Ф А2.2.1-32-367

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
Факультет медико-фармацевтичних технологій
Кафедра клінічної лабораторної діагностики, мікробіології та біологічної хімії

КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

на тему «**ЛАБОРАТОРНІ ТЕХНОЛОГІЇ ДІАГНОСТИКИ МІКРОБАКТЕРІОЗІВ»**

Виконала: здобувачка вищої освіти групи ЛДм23(1.6д)-01
спеціальності: 224 Технології медичної діагностики та лікування
освітньої програми Лабораторна діагностика
Анастасія ПОНІКАРОВА
Керівник: доцент закладу вищої освіти кафедри клінічної лабораторної діагностики, мікробіології та біологічної хімії к.б.н., с.н.с
Ольга ШАПОВАЛОВА
Рецензент: професор закладу вищої освіти кафедри клінічної лабораторної діагностики, мікробіології та біологічної хімії, д.біол.н., професор
Римма ЄРЬОМЕНКО

Харків - 2025 рік

АНОТАЦІЯ

Кваліфікаційна робота присвячена дослідженню лабораторних технологій діагностики мікобактеріозів, викликаних *M. fortuitum, M. avium, M. marinum*. Викладена на 48 стор. друкованого тексту, складається із вступу, 3 розділів, висновків, списку з 50 джерел літератури, 1 додатку, 6 рис., 2 табл. Показано, що найбільш придатними є фенотипові методи мікробіологічної діагностики.

Ключові слова: мікобактеріози, лабораторна діагностика, *M. avium, M. fortuitum, M. marinum.*

ABSTRACT

The Master`s Thesis is devoted to the study of laboratory technologies for the diagnosis of mycobacteriosis caused by *M. avium, M. fortuitum, M. marinum*. The work contains 48 p. of printed text, includes introduction, 3 chapters, conclusions, a list of 50 sources of literature, 1 appendix, 2 tables, 6 fig. It is shown that phenotypic microbiological methods are the most suitable.

Key words: laboratory diagnostics, mycobacteriosis, *M. avium, M. fortuitum, M. marinum*.

.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ 4
ВСТУП 5
РОЗДІЛ 1. ЗАГАЛЬНІ ПОНЯТТЯ ПРО МІКОБАКТЕРІОЗИ 7
1.1. Нетуберкульозні мікобактерії-збудники мікобактеріозів 7
1.2. Місце мікобактеріозів в патології людини 12
1.3. Особливості діагностики та лікування мікобактеріозів 16
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОД ДОСЛІДЖЕННЯ 23
2.1. Збір, обробка, знезараження та фарбування зразків 23
2.2. Обробка зразків 25
2.3. Методи культивування 26
2.4. Інкубування культур 31
2.5. Методи молекулярного типування нетуберкульозних мікобактерій 32
РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ 34
3.1. *Mycobacterium fortuitum* 35
3.2. *Mycobacterium avium* 36
3.3. *Mycobacterium marinum* 40
ВИСНОВКИ 48
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ 49
ДОДАТКИ 54

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОНЯТЬ, ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ

АЕР – аналіз ендонуклеази рестрикції

ВІЛ – вірус імунодефіциту людин

ВЕРХ – високоефективна рідинна хроматографія

КСБ – кислотостійки бактерій

КТВР – комп'ютерна томографія органів грудної клітки з високим розрішенням

НТМ – нетуберкульозні мікобактерії

ПІРМ – пробірка з індикатором росту мікобактерій

ПЛР – полімеразна ланцюгова реакція

СНІД – синдром набутого імунодефіциту

ТМА – транспозиция магистральных артерий

ФНП – фактор некрозу пухлин

ХОЗЛ – хронічне обструктивне захворювання легень

ШЗМ – швидко зростаючі мікобактерії

МАС – Mycobacterium avium complex

ВСТУП

Мікобактеріози, що викликаються нетуберкульозними мікобактеріями, становлять важливу проблему сучасної медицини через зростання їх поширення та резистентності збудників до традиційних антибактеріальних препаратів. Особливе значення вони мають у пацієнтів із ослабленим імунітетом, де діагностика та лікування ускладнюються різноманітністю збудників та їх патогенних властивостей. У цьому контексті дослідження нових підходів до ідентифікації та лікування мікобактеріозів є надзвичайно важливим.

Мета роботи: дослідження лабораторних технологій ідентифікації збудників мікобактеріозів для оптимізації діагностики та лікування захворювань.

Завдання дослідження:

1. узагальнити сучасні наукові дані про мікобактеріози та їх збудників;
2. дослідити методи збору біоматеріалу та підготовки до лабораторних досліджень на нетуберкульозні мікобактерії;
3. дослідити методи мікроскопії, культивування та інкубації культур, молекулярно-генетичні методи типування збудників мікобактеріозів;
4. провести аналіз отриманих даних щодо лабораторних технологій діагностики мікобактеріозів, які викликаються видами *Mycobacterium fortuitum, Mycobacterium avium* та *Mycobacterium marinum.*

Об’єкт дослідження*:* сучасні лабораторні технології виявлення та ідентифікації нетуберкульозних мікобактерій – збудників мікобактеріозів.

Предмет дослідження*:* Біологічні властивості видів M*ycobacterium fortuitum, Mycobacterium avium* та *Mycobacterium marinum;* епідеміологічні, клінічні та діагностичні особливості мікобактеріозів, які вони викликають..

Методи дослідження: для досягнення мети роботи використано комплекс методів: мікробіологічні (збір, обробка та культивування зразків), мікроскопічні, молекулярно-генетичні (типування за допомогою ПЛР), а також статистичні методи для аналізу отриманих даних.

Наукова новизна отриманих результатів (теоретичне значення роботи): у роботі проведено порівняльний аналіз збудників НТМ видів *Mycobacterium fortuitum, Mycobacterium avium* та *Mycobacterium marinum.,* визначено їх видову специфіку та чутливість до антимікробних препаратів, а також розроблено рекомендації для вдосконалення діагностики.

Практичне значення отриманих результатів: отримані результати можуть бути використані для підвищення ефективності діагностики мікобактеріозів у клінічній практиці, а також для вдосконалення методик лікування.

Апробація результатів дослідження і публікації: результати кваліфікаційної роботи були представлені в матеріалах «Сучасна антимікробна терапія: проблеми та шляхи вдосконалення» Матеріали II Науково-практичної дистанційної конференції , 22 листопада 2024 року, м. Харків (ДОДАТОК А).

Структура і обсяг кваліфікаційної роботи: кваліфікаційна робота викладена на 48 сторінках машинописного тексту, написана за традиційною схемою. Робота складається із вступу, трьох розділів, присвячених дослідженням лабораторних технологій ідентифікації збудників мікобактеріозів для оптимізації діагностики та лікування захворювань, висновків та списку з 50 використаних джерел літератури з них 5 вітчизняних та 45 іноземних.

РОЗДІЛ 1
ЗАГАЛЬНІ ПОНЯТТЯ ПРО МІКОБАКТЕРІОЗИ

1.1. Нетуберкульозні мікобактерії-збудники мікобактеріозів

Історія нетуберкульозних мікобактерій (НТМ) сходить до кінця 19 століття, коли вперше в 1868 р. був описаний туберкульоз у курей. До 1890 р. було доведено різницю між цим збудником та *M. tuberculosis* (МБТ). Пізніше даний збудник отримав назву *M. avium* (рис.1.1). Так як *M. avium* не викликав захворювання у лабораторних морських свинок, було висунуто припущення, що даний збудник специфічний лише для птахів.

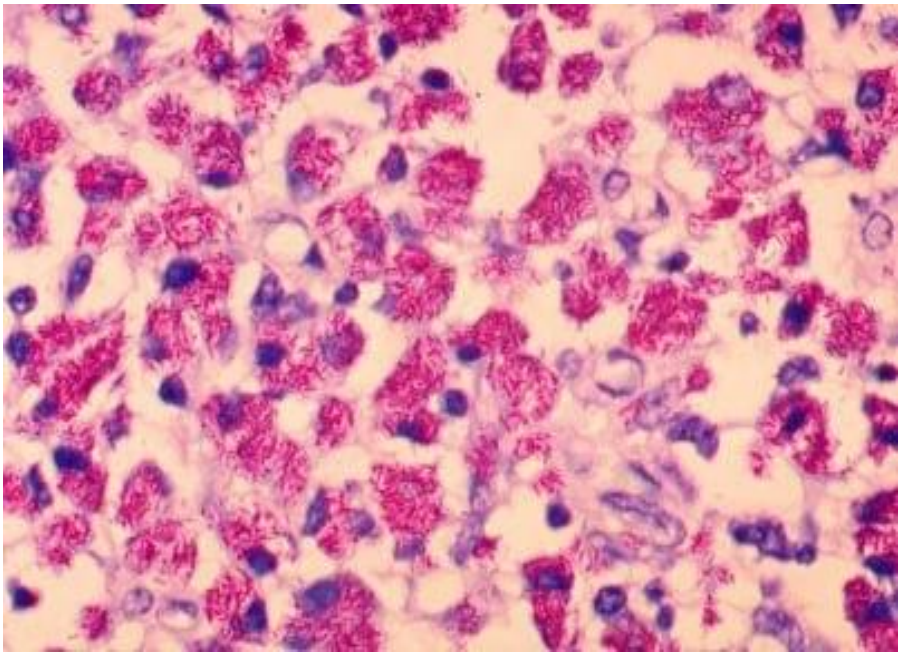

Рис.1.1. *Mycobacterium avium* в лімфоїдній тканині, фарбування за Ціль-Нельсеном [29].

У 1943 році був вперше описаний випадок ко-інфекції силікозу та легеневого мікобактеріозу, викликаного *M. avium*, у людини. До 1950-х років було встановлено, що близько 1-2% пацієнтів, одержують лікування з діагнозом туберкульоз, насправді страждають від легеневого мікобактеріозу.

На даний момент відомо більше 150 видів збудників мікобактеріозів. Маючи туберкульозоподібну клінічну картину, мікобактеріози важко піддаються діагностиці і часто бувають як мікст-інфекції з туберкульозом.

В даний час збільшується роль атипових мікобактерій у патології людини. Атипові мікобактерії характеризуються широким спектром стійкості та потенційною патогенністю для людини та тварини. Однак у останні роки мікробіологічному вивченню їх основних характеристик приділяється недостатньо уваги.

Єдиним достовірним методом підтвердження атипового мікобактеріозу є комплексна ідентифікація мікобактерій за умови неодноразового виділення одного й того ж виду збудника. Проте такі дослідження виконуються вкрай рідко і терапія часто призначається на основі виявленої стійкості збудника або коригується через відсутність позитивної клініко-рентгенологічної динаміки у пацієнта.

У зв'язку з цим актуальним залишається питання сучасної діагностики мікобактеріозів із точною видовою ідентифікацією, що дозволяє розробити ефективну схему антибіотикопрофілактики та терапії [4].

Відомо, що на яєчних живильних середовищах МБТ ростуть у вигляді колоній, що нагадують кольорову капусту (R-форма), колонії мають слабкий кремовий відтінок (рис.1.2).

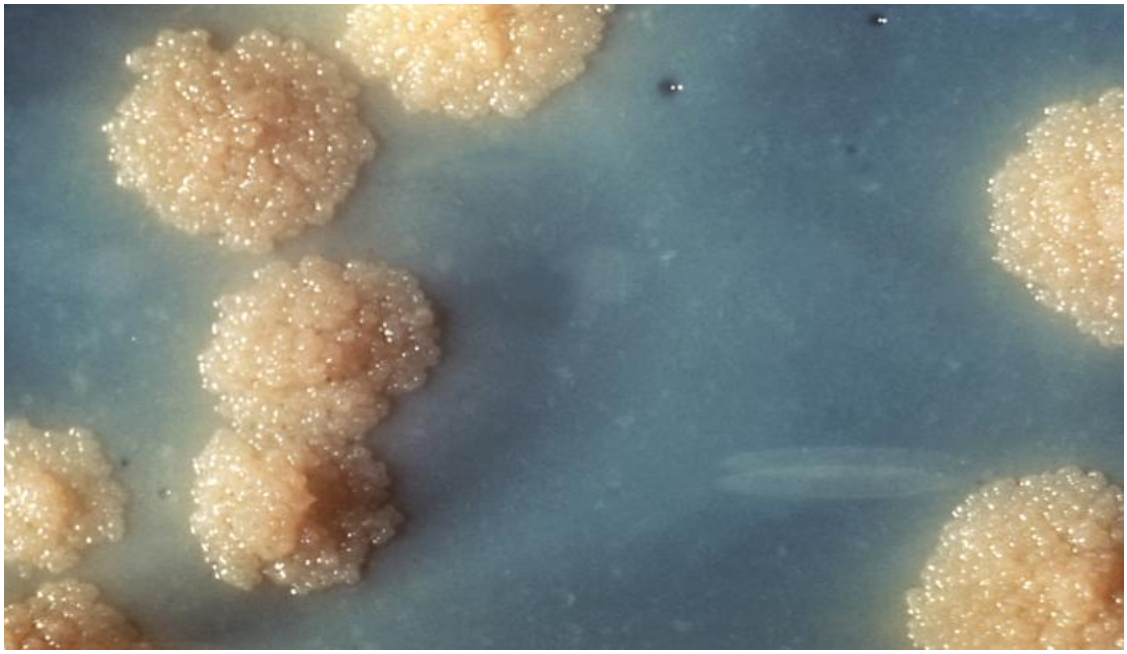

Рис.1.2. Колонії *Mycobacterium tuberculosis*, що мають безбарвну шорстку поверхню, яка є типовою морфологічною характеристикою культуральних властивостей виду [38].

