tsai Z, Huang M, Tsai W, Chen Y. Why is in-hospital diagnosis of pulmonary tuberculosis delayed in southern Taiwan *J Formos Med Assoc*.2010;**109**(4):269–277. doi:10.1016/S0929-6646(10)60052-6.

49.Kim C, Kim Y, Bae JY, Kim A, Kim J, Son HJ, Choi HJ. Risk factors of delayed isolation of patients with pulmonary tuberculosis. *Clin Microbiol Infect*.2020;**26**(8):1058–1062. doi:10.1016/j.cmi.2020.01.032.

50. Virenfeldt J, Rudolf F, Camara C, Furtado A, Gomes V, Aaby P, Petersen E, Wejse C. Treatment delay affects clinical severity of tuberculosis: a longitudinal cohort study. *BMJ Open*. 2014;**4**(6):e004818. doi: 10.1136/bmjopen-2014-004818.