

© ЕГОРОВА А. Р., МИХЕЙ Т. Г., КОТИКОВ А. Р.

УДК 616-091.5:579.873.21:661.727.1

DOI: 10.20333/2500136-2020-1-73-77

Жизнеспособность микобактерий туберкулеза в аутопсийном материале, фиксированном в растворе формальдегида

А. Р. Егорова¹, Т. Г. Михей², А. Р. Котиков¹¹Красноярское краевое патологоанатомическое бюро, Красноярск 660022, Российская Федерация²Красноярский краевой противотуберкулезный диспансер, Красноярск 660042, Российская Федерация

Цель исследования. Оценка сохранения жизнеспособности микобактерий во фрагментах легких, фиксированных в 10 % водном растворе формальдегида.

Материал и методы. Фрагменты легких умерших с очагами туберкулеза были фиксированы в 10 % формалине с последующим проведением бактериологического исследования.

Результаты. Рост микобактерий был выявлен в двух из 218 фрагментов легких. Один фрагмент легкого имел размеры 1.0x1.0x1.0 см, другой 2.0x2.0x2.0 см. В остальных 216 фрагментах роста микобактерий обнаружено не было. На этом основании был сделан вывод о низком риске заражения врачей-патологоанатомов и лабораторных работников при работе с материалом, взятым от туберкулезных больных и фиксированном в формалине.

Заключение. Представленные рекомендации не исключают использование средств персональной защиты во время работы с материалом, забранным от инфицированных туберкулезом. Выживаемость микобактерий в материале, фиксированном в формалине возможна лишь в единичных случаях.

Ключевые слова: аутопсийный материал, микобактерии туберкулеза, формалин, риск заражения туберкулезом.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Для цитирования: Егорова АР, Михей ТГ, Котиков АР. Жизнеспособность микобактерий туберкулеза в аутопсийном материале, фиксированном в растворе формальдегида. *Сибирское медицинское обозрение.* 2020;(1):73-77. DOI: 10.20333/2500136-2020-1-73-77

Viability of tuberculosis mycobacterium in autopsy material preserved in formaldehyde solution

A. R. Egorova¹, T. G. Mihey², A. R. Kotikov¹¹Krasnoyarsk state pathology bureau, Krasnoyarsk 660022, Russian Federation²Krasnoyarsk state TB dispensary, Krasnoyarsk 660042, Russian Federation

The aim of the research. Assessment of conserving viability of mycobacteria in lung fragments preserved in a 10% aqueous solution of formaldehyde.

Material and methods. Lungs fragments of the dead people with tuberculosis foci were recorded in 10% formalin, followed by bacteriological studies.

Results. Mycobacterium growth was detected in two from 218 lung fragments. One lung fragment was 1.0x1.0x1.0 cm in size, while the other was 2.0x2.0x2.0 cm. In the remaining 216 fragments mycobacteria growth was not detected. On this basis, it was concluded that there is a low risk for pathologists and laboratory workers to be infected when working with material taken from tuberculosis patients and preserved in formalin.

Conclusion. The given recommendations do not exclude the use of personal protective equipment while working with material collected from those infected with tuberculosis. The survival of mycobacteria in the material preserved in formalin is possible only in single cases.

Key words: autopsy material, tuberculosis mycobacteria, formalin, risk of tuberculosis infection.

Conflict of interest. The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest associated with the publication of this article.

Citation: Egorova AR, Mihey TG, Kotikov AR. Viability of tuberculosis mycobacterium in autopsy material preserved in formaldehyde solution. *Siberian Medical Review.* 2020;(1):73-77. DOI: 10.20333/2500136-2020-1-73-77

Введение

Не смотря на снижение показателей заболеваемости и смертности от туберкулеза за последние годы, их уровень остается достаточно высоким [1, 2]. Ощутимое негативное влияние на ситуацию с туберкулезом в России оказывает растущее число ВИЧ-инфицированных [3]. В этой ситуации, несо-

мненно, высокому риску заражения туберкулезом подвергаются работники системы здравоохранения, в сфере своих профессиональных обязанностей, контактирующие с биоматериалом от больных туберкулезом, а также работники, контактирующие с аутопсийным материалом [4, 5, 6, 7]. В качестве фиксирующей жидкости для операционного и ау-

топсийного материала широко используется 10 % водный раствор формальдегида [8, 9]. Общепринято считать, что формалин губительно действует на микобактерии туберкулеза, и соответственно, риск заражения туберкулезом при контакте с операционным или аутопсийным материалом, фиксированном в формалине крайне низок [4]. Целью настоящего исследования явилась оценка сохранения жизнеспособности микобактерий во фрагментах легких, фиксированных в 10 % водном растворе формальдегида.