Ріст починається з 21-24 доби, в середньому складає 35 діб, оптимальна температура росту – 35-37 °С. На теперішній час до комплексу МБТ відносяться *M. tuberculosis, M. bovis, M. bovis*-BCG, *M. microti, M. africanum, M. caprae*.

За швидкістю росту та здатністю утворювати пігмент НТМ (за Раньоном) поділяють на 4 групи:

1. Фотохромогенні мікобактерії (утворюють пігмент жовтого або помаранчевого кольору під впливом світла);

2. Скотохромогенні мікобактерії (утворюють пігмент яскраво-жовтого кольору в темряві);

3. Нефотохромогенні мікобактерії (не забарвлені, або мають слабкий кремовий колір);

4. Мікобактерії, що швидко ростуть (утворюють колонії протягом 7 діб).

Пробірки з посівами передивлялись кожний тиждень, щоб не пропустити появи мікобактерій, які швидко ростуть. Пробірки, в яких відмічали ріст культури, виймали з термостату, залишали при кімнатній температурі та денному світлі на добу. Це було необхідно для з'ясовування спроможності мікобактерій утворювати пігмент при світлі, тобто потрібно було вирішити, чи можна буде їх в подальшому віднести до фотохромогенних мікобактерій [5].

До складу роду *Mycobacterium* із сімейства *Mycobacteriaceae* входять кислотостійкі та спиртостійкі бактерії, особливо стійкість виражена у патогенних видів. Це аеробні, нерухомі, грампозитивні прямі або вигнуті паличкоподібні бактерії. У деяких випадках вони утворюють ниткоподібні або міцеліальні структури, які легко фрагментуються на палички чи кокоподібні елементи.

Характеристики клітинної стінки:

1. Високий вміст ліпідів і восків (до 60%) у клітинних стінках.
2. Клітинна стінка побудована з пептидоглікано-арабіногалактанового комплексу.
3. Деякі види утворюють каротиноїдні пігменти, які не дифундують.

Фізіологічні властивості:

1. Каталазо- та арилсульфатазопозитивні.
2. Резистентні до дії лізоциму.
3. Ріст переважно повільний або дуже повільний, тоді як сапрофітні види розмножуються швидше.

Середовище існування:

Мікобактерії широко поширені в навколишньому середовищі:

1. вода,
2. ґрунт,
3. рослини,
4. організми тварин.

Наразі ідентифіковано близько 50 видів мікобактерій, проте загальна кількість представників роду сягає приблизно 200 видів [1].

Мікобактеріоз — це група інфекційних захворювань, викликаних атиповими мікобактеріями, також відомими як нетуберкульозні мікобактерії (НТМ). Ці мікроорганізми широко поширені у навколишньому середовищі, особливо у ґрунті та водних ресурсах.

Особливості інфекції:

1. Інфекції, спричинені НТМ, зазвичай не передаються від людини до людини або від тварин до людини.
2. Захворювання частіше виникають у людей із ослабленим імунітетом або в осіб із хронічними легеневими захворюваннями.

Групи ризику:

Особи з імунодефіцитними станами:

- Пацієнти з ВІЛ-інфекцією.
- Особи, які отримують терапію інгібіторами фактора некрозу пухлини (ФНП).
- Пацієнти з хронічними легеневими хворобами:
- Туберкульоз.
- Пневмоконіоз.
- Муковісцидоз.
- Бронхоектатична хвороба.
- Хронічне обструктивне захворювання легень (ХОЗЛ).

Мікобактеріози є серйозною проблемою для пацієнтів із ослабленим імунітетом та легеневими патологіями. Їх виявлення та лікування вимагають сучасних діагностичних підходів і чіткої ідентифікації збудника.

Таким чином, знання про характер та шляхи поширення атипових мікобактерій може допомогти у проведенні ефективної профілактики та своєчасної діагностики цих захворювань [3].

1.2.Місце мікобактеріозів в патології людини

Нетуберкульозні мікобактерії – це всюдисущі мікроорганізми навколишнього середовища, патогенність яких для людей і тварин коливається від нешкідливої колонізації до захворювання. Таким чином, визначення клінічної значущості Нетуберкульозних мікобактерій, виявленого в клінічному зразку, не завжди є простим і вимагає дотримання певних критеріїв НТМ, можна отримувати з природнього та штучного середовища. В обох випадках біоплівки можуть бути важливими джерелами НТМ і можуть відповідати за псевдоінфекції, псевдоспалахи, а також за захворювання та спалахи захворювань. Швидке виявлення псевдоінфекцій і захворювань, викликаних НТМ, є важливим і вимагає використання молекулярних методів. Викорінити джерела псевдоінфекцій та захворювань, спричинених НТМ, нелегко. У цьому розділі буде обговорено клінічне значення НТМ, їх походження, виявлення та ліквідацію.

Мікобактерії, пов'язані з захворюваннями людей і тварин. За клінічними критеріями мікобактерії можна розділити на три групи. До першої групи належать збудники хвороб людини і тварин, тобто представники комплексу *M. tuberculosis, M. leprae, M. avium* subsp. *paratuberculosis* і *M. lepraemurium*. Ці патогени зазвичай не зустрічаються в навколишньому середовищі. Другу групу складають мікобактерії, потенційно патогенні для людини і тварин. Більшість зустрічаються в природі скрізь і за особливих обставин можуть стати патогенними. Тому їх називають «умовно-патогенними мікобактеріями» або навіть «випадковими патогенами», щоб відрізнити їх від звичайних патогенів. Деякі з них (наприклад, *M. malmoense, M. ulcerans*) або ніколи не були ізольовані від навколишнього середовища (наприклад, *M. haemophilum*), хоча епідеміологічні профілі захворювань, які вони викликають, свідчать про те, що вони присутні в природі. Третя група складається з зазвичай сапрофітних видів, які є непатогенними або патогенними.

Сапрофітні та потенційно патогенні види часто називають нетуберкульозними мікобактеріями, паратуберкульозними, «анонімними», бацилами MOTT (для мікобактерій, відмінних від туберкульозу) або «атиповими» мікобактеріями. Вони насправді є «типовими» бактеріями роду *Mycobacterium* і добре відомі систематикам. Вони були предметом численних таксономічних досліджень, і штами, класифіковані під кожним видом, утворюють однорідні групи, які легко ідентифікувати в лабораторії. Їх клінічні прояви, проте які часто подібні до туберкульозу, можуть вважатися «атиповими», оскільки етіологічний агент не є членом комплексу *M. tuberculosis*. Позначення «нетуберкульозні мікобактерії» загалом прийнято, хоча дискусія щодо відповідної термінології триває.

Для ранжування мікобактерій також використовувалася класифікація мікроорганізмів на основі груп ризику. Він ґрунтується на ризику зараження людини різними видами:

1 група ризику – низький ризик інфікування як для окремої людини, так і для громади. Захворювання, які ніколи або рідко описуються у нормальних дорослих. Види зазвичай класифікуються як рідкісні патогени.

2 група ризику – помірний індивідуальний ризик, захворювання середньої важкості, наявне в громаді. Вказані види, як правило, класифікуються як потенційні патогени або умовно-патогенні.

3 група ризику – ризик зараження повітряним шляхом; захворювання після інфікування є важкі, а іноді й летальні. Високий ризик для окремої людини, але помірний для суспільства. Зазначені види загалом відносять до строгих патогенів.

4 група ризику – високий індивідуальний ризик інфікування і часто летальний результат. Високий ризик для громади (жоден вид мікобактерій не входить до цієї групи ризику). Приклад: вірус Ебола.

Мікобактерії, ідентифіковані у зразках, майже завжди є відповідальними за захворювання. Це не стосується потенційно патогенних видів або сапрофітів, присутність яких систематично не призводить до

захворювань. Наявність атипової мікобактерії в клінічному зразку може мати три значення:

1. Мікобактерія є етіологічним агентом мікобактеріозу, у цьому випадку мікробіологічний діагноз повинен підтверджуватися клінічними ознаками та повторним виділенням мікобактерії від того самого пацієнта або одноразовим виділенням у випадку зразків, зібраних асептично із закритих уражень. Повторні позитивні прямі дослідження додають докази на користь мікобактеріальної інфекції.

2. Мікобактерія колонізувала зразок, але не має жодного клінічного значення. Це часто виникає внаслідок зараження обладнання (наприклад, ендоскопів) мікобактеріями, зазвичай із водопровідної води. Це явище не є рідкісним і викликає так звану «псевдоінфекцію». Колонізація клінічних зразків також може бути результатом контакту пацієнта з мікобактеріями навколишнього середовища (наприклад, забруднена вода). Ця колонізація іноді може спричинити зараження, хоча це не обов’язково завжди так. За визначенням, колонізація означає відсутність реакції з боку хазяїна, тоді як інфекція означає, що хазяїн реагує, виробляючи реакцію шкірного тесту або виробляючи антитіла, але без будь-яких явних проявів захворювання. Колонізація, а також інфекція можуть бути тимчасовими, періодичними або тривалими.

3. Мікобактерія походить від зараження в лабораторії (наприклад, дезактиваційні розчини або зараження іншим позитивним зразком). Це легко перевірити; якщо та сама мікобактерія виділена з інших зразків, оброблених у той самий день, поясненням є контамінація лабораторії.

Відомі численні атипові мікобактеріальні інфекції. Найпоширенішими формами захворювань є хронічне захворювання легень, що нагадує туберкульоз (виникає переважно у дорослих), цервікальна аденопатія у дітей, інфекції шкіри та м’яких тканин, дисемінована хвороба в осіб з ослабленим імунітетом. Лімфаденіт – найчастіший прояв у дітей. Проте прогресуючий

імунодефіцит через ВІЛ-інфекцію, як видається, є найбільш значущим фактором дисемінованого захворювання *Mycobacterium avium complex*.

Унікальний МАС-синдром, який розвивається у пацієнтів зі СНІДом у перші 1-2 місяці після початку , був описаний 3 групами дослідників. Симптом складається з лихоманки та вогнищевого МАС лімфаденіту, з негативним результатом гемокультури на мікобактерії в більшості випадків. Симптом також відомий як синдром відновлення імунітету. Це може виникнути у пацієнтів, які вже мали субклінічне захворювання МАС, яке виявляється за допомогою ВААРТ. Атиповими мікобактеріями, які спостерігаються у дітей, є *M. avium-intracellulare complex, M. scrofulaceum*, і рідко зустрічаються у дітей, хворих на СНІД, *M. kansasii*.

Mycobacterium marinum є збудником басейнової гранульоми. Проте як швидко зростаючі, так і повільно зростаючі види НТМ, були причетні до хронічних гранулематозних інфекцій. Ці інфекції здебільшого вражають оболонки сухожиль, бурси, кістки та суглоби після прямого зараження через випадкову травму, хірургічні розрізи або колоті рани. Було описано теносиновіт кисті внаслідок інфекції МАС і *M marinum*. Остеомієліт грудини, викликаний *M. abscessus*, був виявлений у кластерних і спорадичних спалахах. Штами *M fortuitum* і *M. chelonae*, також відомі як мікроорганізми, що швидко ростуть, інколи були залучені до інфекцій ран, м'яких тканин, легень і середнього вуха.

Популяційне дослідження Марраса та ін., яке включало дані 417 494 пацієнтів віком від 66 років і старше, які лікувалися від , астми або обох, показало, що скориговані коефіцієнти шансів для нетуберкульозних мікобактерій легеневих захворювань були статистично значущими для поточного загального використання інгаляційних кортикостероїдів. Скоригований коефіцієнт шансів був статично значущим для флутиказону [44].

1.3. Особливості діагностики та лікування мікобактеріозів

Діагностичні критерії захворювання легень, спричиненого нетуберкульозними мікобактеріями (НТМ):

Мінімальна оцінка стану пацієнта:

Пацієнти із підозрою на захворювання легень, викликане НТМ, повинні пройти таку діагностичну оцінку:

1. Візуалізаційні методи:

- Рентгенографія органів грудної клітки або, за відсутності кавітації, комп'ютерна томографія з високим розрішенням (КТВР).

2. Мікробіологічний аналіз:

- Три або більше зразків мокротиння для дослідження на кислотостійкі бактерії.

3. Диференційна діагностика:

- Виключення інших захворювань, таких як туберкульоз.

Критерії для постановки діагнозу:

Для підтвердження захворювання легень, спричиненого НТМ, повинні бути виконані три групи критеріїв:

1. Клінічні: Пацієнт має бути симптоматичним.

2. Рентгенологічні:

1. Виявлення вузликового або порожнинного типу уражень.

2. КТВР, що вказує на мультифокальний бронхоектаз із численними дрібними вузликами.

3. Мікробіологічні: Підтвердження наявності НТМ у зразках мокротиння.

Особливості:

1. Ці критерії найкраще підходять для діагностики захворювань, викликаних *Mycobacterium avium complex* (MAC), *M. kansasii*, та M. abscessus.

2. Для більшості інших НТМ доступної інформації недостатньо, щоб стверджувати, що зазначені критерії є універсальними для всіх збудників, які викликають захворювання органів дихання. [44].

Клінічні критерії:

1. Легеневі симптоми, контрастування вузликового або порожнинного типу на рентгенограмі органів грудної клітки або КТВР, що вказує на мультифокальний бронхоектаз із множинними дрібними вузликами.

2. Відповідне виключення інших діагнозів.

Мікробіологічні критерії:

Клінічні критерії

1. Наявність легеневих симптомів, які супроводжуються:

- Контрастуванням вузликового або порожнинного типу на рентгенограмі органів грудної клітки.
- КТВР, що демонструє мультифокальний бронхоектаз із множинними дрібними вузликами.

2. Відповідне виключення інших можливих діагнозів.

Мікробіологічні критерії

1. Позитивні культури на НТМ за результатами принаймні двох окремих зразків мокротиння.
   - У разі недостатньої інформативності зразків слід повторити мазки та культури мокротиння для аналізу на кислотостійкі бактерії (КСБ).
2. Позитивні культури з одного промивання бронхів.
3. Трансбронхіальна або інша біопсія легень, яка демонструє:
   - Мікобактеріальні гістопатологічні ознаки (гранулематозне запалення або присутність КСБ).
   - Позитивну культуру на НТМ або гістопатологічні ознаки з гранулематозним запаленням і підтвердженням НТМ у зразках мокротиння чи промивань бронхів.
4. Консультація зі спеціалістом у разі виділення НТМ, які можуть бути наслідком забруднення навколишнього середовища.

Рекомендації для спостереження та терапії

1. Пацієнти, які не відповідають повністю діагностичним критеріям, повинні перебувати під спостереженням до встановлення або виключення діагнозу.

2. Формулювання діагнозу захворювання легень, спричиненого НТМ, не означає автоматичного початку терапії.

- Рішення про терапію повинно базуватися на оцінці потенційних ризиків та переваг для конкретного пацієнта.

Основні лабораторні особливості НТМ.

Процедури фарбування

- Найкращим методом фарбування є метод флуорохрому.

2. Культивування зразків

- Зразки культивуються як на рідких, так і на твердих живильних середовищах.
- Особливих умов росту (зокрема, нижчих температур інкубації) потребують такі види:
  - *Mycobacterium haemophilum*
  - *Mycobacterium genavense*
  - *Mycobacterium conspicuum*
- Ці види можуть викликати захворювання шкіри та лімфатичних вузлів.

3. Ідентифікація видів

- Ідентифікацію НТМ слід проводити на рівні видів.
- Швидкі методи ідентифікації:
  - Комерційні ДНК-зонди (для MAC, *M. kansasii*, *M. gordonae*).
  - Високоефективна рідинна хроматографія (ВЕРХ).
- Для швидкозростаючих мікобактерій (*M. fortuitum*, *M. abscessus*, *M. chelonae*) можливі інші методи:
  - Розширене тестування чутливості in vitro до антибіотиків.

- Секвенування ДНК.
- Аналіз ендонуклеази рестрикції (АЕР) та ПЛР.

4. Тестування чутливості до антибіотиків

- Для ізолятів MAC рекомендується рутинне тестування чутливості лише до кларитроміцину.
- Для ізолятів *M. kansasii* — лише до рифампіцину.
- Швидкозростаючі мікобактерії (*M. fortuitum*, *M. abscessus*, *M. chelonae*) потребують розширеного тестування чутливості до таких препаратів:
  - Амікацин
  - Іміпенем (лише для *M. fortuitum*)
  - Доксициклін
  - Фторовані хінолони
  - Сульфаніламіди або триметоприм/сульфаметоксазол
  - Цефокситин
  - Кларитроміцин
  - Лінезолід
  - Тобраміцин (лише для *M. chelonae*).

Профілактика захворювань, пов’язаних із охороною здоров’я

1. Запобігання інфекціям НТМ

- Уникати контакту післяопераційних ран, місць ін’єкцій та внутрішньовенних катетерів з водопровідною водою чи рідинами з неї.
- Ендоскопи не можна очищувати водопровідною водою.
- Для зберігання клінічних зразків заборонено використовувати водопровідну воду та лід.

Дотримання цих рекомендацій забезпечить ефективне лікування та профілактику інфекцій, спричинених нетуберкульозними мікобактеріями.

Профілактика та лікування захворювань, спричинених НТМ.

1. Лікування захворювання легень, спричиненого *Mycobacterium avium complex* (MAC):

Легка вузликова або бронхоектатична форма:

1. Рекомендована схема:

1. Кларитроміцин (1000 мг) або азитроміцин (500 мг),
2. Рифампіцин (600 мг),
3. Етамбутол (25 мг/кг).

2. Прийом препаратів: три рази на тиждень.

Фіброзно-порожнинна форма або важка вузликова бронхоектатична форма:

1. Рекомендована схема:

1. Кларитроміцин (500–1000 мг) або азитроміцин (250 мг),
2. Рифампіцин (600 мг) або рифабутин (150–300 мг),
3. Етамбутол (15 мг/кг).

2. Додатково на початку терапії:

1. Амікацин або стрептоміцин — три рази на тиждень.

3. Тривалість лікування: до досягнення негативного результату культури на терапію протягом одного року.

2. Профілактика дисемінованого захворювання, спричиненого MAC:

1. Рекомендації для дорослих із синдромом набутого імунодефіциту (СНІД) при рівні CD4+ Т-лімфоцитів <50 клітин/мкл.

2. Рекомендовані препарати:

1. Азитроміцин: 1200 мг раз на тиждень, або
2. Кларитроміцин: 1000 мг щодня.
3. Рифабутин: 300 мг щодня (ефективний, але менш переносимий).

Дотримання цих рекомендацій забезпечить контроль захворювань, спричинених MAC, і профілактику у пацієнтів із групи ризику.

3. Лікування захворювання легень, спричиненого *Mycobacterium kansasii*

1. Схема терапії:

2. Ізоніазид (300 мг/добу).

3. Рифампіцин (600 мг/добу).

4. Етамбутол (15 мг/кг/добу).

5. Тривалість лікування: До моменту отримання негативної культури протягом 12 місяців.

4. Лікування захворювання легень, спричиненого *Mycobacterium abscessus*

1. Особливості:

1. Немає універсальної ефективної схеми медикаментозного лікування.

2. Комбіновані схеми на основі кларитроміцину (1000 мг/добу) можуть покращити симптоми, але мають ризик рецидиву.

2. Підхід до лікування:

1. Резекція ураженої ділянки легень у поєднанні з комбінованою терапією (на основі кларитроміцину) дає найкращий шанс на успіх.

5. Лікування нелегеневих захворювань, спричинених швидкорослими мікобактеріями (*M. abscessus, M. chelonae, M. fortuitum*)

1. Схема терапії:

1. Засновується на результатах тесту чутливості *in vitro*.

2. Для *M. abscessus* зазвичай використовують макроліди (наприклад, кларитроміцин або азитроміцин).

2. Додаткові заходи:

1. Хірургічне втручання може бути важливим компонентом терапії у складних випадках.

Для кожного конкретного пацієнта лікування повинно бути адаптоване відповідно до результатів тестів на чутливість та клінічної ситуації.

6. Лікування шийного лімфаденіту, спричиненого нетуберкульозними мікобактеріями (НТМ)

1. Етіологія:

У більшості випадків захворювання викликане *Mycobacterium avium complex* (MAC).

2. Основний метод лікування:

1. Хірургічне втручання: Є основним методом терапії з показником ефективності понад 90%.

3. Додаткові заходи:

1. Схема на основі макролідів (наприклад, кларитроміцин або азитроміцин) розглядається:

1. У пацієнтів із тяжким перебігом лімфаденіту.

2. У випадках, коли спостерігається недостатня ефективність хірургічного втручання.

Цей підхід дозволяє досягти високих показників одужання та мінімізувати ризик рецидиву [41].

РОЗДІЛ 2
МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОД ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1. Збір, обробка, знезараження та фарбування зразків

Для ідентифікації мікобактерій та проведення тестів на визначення їх чутливості важливо правильно підготувати та транспортувати зразки, щоб забезпечити точність результатів. Ось основні рекомендації:

1. Типи зразків:

- Зразки можна збирати з будь-якої ділянки тіла, де є підозра на інфекцію. Найпоширеніші зразки — це мокротиння, біопсійні матеріали, кров, сеча або інші рідини організму.

2. Уникнення забруднення:

- Виключайте контакт із потенційними джерелами забруднення, такими як водопровідна вода. Мікобактерії природно присутні в навколишньому середовищі, що може спотворити результати.

3. Контейнери для збору:

- Використовуйте стерильні, герметичні, одноразові контейнери, схвалені лабораторією.
- Контейнери повинні бути чітко марковані, щоб уникнути плутанини.

4. Відсутність фіксаторів:

- Зразки повинні подаватися без використання консервантів чи фіксаторів, які можуть впливати на життєздатність мікобактерій.

5. Транспортування:

- Якщо доставка зразка до лабораторії затримується більше ніж на 1 годину, рекомендується охолодження при температурі +4 °C.
- Швидке транспортування до лабораторії має пріоритет для збереження якості зразка.

6. Безпека під час збору:

- Дотримуйтесь стандартних заходів безпеки для запобігання інфікуванню персоналу чи контамінації зразків.

Ці дії є критично важливими для отримання достовірних результатів і подальшого вибору ефективного лікування.

Для діагностики захворювань, викликаних нетуберкульозними мікобактеріями (НТМ), важливо дотримуватись наступних рекомендацій:

1. Кількість зразків:

- Для більш точної діагностики бажано зібрати декілька зразків із дихальних шляхів в різні дні. Це особливо важливо для амбулаторних хворих, у яких зразки можуть варіюватися залежно від часу збору.

2. Транспортування:

- Термінова доставка зразків до лабораторії є оптимальним варіантом. Для цього слід використовувати холодоагенти, такі як холодні пакети, щоб зберегти зразки при температурі близько +4 °C.
- У випадку затримки транспортування мікобактерії все ще можуть бути виділені через кілька днів, але ризик контамінації або надмірного росту бактерій значно зростає.

3. Уникнення антибіотикотерапії:

- Прийом антибіотиків, таких як макроліди та хінолони, може ускладнити виділення НТМ під час діагностичних процедур.
- За можливості, слід обмежити застосування антибіотиків під час оцінки захворювань, викликаних НТМ, щоб забезпечити точність аналізів.

4. Час між збором та обробкою:

- Скорочення часу між збором і лабораторною обробкою зменшує ризик росту сторонніх бактерій, що може ускладнити ідентифікацію НТМ.

Ці заходи спрямовані на підвищення якості діагностики, дозволяючи швидко та точно виявити збудника для подальшого вибору терапії.

2.2 Обробка зразків

Для мінімізації забруднення або надмірного обростання культур бактеріями та грибками під час роботи зі зразками, зібраними з нестерильних ділянок тіла, важливо дотримуватися наступних рекомендацій:

1. Знезараження зразків з нестерильних ділянок:

1. Зразки з таких ділянок можуть містити швидкорослі організми, які заважають виділенню нетуберкульозних мікобактерій (НТМ).

2. Необхідно використовувати делікатні методи знезараження, оскільки НТМ, особливо швидкорослі штами, є більш чутливими до таких процедур, ніж Mycobacterium tuberculosis.

2. Обробка зразків зі стерильних ділянок:

1. Зразки тканин або рідин зі стерильних ділянок не потребують знезараження.

2. Тканини слід асептично обробляти у стерильному фізіологічному розчині або розчині альбуміну перед інокуляцією на живильне середовище.