Материал и методы

Для исследования в работу брались фрагменты легких с туберкулезными очагами от умерших, с прижизненно диагностированным туберкулезом легких (МБТ+): диссеминированная форма, и фиброзно-кавернозная форма с очагами отсева в обоих легких. Работа с фрагментами легких проводилась в бактериологической лаборатории.

Всего набраны образцы органов от 24 умерших, с прижизненно установленным диагнозом «диссеминированный туберкулез» и «фиброзно-кавернозный туберкулез в стадии инфильтрации и обсеменения». Фрагменты легких забирались в объеме, который соответствовал рекомендациям для проведения обязательного гистологического исследования. Дальнейшее исследование фрагментов легких проводилось без использования паспортных данных умершего. Таким образом, забор и использование исследуемого биоматериала произведены в соответствии со статьей 16 федерального закона «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации», международными нормами по защите прав и достоинства человека, а также общепризнанными нормами и принципами биоэтики.

Из числа 24 умерших, у шести была прижизненно установлена ВИЧ-инфекция. Всего было забрано 218 образцов легких. Было решено оценивать рост микобактерий в образцах легких различных размеров, на этом основании сформированы 4 группы относительно размеров фрагментов легких: 1,0x1,0x1,0 см (1 см³), 1,5x1,5x1,5 см (3,4 см³), 2,0x2,0x2,0 см (8 см³), 2,5x2,5x2,5 см (15,6 см³). Количественное распределение 218 фрагментов легких в представленной градации имело следующий характер: 56 фрагментов объемом 1 см³, 56 фрагментов

объемом 3,4 см³, 56 фрагментов объемом 8 см³ и 50 фрагментов объемом 15,6 см³.

В бактериологической лаборатории, в определенный временной интервал (через 24 часа, 48 часов, 72 часа и 96 часов от момента фиксации), фрагменты образцов легких определенных размеров измельчали ножницами, затем растирали в ступке с 5-10 мл изотонического раствора (в зависимости от размера пробы). Полученная масса отстаивалась 1-3 минуты, надосадочную жидкость центрифугировали 15 минут при скорости 3000 оборотов в минуту. Впоследствии, осадок толщиной 0,2 мл засеивали на 2 плотные питательные среды: «Левенштейн-Йенсена» и «Финн II». Каждую питательную среду выдерживали в течение 90 дней. По истечении указанного срока, отсутствие роста колоний микобактерий в образцах тканей считается достоверным признаком их гибели [8, 9]. Из оставшейся части осадка фрагментов легких производили мазок для люминесцентной микроскопии (окраска аурамино и родамином). Во всех пробах при микроскопии были обнаружены кислотоустойчивые микобактерии (КУМ). Все манипуляции с материалом производили в ламинарном шкафу 2 класса защиты, использовали стерильную посуду. Дополнительную деконтаминацию (обработка материала веществами, уничтожающими сопутствующую туберкулезу микрофлору) проб не проводили.

Через 24 часа (1 сутки фиксации в формалине) взяты в работу 19 фрагментов объемом 1 см³; 18 фрагментов объемом 3,4 см³; 18 фрагментов объемом 8 см³; 16 фрагментов объемом 15,6 см³.

Через 48 часов (2 суток фиксации в формалине) взяты в работу 18 фрагментов объемом 1 см³, 19 фрагментов объемом 3,4 см³; 18 фрагментов объемом 8 см³; 16 фрагментов объемом 15,6 см³.