3. Методи знезараження:

1. Найпоширеніший метод використовує гідроксид N-ацетил-1-цистеїну-натрію (NALC-NaOH).

2. Для зразків, які можуть бути забруднені Pseudomonas aeruginosa або іншими грамнегативними паличками, може застосовуватися подвійна обробка із використанням 5% щавлевої кислоти.

4. Альтернативні підходи:

1. Якщо результати культури знижені через чутливість НТМ до щавлевої кислоти, рекомендується використовувати двоступеневий метод. Він включає застосування щавлевої кислоти лише для тих зразків, у яких відбулося обростання бактеріями, відмінними від НТМ.

Цей підхід забезпечує збереження життєздатності НТМ і зменшує ризик надмірного знищення мікобактерій, що особливо важливо для ефективного лабораторного аналізу.

2.3 Методи культивування

Описаний текст підкреслює переваги та недоліки використання щільних та бульйонних (рідких) живильних середовищ для культивування мікобактерій.

Основні моменти:

1. Комбінація середовищ:

- Для виявлення та підсилення росту мікобактерій необхідно використовувати як щільні, так і рідкі середовища.

2. Рідкі середовища:

- Забезпечують швидший ріст і більшу кількість мікобактерій.
- Можуть бути проблемними через надмірний ріст бактерій, що ускладнює аналіз.

3. Щільні середовища:

- Дозволяють спостерігати морфологію колоній.
- Полегшують ідентифікацію змішаних культур (більше одного виду мікобактерій).
- Дають змогу кількісно оцінити рівень зараження.
- Служать резервною опцією у випадку забруднення рідких середовищ.

Поєднання рідких і щільних живильних середовищ є оптимальним підходом для ефективного культивування мікобактерій. Це дозволяє не лише швидко отримувати результати, але й забезпечує точність і надійність аналізу.

Бульйонні живильні середовища є важливими інструментами для культивування мікроорганізмів, зокрема мікобактерій. Вони забезпечують рідке середовище, багате на поживні речовини, що сприяє зростанню бактерій. Одна з ключових переваг таких середовищ — швидкість і ефективність у порівнянні з твердими середовищами, особливо для повільнорослих бактерій, таких як мікобактерії.

Принцип роботи нерадіометричних систем із індикатором росту

Система на основі пробірок з індикатором росту мікобактерій (наприклад, BACTEC MGIT 960 від Becton Dickinson) працює на основі наступних принципів:

Модифіковане середовище Міддлбрука 7H9: Це спеціалізоване рідке середовище, оптимізоване для росту мікобактерій.

Індикатор кисню: У пробірці міститься датчик кисню на основі гасіння флуоресценції. У присутності кисню флуоресценція мінімальна, але в міру його виснаження (через ріст бактерій) інтенсивність флуоресценції збільшується.

УФ-детекція: Флуоресценція індикатора реєструється за допомогою ультрафіолетового світла, що дає змогу швидко виявити наявність зростання бактерій.

Особливості та переваги:

Швидкість: Рідке середовище дозволяє виявити ріст мікобактерій значно швидше, ніж тверді середовища.

Автоматизація: Сучасні системи, такі як MGIT 960, автоматизують процес моніторингу, зменшуючи потребу в ручній роботі.

Чутливість: Датчики дозволяють виявити навіть незначний ріст бактерій.

Застосування:

Діагностика туберкульозу та інших мікобактеріозів.

Тестування чутливості мікобактерій до антибіотиків.

Дослідницькі цілі, включаючи вивчення росту та метаболізму мікобактерій.

Методи культивування в рідких середовищах відкривають нові можливості для мікробіологічної діагностики, забезпечуючи швидші та точніші результати порівняно з традиційними методами.

Щільні живильні середовища є важливими для культивування мікроорганізмів, зокрема нетуберкульозних мікобактерій (НТМ). До рекомендованих щільних середовищ належать:

1. Середовища на основі яєць:

- Середовище Левенштейна-Йенсена: добре підходить для росту більшості видів мікобактерій завдяки вмісту поживних речовин і оптимальному рівню жирів та білків.

2. Середовища на основі агару:

- Міддлбрук 7H10: забезпечує хороший ріст мікобактерій та використовується для їх культивування.
- Міддлбрук 7H11: подібне до 7H10, але зі зміненим складом, що дозволяє вирощувати навіть складніші види бактерій.

3. Двофазні середовища:

- Система Septi-Chek (Becton Dickinson): поєднує тверде і рідке середовище для підвищення ефективності ізоляції НТМ. Хоча ця система не є швидким методом, вона підвищує ймовірність успішного виділення бактерій.

Додаткові аспекти:

- Тест на чутливість: Середовища на основі агару можуть використовуватися для визначення чутливості бактерій до антибіотиків.
- Кількісна оцінка: Згідно з рекомендаціями CLSI, кількість колоній НТМ на щільному середовищі має звітуватися напівкількісно (від 0 до 4+), що дозволяє оцінити рівень бактеріального навантаження.

Ці методи забезпечують точність у діагностиці та визначенні чутливості НТМ до лікування.

Цей текст описує клінічне значення позитивних результатів культур із дихальних шляхів, зокрема у випадках захворювань, спричинених мікобактеріями, такими як M. haemophilum.

Головні моменти:

1. Кількість колоній та значущість:

- Невелика кількість колоній (наприклад, тільки позитивний результат на бульйонному середовищі) менш імовірно є клінічно значущою.
- Велика кількість колоній (наприклад, ріст на щільному й бульйонному середовищах) більш вірогідно свідчить про клінічну значущість.

2. Оцінка відповіді на терапію:

- Після успішного лікування легеневого захворювання, спричиненого MAC, одна позитивна культура з низьким рівнем колоній зазвичай свідчить про:
- Забруднення (хибнопозитивні результати).
- Тимчасові нові інфекції, а не рецидив.

3. Особливості росту M. haemophilum:

- Цей мікроорганізм потребує спеціальних умов для росту, зокрема середовищ, збагачених залізовмісними сполуками (цитрат заліза амонію, гемін або гемоглобін).

Ця інформація допомагає клініцистам визначати значущість результатів культур та коригувати терапію за потреби.

Оскільки *M. haemophilum* може з'являтись на шкірі та кінцівках, усі зразки з уражень шкіри, суглобів або кісток слід культивувати методом, придатним для виділення цього виду (рис. 2.1).

M. genavense, *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* [30] та *M. ulcerans* – це приклади вибагливих НТМ, які потребують спеціальних добавок для виділення в культурі.

M. genavense (рис. 2.2) і *M. avium* subsp. *paratuberculosis* (рис. 2.3) потребують мікобактину. *M. ulcerans* може бути оптимально виділений за допомогою добавок яєчного жовтка.

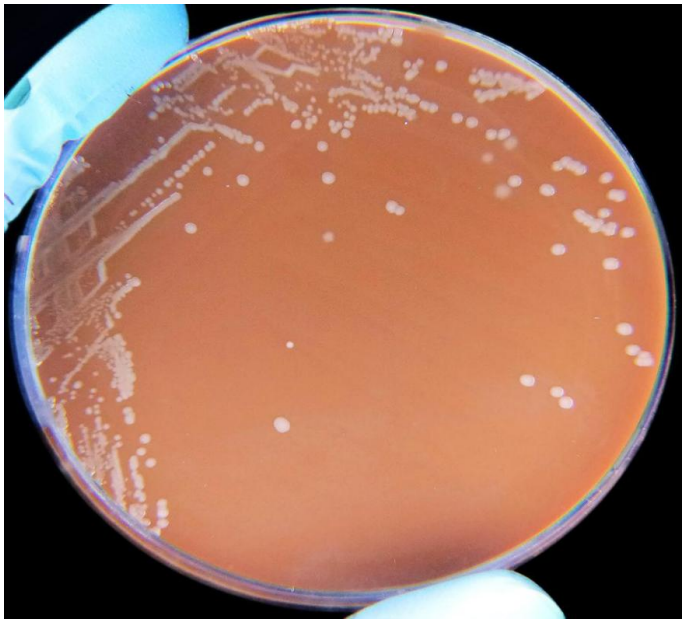

Рис. 2.1 *Mycobacterium haemophilum* колонії *haemophilum* на шоколадному агарі [20].

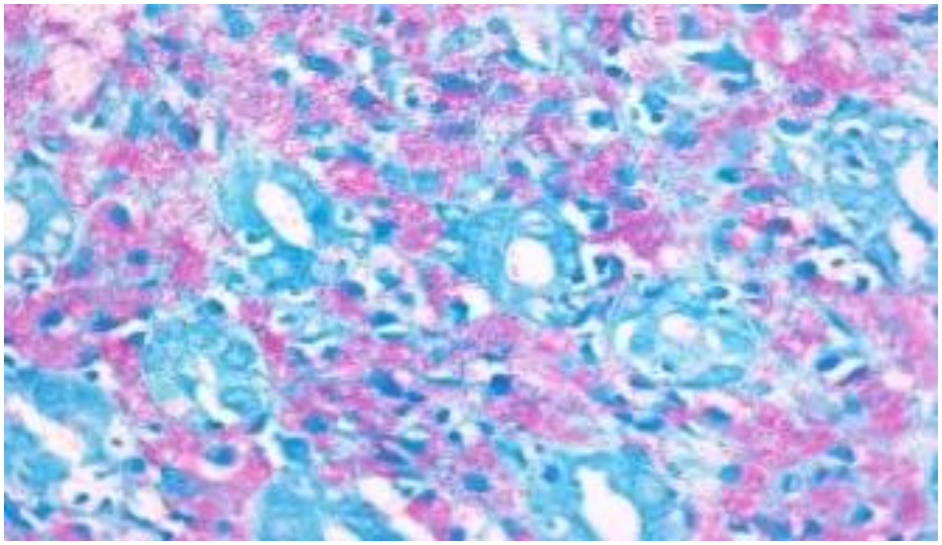

Рис. 2.2. Зразок дванадцятипалої кишки. Дисемінована інфекція *M. genavense* у ВІЛ-інфікованого пацієнта [12].

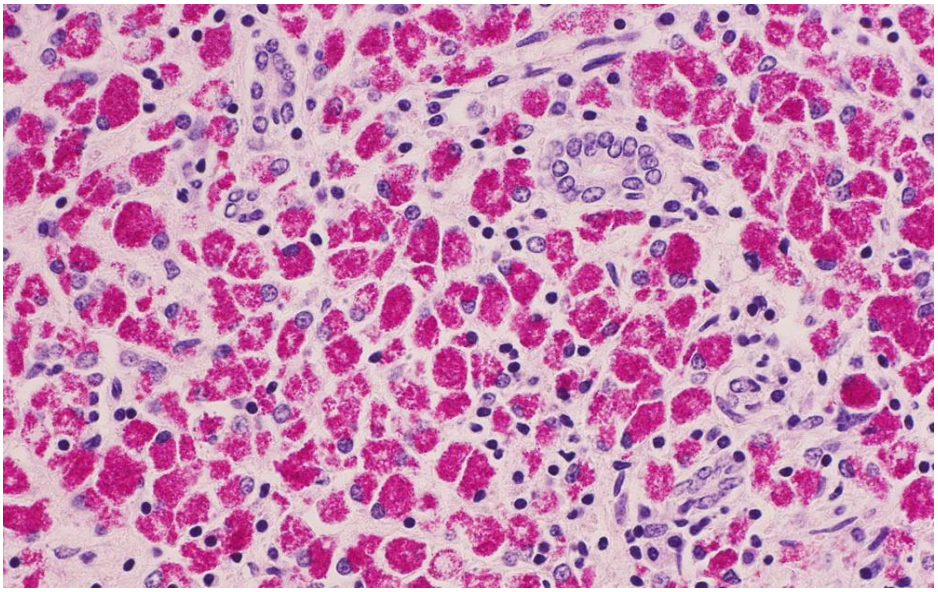

Рис. 2.3 *M. avium* subspecies p*aratuberculosis* (запальне захворювання кишечника)

2.4 Інкубування культур

Оптимальна температура для більшості НТМ:

- Від 28 °C до 37 °C.

2. Особливості повільно зростаючих мікобактерій:

- M. conspicuum: Зростає при 22–30 °C (декілька тижнів) та 37 °C у рідких середовищах.
- *M. haemophilum*: Вимагає 28–30 °C.
- *M. ulcerans*: Зростає при 25–33 °C.
- Деякі штами *M. chelonae*: Зростають при 28–33 °C.

3. Інкубація культур:

- ШЗМ (швидко зростаючі мікобактерії) та *M. marinum*: Інкубація при 28–30 °C.
- Зразки шкіри, суглобової рідини та кісток: Культивуються при 28–30 °C та 35–37 °C для повного спектра видів.