Через 72 часа (3 суток фиксации в формалине) взяты в работу 11 фрагментов объемом 1 см³; 11 фрагментов объемом 3,4 см³; 12 фрагментов объемом 8 см³; 10 фрагментов, объемом 15,6 см³.

Через 96 часов (4 суток фиксации в формалине) взяты в работу 8 фрагментов объемом 1 см³; 8 фрагментов объемом 3,4 см³; 8 фрагментов объемом 8 см³; 8 фрагментов объемом 15,6 см³ (рис.).

Статистический анализ проводился при помощи свободной программной среды «R», оценивался ха-

раектер распределения дихотомической переменной при помощи критерия χ^2 .

Результаты и обсуждение

Из всех посевов от взятых 218 образцов легких, рост микобактерий был выявлен всего в двух фрагментах (0,9 %): из фрагмента объемом 1 см³, который находился в 10 % растворе формалина на протяжении 24 часов; из фрагмента, объемом 8 см³, который находился в 10 % растворе формалина на протяжении 72 часов.

В остальных 216 (99,1 %) фрагментах образцов легких роста микобактерий на питательных средах не выявлено, на основании чего можно сделать выводы о низком риске заражаемости врачей-патологоанатомов и лаборантов при работе с аутопсийным материалом, который был забран у умерших от туберкулеза легких объемом не более 15,6 см³ с минимальным 24 часовым нахождением образцов тканей в 10 % растворе формалина.

Врачи-патологоанатомы, осуществляющие аутопсийное исследование умерших от туберкулеза, вне всякого сомнения, подвержены высокому риску инфицирования [4, 5]. Важным этапом патологоанатомического исследования, является вырез-

ка аутопсийного материала с целью дальнейшей микроскопической оценки изъятых фрагментов. Согласно результатам представленного исследования, риск заражения туберкулезом при вырезке аутопсийного материала, фиксированного в формалине на протяжении 1-4 суток, находится на низком уровне. Данное заключение сделано на основании того, что из 48 образцов легких, инфицированных туберкулезом, которые находились в 10 % растворе формалина в указанном временном промежутке, признаки жизнеспособности микобактерий были выявлены лишь в двух, то есть в 0,9 % случаев. В 8 фрагментах легких, которые находились в 10 % растворе формалина на протяжении 4 суток, признаков жизнеспособности микобактерий не выявлено, однако относительно небольшая выборка, представленная в настоящем исследовании, не позволяет сделать достоверного заключения о том, что фиксация в 10 % растворе формалина на протяжении 4 суток и более, полностью исключает риск заражения туберкулезом. Подобного рода исследования, описанные в литературе, показывали вариабельную жизнеспособность микобактерий в аутопсийном материале,