4. Тривалість культивування:

- Більшість НТМ: 2–3 тижні в субкультурі.
- *M. ulcerans* і *M. genavense*: 8–12 тижнів.

- Швидко зростаючі мікобактерії: Зазвичай виявляються протягом 7 днів після субкультури.

5. Використання систем на основі рідини:

- Раніше виявлення можливе завдяки рідким середовищам.
- Інформація про час виявлення росту може бути корисною клініцистам для розпізнавання швидкозростаючих видів.

Ці рекомендації спрямовані на забезпечення точності діагностики та ідентифікації мікобактерій у лабораторних умовах.

2.5 Методи молекулярного типування нетуберкульозних мікобактерій

Молекулярне типування нетуберкульозних мікобактерій (НТМ) є важливим інструментом для дослідження епідеміології, зокрема при виявленні джерел інфекцій, моніторингу спалахів та оцінки ефективності заходів контролю. Методи молекулярного типування допомагають визначити різницю між штамами мікобактерій, що сприяє ефективнішому управлінню інфекційними захворюваннями.

Основні методи молекулярного типування НТМ:

1. Гель-електрофорез в імпульсному полі (PFGE)

PFGE є одним із найпоширеніших методів для типування НТМ. Метод передбачає:

- Виділення ДНК із ізолятів у агарозному гелі.
- Лізис клітин для виділення хромосомної ДНК.
- Травлення ДНК специфічними рестрикційними ендонуклеазами.
- Аналіз рестрикційних фрагментів за допомогою електрофорезу.

Переваги:

- Висока роздільна здатність для диференціації штамів.
- Широке застосування у дослідженні штамів *M. avium* complex (MAC) та інших видів НТМ.

Недоліки:

- Трудомісткість і необхідність у великій кількості біоматеріалу.
- Деякі штами мають подібні профілі, що ускладнює їх розмежування.

2. Інші методи типування

Окрім PFGE, використовуються такі підходи:

- Випадкова ампліфікація ДНК методом ПЛР (RAPD): дозволяє швидко отримати інформацію про генетичну варіабельність.
- Мультилокусний ферментний електрофорез (MLEE): аналізує активність кількох ферментів, що кодуються конститутивними генами.
- Гібридизація з багатокопійними вставними елементами: застосовується, наприклад, для M. avium, але менш ефективна для M. intracellulare.

3. Секвенування геному

Використання секвенування генів (наприклад, рРНК 16S, hsp65, rpoB) забезпечує точну ідентифікацію видів НТМ та аналіз їх генетичних взаємозв'язків.

Ці методи сприяють кращому розумінню епідеміології НТМ та підтримують розробку ефективних стратегій лікування й контролю [41].

РОЗДІЛ 3
РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Нетуберкульозні мікобактерії включають численні види кислотостійких паличок, багато з яких лише нещодавно були визнані патогенними. Діагноз мікобактеріального захворювання ґрунтується на поєднанні клінічних ознак, мікробіологічних даних, рентгенологічних і гістопатологічних досліджень.

Група нетуберкульозних мікобактерій складається з різноманітних видів і відповідає за широкий спектр клінічних синдромів. Вони охоплюють усі види мікобактерій, крім *Mycobacterium tuberculosis complex* (МТВ) і *Mycobacterium leprae.* Нетуберкульозні мікобактерії відомі з часів Роберта Коха, але історично вони були затьмарені збудником туберкульозу і відкинуті як забруднювачі. Їх клінічне значення було оцінено лише нещодавно. Завдяки прогресу в молекулярній мікробіології та знанням про ці організми НТМ тепер визнані важливими етіологічними чинниками інфкцій людини [23].

Нетуберкульозні мікобактерії, як правило, є вільноживучими організмами, повсюдно поширеними в навколишньому середовищі. До важливих резервуарів належать вода (включаючи водопровідну), ґрунт, тварини та молочні продукти; їх також можна виявити як колонізаторів медичного обладнання, такого як ендоскопи та хірургічні розчини. Про поширення від людини до людини не повідомляється. Було ідентифіковано понад 160 видів НТМ, приблизно 60 з яких є відомі і викликають захворювання. Традиційно НТМ поділяють на 4 широкі категорії відповідно до системи Раньйона . У цій класифікації НТМ поділяються за темпами росту та вироблення пігменту. Групи I-III – це НТМ, що повільно зростають, а група IV – такі, що швидко ростуть (тобто виявляються в культурі протягом 7 днів). Повільно зростаючі НТМ поділяються на фотохромогени групи I (утворюють пігмент у присутності світла), скотохромогени групи II

(утворюють пігмент у відсутності світла) і нехромогени групи III. Незважаючи на те, що ця система ідентифікації замінена більш сучасними генетичними методами, вона надає лікарям знання про клінічно значущий імовірний вид. Клінічно важливі види за групою включають *Mycobacterium kansasii* і *M marinum* (група I)*; Mycobacterium gordonae* і *M. scrofulaceum (*II група); *Mycobacterium avium-intracellulare* (MAI) і *M ulcerans* (група III); *Mycobacterium fortuitum, M chelonae* і *M abscessus* (група IV) [23].

3.1. *Mycobacterium fortuitum*

Mycobacterium fortuitum – це нетуберкульозна мікобактерія, що швидко зростає, класифікована в групі IV за Раньйоном [10]. Інші мікобактерії цієї групи включають *Mycobacterium abscessus, M. chelonae* та *M. peregrinum. M. fortuitum* вперше був виділений від жаб, що пояснює, чому він раніше називався *Mycobacterium ranae*. Він поширений у всьому світі і міститься в ґрунті та воді.*M fortuitum* все частіше виділяють із клінічних зразків [36]. Існує принаймні 50 штамів *M. fortuitum*. Таксономія мікобактерій, включаючи швидко зростаючі мікобактерії, постійно розвивається. Розповсюдження ймовірно по всьому світу.

Патофізіологія. Інфекція *M fortuitum* може спричинити широкий спектр клінічних синдромів, які часто базуються на початковому контакті. Інфекція *M fortuitum* зустрічається як у імунокомпетентних, так і в осіб з ослабленим імунітетом.

Хірургічні або нехірургічні травми та забруднена вода вводять організми в організм; після цього *M fortuitum* встановлює інфекцію в цих місцях. Тому повідомлялося про інфекції після кардіологічних, офтальмологічних, неврологічних ортопедичних, ендоскопічних, пластичних та реконструктивних операцій [32]. З цієї причини можуть виникнути інфекції імплантованих пристроїв (наприклад, дефібриляторів, катетерів, катетерів для діалізу) та абсцеси в місці ін’єкції.Повідомлялося про псевдоспалахи після контакту з зараженими гідромасажними ваннами в

манікюрних салонах [28] і зараженими чорнилом для татуювань [43]. *M. fortuitum* може спричинити транзиторні або хронічні легеневі інфекції, особливо в осіб із основними структурними дефектами та/або гастроезофагеальними аномаліями, такими як ахалазія [39].

Епідеміологія. Вивчення географічного поширення інфекцій НТМ все ще знаходиться на початковій стадії. Інфекції, включаючи інфекції *M. fortuitum*, зустрічаються по всьому світу. Нещодавно були опубліковані епідеміологічні звіти з Європи, Північної Америки, Китаю, Індії, Африки, Близького Сходу та Австралії. На сьогоднішній день *M. fortuitum* не має ідентифікованих ендемічних зон.

Захворюваність на основі віку, статі та раси. Пацієнти, у яких розвивається *і*нфекція *M fortuitum* у зв'язку з пластичною та реконструктивною хірургією, як правило, молодші (у середині четвертого десятиліття життя), тоді як пацієнти з легеневою інфекцією *M. fortuitum*, як правило, старші (>50 років). Захворювання легенів у молодшого пацієнта (< 50 років) переконливо свідчить про первинне основне захворювання легень. Ізольований лімфаденіт переважно зустрічається у дітей. Інфекції *M. fortuitum*, здається, не мають сексуальної або расової схильності.

Частота поширеності захворювання. Мокроту найчастіше досліджують на наявність кислотостійких бактерій КСБ, тому її найлегше відстежити. В одному дослідженні з 6800 пацієнтів, перевірених на КСБ, 40 людей мали захворювання легенів викликаних *M. fortuitum* [21]. У дослідженні пацієнтів Kaiser Permanente на Гаваях 109 з 2197 (4,9%) респіраторних зразків були позитивними на *M. fortuitum* [16]. Швидко зростаючі НТМ частіше виявлялися у медичних туристів, у яких розвинулися післяопераційні ранові інфекції. Абсцеси є найпоширенішим ізолятом, за яким слідує *M. fortuitum* [26].

3.2 *Mycobacterium avium*

Mycobacterium avium – цей вид з роду Mycobacterium складається з

групи підвидів генетично-пов'язаних бактерій. Група включає Mycobacterium avium subsp. avium (MAA), Mycobacterium avium subsp. hominis (MAH), і *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP). Є основним видом комплексу видів *Mycobacterium avium* complex (MAC) [37].

Епідеміологія. Штами *M. avium* можуть бути ізольовані з техногенного середовища, наприклад, питної вида, яка, як вважають, є звичайним джерелом інфекції для хворих на СНІД. Кілька досліджень продемонстрували наявність того самого штаму у водопровідній воді та у пацієнтів, інфікованих *M. avium* у різних умовах . Цей вид також є поширеним етіологічним чинником інфекцій у свиней та птиці [31]. Виявлено схожість між штамами від тварин і людини. Однак передачі від тварин до людини не виявлено. Більшість інфекцій, викликаних MAC у хворих на СНІД спричинені *M. avium*. Навпаки, виявлено *M. intracellulare* частіше викликають захворювання у пацієнтів, які не хворіють на СНІД. З цієї причини рекомендується розрізняти обидва види, особливо в контексті СНІДу. У імунокомпетентних пацієнтів легеневі захворювання частіше спостерігаються у хворих з попередніми ураженнями легень (кістозний фіброз, зниження легеневої функції), шийний лімфаденіт, спорадичний у дітей. У пацієнтів з імунодефіцитом, особливо у хворих на СНІД, найпоширенішим проявом захворювання є мікобактеріємія, пов’язана з низьким рівнем клітин CD4. MAC є переважаючим видом НТМ, викликає мікобактеріємію у ВІЛ-позитивних пацієнтів і мікобактерії, які найчастіше виділяють з інших зразків MAC в умовах ВІЛ/СНІДу. Захворювання легеневої паренхіми, спричинене MAC, рідко зустрічається серед хворих на СНІД.

Однак, легеневу або шлунково-кишкову колонізацію з MAC можна передбачити розвиток disseminated M. avium complex. У пацієнтів з кількістю CD4 < 50 клітин/мм3, 67% пацієнтів, які мали MAC у мокротинні або калі, розвинули disseminated M. avium complex протягом 1 року, хоча у деяких пацієнтів розвинулося переважно легеневе захворювання. Проте серед тих,

хто розвинув disseminated M. avium complex, лише близько третини мали попередній посів шлунково-кишкових зразків і мокротиння. Тому скринінг легеневих або шлунково-кишкових зразків не рекомендується.

На відміну від туберкульозу легень, один позитивний результат посіву мокротиння на MAC зазвичай недостатньо для діагностика захворювання легенів. Лише 2% із 114 пацієнтів з єдиним позитивним посівом на MAC зрештою показав нове порожнинне або інфільтративне захворювання на рентгенограмі грудної клітки, тоді як 98% з двома або більше культурами прогресували протягом мінімум 12 місяців спостереження. Серед 120 пацієнтів у Кореї, які мали один позитивний посів мокротиння, у 16 (13%) було діагностовано захворювання НТМ, із середнім періодом спостереження 16 місяців. Навіть серед хворих на мікобактерії виділенні патогенні НТМ не обов'язково означає прогресуюче захворювання. У Колорадо відстежували 96 пацієнтів, які мали принаймні одну позитивну культуру НТМ (70 з MAC), лише одна третина прогресувала до НТМ захворювання протягом середнього періоду спостереження 4,25 років. Однак, враховуючи повільно прогресуючий характер інфекції, ці оцінки слід враховувати недооцінку прогресування захворювання.

Оскільки самої ізоляції MAC недостатньо діагностувати пов'язані з НТМ захворювання легень, Товариство інфекційних захворювань Америки та інфекційний Інститут Американського Товариства є критеріями діагностики НТМ легень захворювання у 2007 р. Ці критерії, які вимагають синтезу комбінації клінічних, радіографічних та мікробіологічних даних, базуються на висновках експертів і ще мають бути перевірені. У пацієнтів, які мають відповідні клінічні та рентгенологічні дані висновків, потрібне для підтвердження діагнозу НТМ два позитивних посіви мокротиння або, за відсутності мокротиння, позитивний посів бронхоскопічного зразка. У спробі оцінити прогностичну цінність Товариства інфекційних захворювань Америки та інфекційний Інститут Американського Товариства діагностичних критеріїв, дослідники у Фінляндії ретроспективно переглянули результати

пацієнтів, які відповідали критеріям. 61 із 120 (51%) відповідав критеріям Американського торакальному товариству для захворювання НТМ, але не було статистичних даних. Значна різниця в середньому виживанні між тими, які відповідали критеріям захворювання та не відповідали дорівнювала 7.4 проти 5,3 років [49].

Діагностика інфекції МАС в лабораторії починається з належного збору зразків і швидкого транспортування до лабораторії. Клінічні зразки з таких нестерильних ділянок, як легені, вимагають дезактивації та концентрації. МАС більш вразливий до знезараження, ніж *M. tuberculosis*; при використанні широко застосовували метод з N-ацетил-L-цистеїном та NaOH, 33% мікобактерій в клінічних зразках гинули. У певних умовах, таких як муковісцидоз (CF), вимагається більш агресивна дезактивація через поширеність видів *Pseudomonas*, що призводить до подальшого зменшення кількості ізольованих НТМ.

Серологія. Доступність діагностичного біомаркера є необхідним для діагностики захворювання МАС. Було проведено кілька досліджень, які оцінювали імуноферментний аналіз для виявлення антитіл IgA проти МАС-специфічного глікопротеїну(GPL). Значне підвищення рівня IgM у сироватці крові, IgA та IgG вимірювали у 106 пацієнтів з МАС захворювання легень, порівняно з 11 з одноразовою позитивною культурою МАС, але без ознак захворювання, 30 пацієнтів із захворюванням легень *M. kansasii*, 77 пацієнтів хворих на туберкульоз та 126 здорових осіб [2]. Для антитіл IgA-анти-GPL чутливість і специфічність для діагностики захворювання МАС легень становили 92,5% і 95,1% відповідно. Це перевищує чутливість і специфічність IgG та IgM. Ці рівні антитіл також відображали активність захворювання, оскільки вони зменшувалися з часом у пацієнтів, які стали негативними за результатами посівів під час лікування.

В одному дослідженні було виявлено значно вищі рівні антитіл у пацієнтів з вузлово-бронхоектатичним типом захворювання МАС порівняно з тими, хто мав фіброзно-порожнинне захворювання МАС. В іншому

дослідженні не було виявлено кореляції між рівнем антитіл та типом захворювання або радіологічним ступенем захворювання у пацієнтів з MAC захворюванням легень. Подальші дослідження, проведені в Південній Кореї та на Тайвані, показали, що цей аналіз не здатний надійно розрізняти.ахворювання легень MAC від хвороби легень, спричиненої *M. abscessus*.

У цій когорті пацієнти з легеневим захворюванням, спричиненим *M. intracellulare*, мали значно вищі титри антитіл IgA, ніж пацієнти з легеневим захворюванням, спричиненим *M. avium*. Хоча ці аналізи наразі не є широко доступними, вони вселяють певний ентузіазм щодо їх потенційної доступності.

3.3 *Mycobacterium marinum*

Мікроскопія та клітинна стінка. Під мікроскопом *M. marinum* може бути важко відрізнити від *M. tuberculosis* через схожу морфологію. Це паличкоподібна бактерія (1,0-4,0 мкм на 0,2-0,6 мкм), нерухлива, і її важко забарвити звичайними методами, однак після фарбування за допомогою карболфуксину або методом Ціля-Нільсена вона виглядає як кислотостійка паличка [8].

Формування мікроскопічних ниток було описано для *M. marinum*, як класично описано з *M. tuberculosis*, і в обох видах спостерігається зв’язок між цими видами [17; 27].

Mycobacterium marinum – це нетуберкульозна мікобактерія, вперше виділена з горбків, отриманих під час розтину трупів мертвих морських риб в акваріумі у Філадельфії в 1926 році. *M. marinum* є облігатною аеробною, мезофільною, грампозитивною бактерією [14; 7].

Вид викликає у риб захворювання, схоже на туберкульоз. У людей інфікування відбувається, коли пошкоджена шкіра піддається впливу водного середовища, забрудненого *M. marinum*. Ця інфекція проявляється як вузликова гранулематозна хвороба, яка може поширюватися по лімфатичних

шляхах, подібно до споротріксної інфекції. *M. marinum* зустрічається в рослинах, ґрунті та рибі. Інфекції зазвичай обмежуються шкірою та м'якими тканинами та виникають у пацієнтів з імунодефіцитом. Нечасто повідомлялося про дисеміновані інфекції *M. marinum* у пацієнтів з ВІЛ/СНІД [13].

M. marinum – це малорухлива, неспороутворююча, грампозитивна, кислотостійка паличка. *M. marinum* – це повільно зростаючі мікобактерії, що належать до групи 1 класифікації Runyon. Це фотохромоген і виробляє жовтий пігмент під дією світла (рис 3.2). *M. marinum* найкраще росте на середовищі Левенштейна-Йенсена при 32 градусах Цельсія. На відміну від *Mycobacterium tuberculosis* (МТВ), ріст *M. marinum* пригнічується при 37 градусах С.

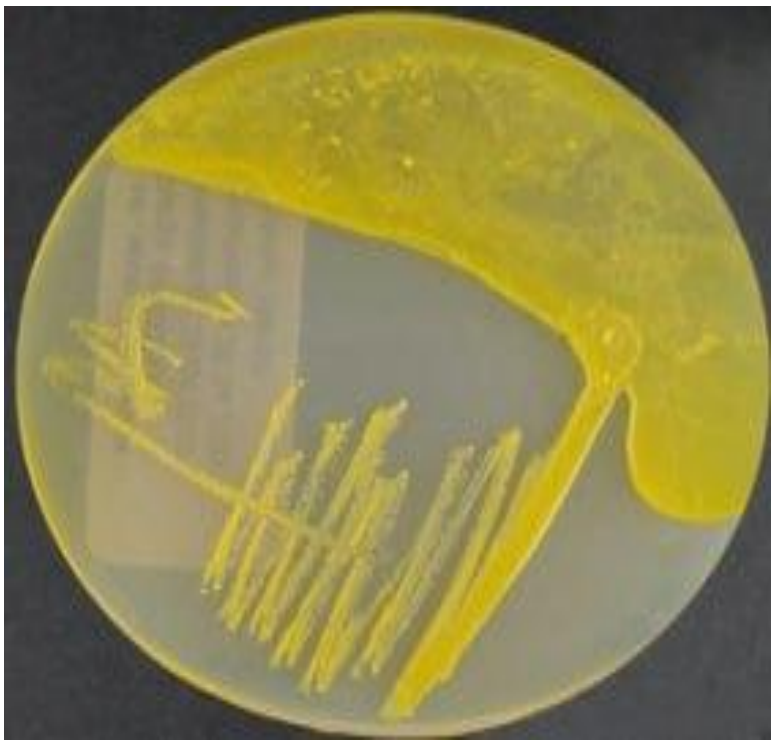

Рисунок 3.2. Пігментовані колонії *M. marinum* [19].

Філогенетично *M. marinum* дуже тісно пов'язаний з *M. ulcerans*, і обидва види тісно пов'язані з *M. tuberculosis* на основі 99,3% гомології їх послідовності 16S рРНК. Насправді *M. marinum* викликає туберкульозне

захворювання у риб і жаб. Як і МТВ, *M. marinum* може виживати в клітинах господаря і пропонується як модель для вивчення МТВ. Як і при МТВ інфекції, *M. marinum* може викликати позитивну туберкулінову пробу [9].

M. marinum має один оперон рРНК на геном, який визначає темп синтезу мРНК-білка. Геномний аналіз показує, що оперон рРНК подібний як у МТВ, так і в *M. marinum.* На відміну від МТВ, *M. marinum* швидко росте, тому причина цієї різниці невідома. У місці зараження *M. marinum* має час генерації 24 години, подібно до МТВ, але в лабораторії при 32 градусах С час генерації становить 4 години. Час генерації МТВ в лабораторії становить 24 години при вирощуванні при 37 градусах С. Для *M. marinum* не існує жодної гарної схеми антибіотикотерапії [50].

Епідеміологія. Норден і Лінелл повідомили про перший випадок зараження людини *M. marinum* у Швеції в 1951 році [34]. Мікобактерії були виділені з пошкоджень шкіри плавців, які купалися в забрудненому басейні. Хлорування для дезінфекції басейнів є звичайною справою; тому плавання більше не є фактором ризику інфікування *M. marinum.* Потенційними факторами ризику є робота на вологих полях, участь у водних видах спорту або чищення домашнього акваріума для риб [24]. Щорічна захворюваність на інфекцію *M. marinum* у США становить 0,27 випадків на 100 000 жителів [33].

Дві умови, необхідні для інфікування *M. marinum*, це пошкодження або потертість шкіри та вплив забрудненого водного середовища. Фактори ризику для ВІЛ-інфікованих подібні. Дисемінована інфекція може виникнути у пацієнтів з ослабленим імунітетом [14; 47].

Діагностика. Діагностика може бути важкою для клініциста [40], оскільки презентація часто підступна і неспецифічна, діагноз зазвичай встановлюється із запізненням, якщо не була отримана ключова історична інформація, така як вплив риби [24].

Гістопатологія. Ураження *M. marinum* схожі на інші лімфатичні та шкірні інфекції та неінфекційні захворювання шкіри. Епідеміологічна та

клінічна підозра може допомогти визначити *M. marinum* як потенційну причину цих типів уражень [35].

Диференційна діагностика. Шкірно-вузлові інфекції, зокрема грибкові та гранулематозні інфекції, повинні бути враховані в диференціальній діагностиці. До них належать: бластомікоз, кокцидіоїдомікоз, криптококоз, гістоплазмоз та інші.

Інші шкірно-лімфатичні інфекції, які можуть мати подібні прояви, включають: лейшманіоз, нокардіоз, споротрихоз.

Відбір зразків M. marinum. Зразки, що містять *M. marinum*, відбирають зі шкіри, або як зразок біопсії шкіри, або як аспірат гною. Слід уникати тампонів з багатьох причин [18; 25].

Інші зразки включають суглобову рідину, підшкірні тканини та ексудати, які часто отримують хірургічним шляхом [48; 42]. Зразки необхідно зібрати до початку хіміотерапії. Ємність повинна бути стерильною і не містити жодних фіксаторів або консервантів. Зібраний зразок слід зберігати при температурі 4°C, якщо доставка до лабораторії затримується. Оскільки інфекція *M. marinum* не є мультибактеріальною, потрібно збирати максимально можливий обсяг біоматеріалу, особливо у разі біопсії шкіри або хірургічного втручання.

Молекулярна ідентифікація. Методи молекулярної біології були успішно застосовані для ідентифікації мікобактерій. Альтернативою видової ідентифікації є молекулярні методи, пропонуючи переваги швидкості та точності. Розроблено методи на основі ПЛР, зокрема два комерційно доступні: INNOLiPA Myco v2 (Innogenetics), який базується на ампліфікації спейсера рибосомального гена (16S-23S), та генотип Mycobacteria CM/AS (Hain Lifescience), який базується на ампліфікації гена 23S рРНК [46; 45].

Обидва методи використовують ПЛР у поєднанні зі зворотною гібридизацією. Однак наразі вони не можуть відрізнити *M. marinum* від *M. ulcerans*, оскільки послідовності рРНК є подібними. Спеціальні протоколи ПЛР були описані для виявлення мікобактерій у риб [6].

Диференційна діагностика. Диференційна діагностика включає інфекції, викликані іншими НТМ, які відомі як збудники шкірних уражень (*M. chelonae, M. ulcerans, M. ulcerans subsp., shinshuense, M. haemophilum, M. fortuitum, M. tuberculosis),* споротрихоз і неінфекційні захворювання, такі як саркоїдоз, пухлини шкіри та реакції на чужорідне тіло, слід враховувати в диференційну діагностику [22], Хоча діагноз можна запідозрити клінічно, особливо при наявності відомого впливу, остаточний діагноз ґрунтується на подальшому виділенні мікобактерії, ідентифікованої як *M. marinum*. Важливу роль відіграє правильний збір зразків і контроль за температурою інкубації. Мікробіолог повинен бути обізнаний про можливість інфекції *M. marinum*, щоб вести посів при 30°С.

Таким чином, для успішного виділення та ідентифікації збудників мікобактеріозів слід відддавати перевагу традиційним фенотиповим лабораторним технологіям, які дозволяют виявляти морфологічні, культуральні та біохімічні властивості мікобактерій (табл. 3.1, 3.2). Сучасні молекулярні методи не дозволяють однозначно диференціювати умовно-патогенні нетуберкульозні мікобактерії від патогенних представників комплексу збудника туберкульозу. Так, було визначено, що *M. marinum* є філогенетично та генетично спорідненою з *M. ulcerans* та МТВ.