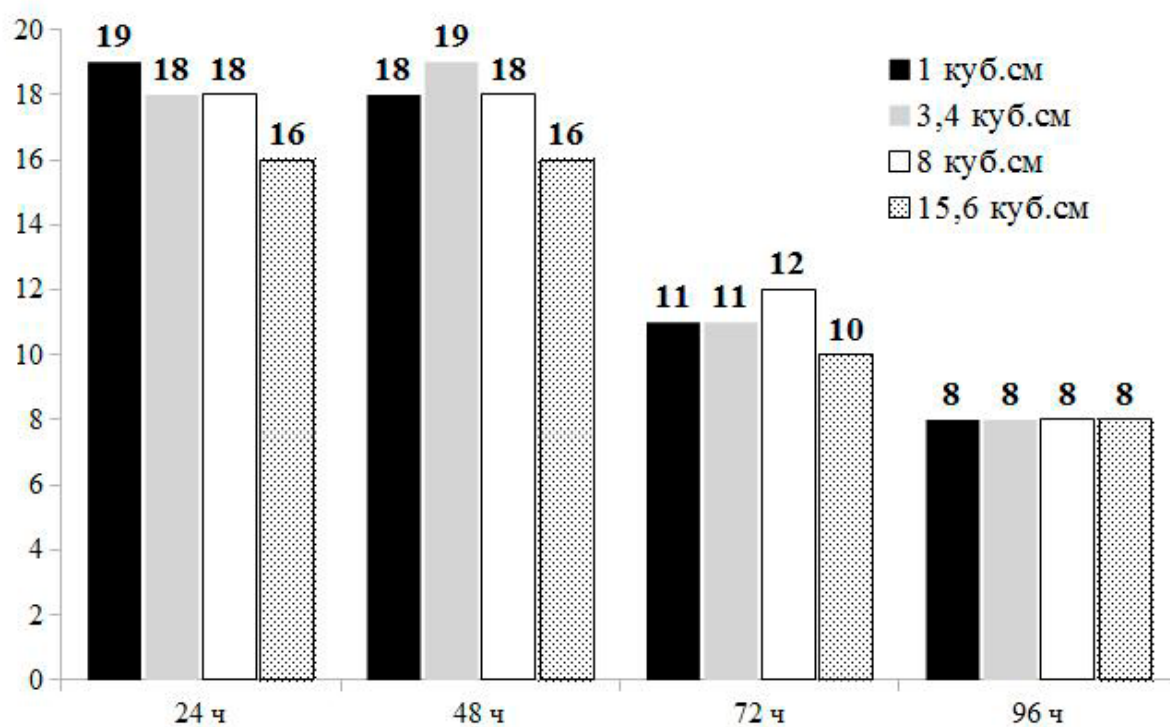


Рисунок. Распределение количества образцов легких в зависимости от размеров и времени фиксации в формалине.

Figure. Distribution of lung samples based on their size and formalin preservation.

фиксированном в формалине [5, 10, 11]. По данным одного из исследований [10], выживаемость микобактерий в аутопсийном материале составляла 16,5 % (138 случаев). Этими же авторами, в более раннем схожем исследовании [11], отмечено отсутствие корреляции между жизнеспособностью микобактерий и временем пребывания аутопсийного материала в формалине. По данным другого схожего исследования [6], ни в одном из пяти фрагментов легких, фиксированных в формалине из архивного материала, не обнаружено роста микобактерий. Такого рода вариабельность, возможно, объясняется различной степенью устойчивости тех или иных популяций микобактерий к формалину. Также следует отметить отсутствие значимого влияния ($p > 0.1$) на выживаемость микобактерий в формалине такого фактора, как размер фрагментов органов в диапазоне от 1 см³ до 15,6 см³.

Выводы

Суммируя результаты настоящего исследования и имеющиеся научные данные относительно рассматриваемой проблемы, можно заключить об очевидном губительном влиянии 10 % раствора формалина на кислотоустойчивые микобактерии в тканях организма, что не может полностью нивелировать риск заражения туберкулезом при контакте с инфицированным биоматериалом, фиксированным в формалине. Характер распределения количества погибших и выживших микобактерий в исследованных фрагментах легких в разных группах не имел значимых различий ($P > 0.1$). На сегодняшний день нет четкой ясности, относительно значимости времени формалиновой фиксации биоматериала, пораженного туберкулезом, однако, оставляет перспективу для дальнейших исследований в этой области.

Литература/ References

1. Лаврова ДИ. Туберкулез в России: заболеваемость, инвалидность, смертность. *Успехи современной науки и образования*. 2016;4(8): 69-71. [Lavrova DI. Tuberculosis in Russia, morbidity, disability, mortality. *Success of Modern Science and Education*. 2016;4(8): 69-71. (In Russian)]

2. Найговзина НБ, Филатов ВБ, Ерохин ВВ, Пунга ВВ. Туберкулез в Российской Федерации. *Эпиде-*

миология и инфекционные болезни. 2009;(3):4-11. [Naigovzina NB, Filatov VB, Yerokhin VV, Punga VV. Tuberculosis in the Russian Federation. *Epidemiology and Infectious Diseases*. 2009;(3): 4-11. (In Russian)]

3. Васильева ИА, Белиловский ЕМ, Борисов СЕ, Стерликов СА, Синицын МВ. Туберкулез, сочетанный с ВИЧ-инфекцией, в странах мира и в Российской Федерации. *Туберкулез и болезни легких*. 2017;95(9):8-18. [Vasilyeva IA, Belilovsky EM, Borisov SE, Sterlikov SA, Sinitsyn MV. Tuberculosis with concurrent HIV infection in the Russian federation and the world. *Tuberculosis and Lung Diseases*. 2017;95(9):8-18. (In Russian)]

4. Flavin RJ, Gibbons N, O'Briain DS. Mycobacterium tuberculosis at autopsy—exposure and protection: an old adversary revisited. *Journal of Clinical Pathology*. 2007; 60(5): 487–491. DOI: 10.1136/jcp.2005.032276

5. Demiryurek D, Bayramoglu A, Ustacelebi S. Infective agents in fixed human cadavers: a brief review and suggested guidelines. *The Anatomical Record*. 2002; 269 (4):194-197.