Таблиця 3.1

Основні фенотипові ознаки деяких видів повільноростучих мікобактерій

Ознаки	***M.avium***	*M.bovis*	*M. caprae*	*M. genavense*	*M. intracellulare*	***M. marinum***	*M. scrofulaceum*	*M. stomatepiae*	***M. tuberculosis***	***M. ulcerans***
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Ріст при 25^0C	V	-	-	+	+	+	+	+	-	W
Ріст при 45^0C	-	-	-	-	V	-	-	-	-	-
Фотохромоген-ність	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
Скотохромоген-ність	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+
Ріст на агарі MacConkey	-	-	-	-	-	-	-	-	-	НД
Напівкількісна каталаза	-	-	V t	+	-	-	+	-	-	-
Термостабильна каталаза	V	-	-	+	+	+	+	+	-	+
Нітратредуктаза	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
Уреаза	-	+	V s	+	-	-	+	-	+	-
Піразинамідаза	+	-	+	+	+	+	+	НД	+	-
Арілсульфатаза	-	-	-	-	V	+	-	+	-	-
Кисла фосфатаза	-	+	+	-	-	+	-	НД	+	V
Акумуляція ніацину	-	-	-	-	-	-	-	-	+	V

Продовження табл.3.1

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Гідроліз Твін 80	-	-	W	-	-	+	-	-	V	-
Редукція телуриту	+	+	НД	НД	+	-	+	+	+	-
Толерантність до 5% NaCl	-	-	-	-	-	V	-	-	-	-
Акумуляція заліза	-	-	-	-	-	-	-	НД	-	-

Примітка. + : 90 % або більш штамів позитивні, (+) : 80-89% штамів позитивні, d : 21 -79 % штамів позитивні, - : 90 % або більш штамів негативні, НД – дані відсутні, V – реакція варіабельна, W – реакція слабка, t – залежність від температури, s – залежність від складу середовища.

Таблиця 3.2

Основні фенотипові ознаки деяких видів швидкоростучих мікобактерій

Ознаки	*M. abscessus*	***M. fortuitum***	*M. goodii*	*M. neoaurum*	*M. peregrinum*	*M. phlei*	*M. senegalense*	*M. smegmatis*	*M. vaccae*	*M. wolinskyi*
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Ріст при 25^0C	+	+	НД	+	+	+	+	+	+	+
Ріст при 45^0C	-	-	+	-	-	+	-	+	-	+
Фотохромогенність	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
Скотохромоген-ність	-	-	V	+	-	+	-	V	-	-
Ріст на агарі MacConkey	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+

Продовження табл. 3.2

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Напівкількісна каталаза	+	+	+	НД	+	+	+	+	+	+
Термостабільна каталаза	V	+	+	НД	+	+	НД	-	+	+
Нітратредуктаза	+	+	+	+	+	+	-*	+	+	+
Уреаза	+	+	НД	+	+	+	+	+	+	НД
Піразинамідаза	+	+	НД	+	+	+	НД	+	+	НД
Арілсульфатаза	+	+	-	НД	+	-	+	-	V	-
Кисла фосфатаза	+	+	НД	-	+	+	НД	-	-	НД
Акумуляція ніацину	-	-	НД	-	-	НД	-	-	-	НД
Гідроліз Твін 80	-	-	НД	+	+	+	НД	+	+	НД
Редукція телуриту	+	+	НД	НД	+	+	НД	+	+	НД
Толерантність до 5% NaCl	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Акумуляція заліза	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+

Примітка. + : результат позитивний, - : результат негативний, НД – дані відсутні, V – реакція варіабельна.

ВИСНОВКИ

1. На сьогодні мікобактеріози, збудниками яких є біля 60 видів нетуберкульозних мікобактерій, є серйозною проблемою для лікарів-клініцистів і фахівців з лабораторної діагностики. Значна різноманітність збудників, складнощі з проведенням преаналітичного етапу, неоднозначність методів мікроскопічного дослідження і культивування, впровадження в практику принципово нових методів молекулярної ідентифікації ускладнюють розробку стандартизованих лабораторних технологій діагностики мікобактеріозів.

2. Особливості збору біоматеріалу та підготовки до лабораторних досліджень на мікобактеріоз полягають у дотриманні заходів безпеки, попередженні потенційної контамінації зразків видами, присутніми у об'єктах навколишнього середовища, недопущенні використання консервантів, терміновій доставці з холодоагентами. При інфекціях дихальних шляхів корисним є проведення повторного відбору матеріалу.

3. Лабораторні технології діагностики мікобактеріозів є комплексними, поєднують найсучасніші молекулярно-генетичні методи типування збудників, методи мікроскопії мазків, забарвлених флюоресцентними барвниками та за Цілем-Нільсеном, культивування культур на рідких та щільних живильних середовищах за різних режимів інкубації.

4. Аналіз отриманих даних щодо мікобактеріозів показав, що збудники *Mycobacterium fortuitum, Mycobacterium avium* та *Mycobacterium marinum* є клінічно важливими. Традиційні фенотипові методи найбільш придатні для їх успішної ідентифікації, що базується на визначенні вимог до температури інкубації культур, швидкості росту, толерантності до 5% NaCl, здатності утворювати пігмент, редукувати певні субстрати. Існуючі молекулярні методи не можуть слугувати альтернативою при ідентифікації генетично споріднених видів.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ЛІТЕРАТУРИ

1. Інструкція з бактеріологічної діагностики туберкульозної інфекції / Національний інститут фтизіатрії та пульмонології ім. Ф. Г. Яновського. Київ. URL: http://www.ifp.kiev.ua/doc/staff/dodat_45_060202.htm (дата звернення: 30.10.2024).

2. Мальцев Д. В. Клініка, діагностика, лікування первинного ізольованого дефіциту IgM у людей. *Клінічна імунологія. Алергологія. Інфектологія.* 2019. № 8(121). С. 21–26.

3. Мікобактеріози. *Compendium – довідник лікарських препаратів*. URL: https://compendium.com.ua/uk/handbooks-uk/nozologia-dovidnyk/mikobakteriozi/ (дата звернення: 30.10.2024).

4. Питання діагностики та лікування нетуберкульозних мікобактеріозів / О. С. Шевченко та ін. *Східноєвропейський журнал внутрішньої та сімейної медицини*. 2019. № 1. С. 67–70.

5. Роль нетурбекульозних мікобактерій в захворюванні легень в сучасних умовах / О. А. Журило та ін. *Український пульмонологічний журнал*. 2011. № 4. С. 37–40.

6. A sensitive FRET probe assay for the selective detection of Mycobacterium marinum in fish / F. Salati et al. *Journal of Fish Diseases*. 2010. Vol. 33(1). P. 47–56.

7. Ackleh A. S., Delcambre M. L., Sutton K. L. A second-order high-resolution finite difference scheme for a size-structured model for the spread of Mycobacterium marinum. *Journal of Biological Dynamics*. 2015. Vol. 9(1). P. 156–187.

8. Cernoch P., Enns R., Saubolle M. Laboratory diagnosis of the mycobacterioses. *American Society for Microbiology*. Washington, 1994. P. 21–26.

9. Characterization of Mycobacterium marinum infections in zebrafish

wounds and sinus tracts / L. Chen et al. *Wound Repair Regen.* 2017. Vol. 25(3). P. 536–540.

10. Complete genome sequence of Mycobacterium fortuitum subsp. fortuitum type strain DSM46621 / Y. S. Ho et al. *J. Bacteriol*. 2012. Vol. 194(22). P. 6337–63338.

11. Diagnosis, treatment, and prevention of diseases caused by nontuberculous mycobacteria / D. E. Griffith et al. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine.* 2007. Vol. 36. P. 368–377.

12. Disseminated infection by Mycobacterium genavense in an HIV-1 infected

patient / T. R. Nunes et al. 2020. URL: https://sciencedirect.com/science/article/pii/S2214250920302341 (Date of access: 30.10.2024).

13. Disseminated Mycobacterium marinum infection and bacteremia in a child with severe combined immunodeficiency / L. J. Parent et al. *Clinical Infectious Diseases*. 1995. Vol. 21(5). P. 1325–1327.

14. Disseminated Mycobacterium marinum infection with extensive cutaneous eruption and bacteremia in an immunocompromised patient / M. Streit et al. *European journal of Dermatology*. 2006. Vol. 16(1). P. 79–83.

15. Disseminated Mycobacterium marinum infection with extensive cutaneous eruption and bacteremia in an immunocompromised patient / M. Streit et al. *European journal of Dermatology*. 2006. Vol. 16(1). P. 79–83.

16. Epidemiology of nontuberculous mycobacterial lung disease and tuberculosis / J. Adjemian et al. *Emerging infectious diseases.* 2017. Vol. 23(3). P. 439–447.

17. Glickman M. S. Cording, cord factors, and trehalose dimycolate. *The mycobacterial cell envelope.* 2008. Vol. 34. P. 63–73.

18. Gluckman S. J. Mycobacterium marinum. *Clinics in Dermatology*. 1995. Vol. 13(3). P. 273–276.

19. Gupta R. S., Stanford J. A., Gunthorpe D. Phylogenomics and Comparative Genomic Studies Robustly Support Division of the Genus

Mycobacterium into an Emended Genus Mycobacterium and Four Novel Genera. *Frontiers in microbiology*. 2018. Vol. 9. P. 67.

20. Haemophilus influenzae. URL: https://handwiki.org/wiki/Medicine:Haemophilus_influenzae (Date of access: 30.10.2024).

21. High rates of Mycobacterium fortuitum isolation in respiratory samples from Iranian patients with suspected tuberculosis: is it clinically important? / M. Irandoost et al. *Journal of Medical Microbiology*. 2018. Vol. 67(9). P. 1243–1248.

22. Intractable ulcer caused by Mycobacterium shinshuense: successful identification of mycobacterium strain by 16S ribosomal RNA 3′-end sequencing / T. Funakoshi et al. *Clinical and Experimental Dermatology*. 2009. Vol. 34(8). P. e712-e715.

23. Jarzembowski J. A., Young M. B. Nontuberculous mycobacterial infections. *Archives of pathology laboratory medicin.* 2008. Vol. 132(8). P. 1333–1341.

24. Jernigan J. A., Farr B. M. Incubation period and sources of exposure for cutaneous Mycobacterium marinum infection: case report and review of the literature. *Clinical infectious diseases.* 2000. Vol. 31(2). P. 439–443.

25. Johnson M. G., Stout J. E. Twenty-eight cases of Mycobacterium marinum infection: retrospective case series and literature review. *Infection*. 2015. Vol. 43. P. 655–662.

26. Medical tourism and postoperative infections: a systematic literature review of causative organisms and empiric treatment / P. Padilla et al. *Plastic and reconstructive surgery.* 2018. Vol. 142(6). P. 1644–1651.

27. Microscopic cords, a virulence-related characteristic of Mycobacterium tuberculosis, are also present in nonpathogenic mycobacteria / M. Roldán et al. *Journal of bacteriology*. 2010. Vol. 192(7). P. 1751–1760.

28. Mycobacterial diseases in immunocompromised patients / K. L. Winthrop et al. *New England Journal of Medicine.* 2002. Vol. 46. P. 123–127.

29. Mycobacterium avium complex. URL:

https://uk.wikipedia.org/wiki/Mycobacterium_avium_complex (Date of access: 30.10.2024).

30. Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis. URL: https://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Mycobacterium_avium_subspecies_paratuberculosis (Date of access: 30.10.2024).

31. Mycobacterium fortuitum abortion in a sow / A. L. Cole et al. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation.* 2022. Vol. 34(1). P. 116–120.

32. Mycobacterium fortuitum as a cause of acute CNS infection in an immune-competent girl undergoing repeated VP shunt surgeries / A. B. Xess et al. *BMJ Case Reports*. 2019. Vol. 12(4). P. e226900.

33. Mycobacterium marinum / A. Aubry et al. *Microbiol Spectr*. 2017. Vol. 5(2). P. 121–126.

34. Mycobacterium marinum infection in fish and man: epidemiology, pathophysiology and management; a review / E. Hashish et al. *Veterinary Quarterly*. 2018. Vol. 38(1). P. 35–46.

35. Mycobacterium marinum: A brief update for clinical purposes / D. Canetti et al. *European Journal of Internal Medicine*. 2022. Vol. 105. P. 15–19.

36. Mycobacterium tuberculosis infection and multidrug resistance / A. A. Velayati et al. *PloS One.* 2014. Vol. 29. P. 118–123.

37. Mycobacterium avium complex. URL: https://uk.wikipedia.org/wiki/Mycobacterium_avium_complex (Date of access: 30.10.2024).

38. Mycobacterium tuberculosis. URL: https://uk.wikipedia.org/wiki/Mycobacterium_tuberculosis (Date of access: 30.10.2024).

39. Natural history of Mycobacterium fortuitum pulmonary infection presenting with migratory infiltrates: a case report with microbiological analysis / S. Okamori et al. *BMC infectious diseases*. 2018. Vol. 18(1). P. 1–6.

40. Non-tuberculous mycobacterial tenosynovitis: a review / T. Zenone et al. *Scandinavian journal of infectious diseases*. 1999. Vol. 31(3). P. 221–228.

41. Official statement of the American Thoracic Society and Infectious Diseases Society of America: Diagnosis, treatment, and prevention of diseases

caused by nontuberculous mycobacteria / D. E. Griffith et al. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine.* 2006. Vol. 44. P. 372–373.

42. Osteomyelitis infection of Mycobacterium marinum: a case report and literature review / H. H. Nguyen et al. *Case Reports in Infectious Diseases*. 2015. Vol. 2015(1). P. 905920.

43. Outbreak of tattoo-associated nontuberculous mycobacterial skin infections / I. Griffin et al. *Clinical Infectious Diseases*. 2019. Vol. 69(6). P. 949–955.

44. Practical handbook for the phenotypic and genotypic identification of mycobacteria / S. Leão et al. *Fundamental aspects of mycobacterial identification.* 2004. Vol. 46. P. 15–75.

45. Rapid Identification of Mycobacteria to the Species Level Using INNO-LiPA Mycobacteria, a Reverse Hybridization Assay / E. Tortoli et al. *Journal of Clinical Microbiology.* 2001. Vol. 27. P. 4477–4482.

46. Russo C., Tortoli E., Menichella D. Evaluation of the new GenoType Mycobacterium assay for identification of mycobacterial species. *Journal of clinical.* 2006. Vol. 44(2). P. 334–339.

47. Seneviratne K., Herieka E. A rifampicin-resistant Mycobacterium marinum infection in a newly diagnosed HIV-1 individual. *Int J STD AIDS*. 2013. Vol. 24(1). P. 75–77.

48. Septic arthritis caused by Mycobacterium marinum / J. Riera et al. *Archives of orthopaedic and trauma surgery*. 2016. Vol. 136. P. 131–134.

49. Tatar D., Blomberg A., Grönberg A. Evaluation of the diagnostic criteria for non-tuberculous mycobacterial lung disease: A retrospective study of patients in Finland. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases.* 2012. Vol. 44(12). P. 931–938.

50. Zebrafish-Mycobacterium marinum model for mycobacterial pathogenesis / M. G. Prouty et al. *FEMS Microbiol Lett.* 2003. Vol. 225(2). P. 177–182.

ДОДАТКИ

ДОДАТОК А

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
КАФЕДРА МІКРОБІОЛОГІЇ, ВІРУСОЛОГІЇ ТА ІМУНОЛОГІЇ

MINISTRY OF HEALTH OF UKRAINE
NATIONAL UNIVERSITY OF PHARMACY
DEPARTMENT OF MICROBIOLOGY, VIROLOGY AND IMMUNOLOGY

«СУЧАСНА АНТИМІКРОБНА ТЕРАПІЯ: ПРОБЛЕМИ ТА ШЛЯХИ ВДОСКОНАЛЕННЯ»

MODERN ANTIMICROBIAL THERAPY: PROBLEMS AND WAYS OF IMPROVEMENT

Матеріали
II Науково-практичної дистанційної конференції,
22 листопада 2024 року, Харків

Materials of the 2 nd Scientific and Practical Remote Conference,
Kharkiv, November 22, 2024

ХАРКІВ
KHARKIV

2024

2

Продовження дод. А

AERUGINOSA
Мотика О. І. Мажак К. Д., Звір Г. І., Капустяк К. Є. 51

АНТИБАКТЕРІАЛЬНА ДІЯ КОМБІНАЦІЙ КОРІННЯ ВЕРБИ БІЛОЇ З ГУСТИМ ЕКСТРАКТОМ ПЛОДІВ БУЗИНИ
Осолодченко Т. П. , Пономаренко С. В., Комісаренко М. А., Маслов О.Ю. 53

ЗАГАЛЬНІ ВІДОМОСТІ ЩОДО МІКОБАКТЕРІОЗІВ
Понікарова А.В., Шаповалова О.В. 55

ЗАСТОСУВАННЯ СИНТЕТИЧНИХ ФРАГМЕНТІВ У ВІРУСАХ Сенюк І.В., Кравченко В.М., Галузінська Л.В. 58

АВТОМАТИЗАЦІЯ ПРОЦЕСІВ ЛАБОРАТОРНОЇ ДІАГНОСТИКИ – ЗАПОРУКА ЯКІСНОЇ ДІАГНОСТИКИ
Чикал І.О, Філімонова Н.І. 60

ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ ЕКСТРАКТІВ ЛАВАНДИ ВУЗЬКОЛИСТОЇ НА ЗДАТНІСТЬ РУЙНУВАТИ БІОПЛІВКИ МІКРООРГАНІЗМІВ АБО ПРОТИДІЯТИ ЇХ УТВОРЕННЮ В УМОВАХ IN VITRO
Богатирьова О.О., Набока О.І., Філімонова Н.І., Джораєва С.К. 62

ЗБУДНИКИ ЗОВНІШНЬОГО ДИФУЗНОГО ОТИТУ: СПЕКТР ТА ЧУТЛИВІСТЬ ДО АНТИБІОТИКІВ
Покришко О.В., Красій Н.І. 64

VIRULENCE FACTORS AND ANTIBIOTIC RESISTANCE OF REPRESENTATIVES OF THE GENUS ENTEROCOCCUS
Teslenko D., Tishchenko I., Filimonova N., Dubinina N., Peretyatko O. 66

Продовження дод. А

ЗАГАЛЬНІ ВІДОМОСТІ ЩОДО МІКОБАКТЕРІОЗІВ

Понікарова А.В., Шаповалова О.В.
Національний фармацевтичний університет, м. Харків, Україна
ponik18ponik@gmail.com

Вступ. Мікобактеріози – це група інфекційних хвороб, що викликаються атиповими мікобактеріями. Ці мікроорганізми, відомі також як нетуберкульозні мікобактерії, виявляються повсюдно у навколишньому середовищі, особливо широко представлені у ґрунті та водних ресурсах. Інфекції, спричинені атиповими мікобактеріями, не передаються від людини до людини або від тварин до людини.

Матеріали та методи. У процесі дослідження було розглянуто наукову літературу та статті з електронних пошукових систем Medline та Google Scholar. Було задіяно наступні методи дослідження: пошук, відбір, опрацювання та аналіз знайдених джерел.

Результати та обговорення. Особливо вразливими до мікобактеріозів є особи з імунодефіцитними станами, такими як ВІЛ-інфекція, а також ті, хто переніс захворювання, пов'язані з порушеннями легеневої функції, включаючи туберкульоз, пневмоконіоз, муковісцидоз, бронхоектатичну хворобу та хронічне обструктивне захворювання легень (ХОЗЛ). Високий ризик розвитку мікобактеріозів у пацієнтів, які отримують терапію інгібіторами фактора некрозу пухлин.

Інфікування може бути безсимптомним або з клінічними симптомами. Патологічні зміни, спричинені tuberculous mycobacteria найчастіше спостерігаються у легенях, лімфатичних вузлах і на шкірі, але захворювання також може мати дисемінований і поліорганний перебіг (дуже рідко у пацієнтів не інфікованих ВІЛ). У пацієнтів без суттєвих порушень імунітету легеневі мікобактеріози мають 4 клінічні форми:

1) схожа на туберкульоз, з інфільтрацією та тонкостінними кавернами у верхніх частках легень, зазвичай у чоловіків похилого віку, з ХОЗЛ, курців з багаторічним стажем або пацієнтів з пневмоконіозом і бронхоектазами (найчастіше спричинена видами *M. kansasii, M. avium, M. xenopi, M. malmoense*),

2) з множинними дрібними вузликами і бронхоектазами, візуалізованими на комп'ютерній томографії високої роздільної здатності, в основному у середній та язичковій частці, діагностується у жінок старшого віку, з деформацією грудної клітки (сколіоз або лійкоподібна грудна клітка), які не мають інших захворювань (синдром леді Уіндермін), зазвичай спричинена видами *Mycobacterium avium* complex,

3) з клінічними симптомами і змінами при візуалізуючому обстеженні, характерними для альвеоліту, зазвичай спричинена експозицією представників *Mycobacterium avium* complex,

4) форма єдиного вузлика або кількох.

Діагноз мікобактеріозів реєструється після виділення та ідентифікації збудника з харкотиння, крові, фекалій, осередків уражень. Мікробіологічний метод є провідним у діагностиці. Виділення збудника зі стерильної тканини або біологічної рідини дає змогу навіть за одноразового виділення діагностувати мікобактеріоз. Метод гемокультури має 90-95% чутливість у разі використання середовища BACTEC12B або 13A, але на це потрібно 1-2 тиж.

Використання методу ПЛР дає можливість протягом декількох годин диференціювати ДНК різних видів мікобактерій.

Продовження дод. А

Патогенетичне лікування має на увазі призначення бронходилататорів (всередину, інгаляції, небулайзерна терапія), мукоактивних, імунотропних препаратів. При незадовільній дренажній функції бронхіального дерева показано проведення санаційних бронхоскопій.

Головним є етіотропне лікування. Препарати призначають тривалими курсами, одночасно по декілька препаратів. Протитуберкульозні препарати ділять на 2 групи:

- першого ряду – похідні ізонікотинової кислоти, стрептоміцин, рифампіцин;
- другого ряду (альтернативні) – циклосерин, канаміцин, етіонамід тощо.

Новий препарат для перорального застосування бедаквілін, який виявляє активність in vitro проти видів *M avium* complex, *M abscessus* і *M ulcerans*, розглядається альтернативним засобом для лікування легеневих проявів мікобактеріозів.

Для зменшення запального процесу можуть бути показані нестероїдні протизапальні препарати, глюкокортикоїди, вітаміни, антиагреганти, антиоксиданти. При неможливості радикальної санації дихальних шляхів, наявності стійких морфологічних змін у легенях порушується питання про хірургічні методи лікування мікобактеріозу. Обсяг резекції легень може бути варіабельним: від клиноподібного висічення, сегмент-і лобектомії до пневмонектомії та плевропневмонектомії. Обов'язкове проведення доопераційної та післяопераційної протимікробної хіміотерапії. Після завершення лікування рекомендовано мікробіологічний та рентгенологічний контроль протягом року.

Для попередження розвитку захворювання слід підвищувати імунний захист, раціонально харчуватися, відмовитися від шкідливих звичок, займатися спортом, дотримуватись вимог особистої гігієни та правил техніки безпеки на виробництві.

Висновки. У клініці внутрішніх та інфекційних хвороб все частіше діагностуються різні варіанти мікобактеріозів, що свідчить про збільшення ролі атипових мікобактерій у формуванні патології респіраторної системи в людини. Вибір біоматеріалу, що підлягає тестуванню необхідно робити у відповідності з клінічними даними. Найчастіше це мокротиння, але пошук збудника може проводитися і в сечі, ліквор, зразках тканин та інших матеріалах. Діагноз мікобактеріозів встановлюють після виділення збудника з матеріалу. За

допомогою методу ПЛР можна протягом кількох годин диференціювати ДНК різних мікобактерій. У зв’язку із можливим розвитком патологічного процесу в печінці та кістковому мозку мікобактерії можна виявити під час дослідження пунктатів цих органів.

Продовження дод. А

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
КАФЕДРА КЛІНІЧНОЇ ЛАБОРАТОРНОЇ ДІАГНОСТИКИ,
МІКРОБІОЛОГІЇ ТА БІОЛОГІЧНОЇ ХІМІЇ

213

Сертифікат

Цим засвідчується, що

Понікарова А.В.

брав(ла) участь у II Науково-практичній дистанційній конференції

"СУЧАСНА АНТИМІКРОБНА ТЕРАПІЯ: ПРОБЛЕМИ ТА ШЛЯХИ ВДОСКОНАЛЕННЯ"

22 листопада 2024 р. м. Харків

проректор з науково-педагогічної роботи,
(інноваційної та науково-дослідної) НФаУ
доктор фарм. наук, професор, ***І.М. Владимирова***

професор каф. клінічної
лабораторної діагностики, мікробіології
та біологічної хімії,
доктор мед. наук, професор ***Н.І. Філімонова***

Конференція зареєстрована у ДУ «Український інститут науково-технічної експертизи та інформації», посвідчення № 557 від 19 грудня 2022 року