6. Hardman WJ, Benian GM, Howard T, McGowan JE, Metchock B, Murtagh JJ. Rapid detection of mycobacteria in inflammatory necrotizing granulomas from formalin-fixed, paraffin-embedded tissue by PCR in clinically high-risk patients with acid-fast stain and culture-negative tissue biopsies. *American Journal of Clinical Pathology*. 1996; 106(3):384–389.

7. Orme IM. A new unifying theory of the pathogenesis of tuberculosis. *Tuberculosis*. 2014; 94(1):8-14.

8. Перельман МИ. Фтизиатрия. Национальное руководство. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2007. 512 с. [Perelman MI. Phthisiology. National guidelines. Moscow: GEOTAR-Media; 2007. 512 p. (In Russian)]

9. Цинзерлинг ВА, Агапов ММ. Современные подходы к морфологической диагностике туберкулеза. *Туберкулез и болезни легких*. 2017;95(2): 7-12. [Tsinzerling VA, Agapov MM. Current approaches to morphologic diagnosis of tuberculosis. *Tuberculosis and Lung Diseases*. 2017;95(2): 7-12. (In Russian)]

10. Gerston KF, Blumberg L, Gafoor H. Viability of Mycobacteria in formalin-fixed tissue. *International Journal of Tuberculosis and Lung Disease*. 1998;2(6):521.

11. Gerston KF, Blumberg L, Tshabalala VA, Murray J. Viability of mycobacteria in formalin-fixed lungs. *Human Pathology*. 2004; 35(5): 571-575.

Сведения об авторах

Егорова Анна Романовна, врач-патологоанатом, Красноярское Краевое патологоанатомическое бюро; адрес: Российская Федерация, 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, д. 3д.; тел.: 8(923)3534150; e-mail: annaromanovna79@mail.ru
Михей Татьяна Георгиевна, врач-бактериолог, заведующая бактериологической лабораторией, Красноярский краевой противотуберкулезный диспансер; адрес: Российская Федерация, 660042, г. Красноярск, ул. 60 лет Октября, д. 26; тел.: +7(391)2617678; e-mail: mail@kkpzd1.ru

Котиков Алихан Русланович, врач-патологоанатом, Красноярское Краевое патологоанатомическое бюро; адрес: Российская Федерация, 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, д. 3д.; тел.: 8(908)2101693; e-mail: alipathologist@gmail.com

+7(923)3534150; e-mail: annaromanovna79@mail.ru

Tatiana G. Mihey, bacteriologist, head of the bacteriological laboratory, Krasnoyarsk territorial TB dispensary; Address: 26, 60 years of October Str., Krasnoyarsk, Russian Federation 660121; Phone: +7(391)2617678; e-mail: mail@kkpzd1.ru

Alikhan R. Kotikov pathologist, Krasnoyarsk territorial bureau of pathology; Address: 3d, Partizan Zheleznyak Str., Krasnoyarsk, Russian Federation 660022; Phone: +7(908)210169; e-mail: alipathologist@gmail.com

Дата поступления 27.08.2019 г.
Дата рецензирования 10.12.2019 г.
Принята к печати 13.12.2019 г.

Author information

Anna R. Egorova, pathologist, Krasnoyarsk territorial bureau of pathology; Address: 3d, Partizan Zheleznyak Str., Krasnoyarsk, Russian Federation 660022; Phone:

Received 27 August 2019
Revision Received 10 December 2019
Accepted 13 December 2019



This work is licensed under the Creative Commons Attribution 4.0 International License. To view a copy of this license, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>.