

Динамика клинических, лабораторных показателей у больных ХОБЛ под влиянием различных видов лечения (в днях)

Показатели	Больные ХОБЛ		Достоверность критерия Стьюдента, <i>p</i>
	получавшие ТМТ и СДТ	получавшие только ТМТ	
Одышка	12,3 ± 1,5	17,8 ± 2,1	< 0,05
Кашель	9,7 ± 1,4	16,4 ± 2,3	< 0,05
Лейкоцитоз	11,7 ± 2,5	18,3 ± 2,0	< 0,05
Ускоренная СОЭ	12,4 ± 1,8	20,5 ± 3,1	< 0,05
Увеличение содержания острофазовых белков	14,5 ± 1,7	18,3 ± 1,2	< 0,05
Продолжительность обострения	12,3 ± 1,6	16,5 ± 2,1	< 0,05

Заключение. Разработанная методика лечения способствует более ранней нормализации клинико-лабораторных параметров у пациентов с ХОБЛ и показателей функции внешнего дыхания, позво-

ляет сократить суммарную дозу принимаемых медикаментов, а также сокращает продолжительность обострения ХОБЛ, что позволяет уменьшить риск развития туберкулеза легких.

НОВЫЙ УСКОРЕННЫЙ КУЛЬТУРАЛЬНЫЙ МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ МИКОБАКТЕРИЙ ТУБЕРКУЛЕЗА К ШИРОКОМУ СПЕКТРУ ПРОТИВОТУБЕРКУЛЕЗНЫХ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ ПРИМЕНЕНИЯ МИКОБАКТЕРИОФАГОВ

ВЛАДИМИРСКИЙ М. А.¹, СМЕРНОВА Н. С.¹, ШИПИНА Л. К.¹, ИЛЬИНА Е. А.², БЛАГОДАТСКИХ К.³, АЛЕКСЕЕВ Я. И.³

NEW RAPID CULTURE TECHNIQUE FOR SUSCEPTIBILITY TESTING OF TUBERCULOSIS MYCOBACTERIA TO THE WIDE RANGE OF TB DRUGS BASING ON USE OF MYCOBACTERIOPHAGES

VLADIMIRSKY M. A.¹, SMIRNOVA N. S.¹, SHIPINA L. K.¹, ILYINA E. A.², BLAGODATSKIKH K.³, ALEKSEEV YA. I.³

¹НИИ фтизиопульмонологии ГБОУ ВПО «Первый МГМУ им. И. М. Сеченова», г. Москва

²Нижегородский областной противотуберкулезный диспансер, г. Нижний Новгород

³НПФ «Синтол», г. Москва

¹Research Institute of Phthisiopulmonology of I. M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, RF

²Regional Clinical Anti-tuberculosis Dispensary, Nizhny Novgorod, RF

³Sintol Ltd., Moscow, RF

Цель: разработка отечественной экономической фенотипической тест-системы для быстрого и одновременного определения лекарственной чувствительности микобактерий туберкулеза (МБТ) в клинических штаммах к противотуберкулезным препаратам первой и второй линий.

Материалы и методы. Использовали 67 клинических штаммов МБТ, полученных после первого роста в жидкой питательной среде Миддлбрук 7Н9 системы Bactec, из которых у 62 культур МБТ в дальнейшем изучали лекарственную чувствительность к препаратам первого и второго рядов при культивировании как стандартными методами на плотной питательной среде Левенштейна – Йен-

сена, так и с помощью изучаемого метода на основе микобактериофагов. Традиционные исследования проведены в микробиологической лаборатории Нижегородского областного противотуберкулезного диспансера, 5 других клинических штаммов МБТ получены после первичного культивирования образцов мокроты больных туберкулезом в жидкой питательной среде в пробирках MGIT с использованием системы Bactec, после чего проводили параллельное исследование лекарственной чувствительности в отношении 10 препаратов (стрептомицин, изониазид, рифампицин, этамбутол, амикацин, капреомицин, канамицин, этионамид, моксифлоксацин, линезолид) с использованием метода Bactec

и разработанного метода на основе применения микобактериофага D29.

Схема проведения исследования: для каждого теста использовали по 200 мкл жидкой культуры в объеме 1 мл среды Миддлбрук 7H9 с 10% OADC в присутствии известных для жидких сред критических концентраций соответствующих лекарственных препаратов (чистые субстанции), инкубировали в 24-луночной планшете в CO₂-инкубаторе при 37°C 48 ч, после чего вносили по 50 мкл препарата микобактериофага, содержащего 10⁵ плакообразующих единиц, и инкубировали 24 ч. Одна из таких проб – без антибиотика – являлась контрольной. Затем

проводили очень упрощенное выделение ДНК фага: центрифугировать 5 мин, к осадку добавить 200 мкл деионизированной воды, прогреть при 95°C 30 мин, после чего 5 мкл выделенной ДНК фага анализировать в количественной ПЦР в реальном времени. Прирост порогового цикла флуоресценции (C_t) более чем на 2 цикла в опытной пробирке, содержащей антибиотик, по сравнению с контрольной пробой свидетельствует о чувствительности культуры.

Результаты. В таблице представлены данные об уровнях изменений в пороговых циклах устойчивых и чувствительных в отношении 8 препаратов клинических культур и уровне совпадений

Таблица

Сравнительные результаты определения лекарственной чувствительности клинических штаммов МБТ в отношении 8 препаратов на основе применения микобактериофагов и анализа с использованием количественной ПЦР

Антибиотики	Лекарственная чувствительность	Средние различия C _t между контролем и опытом	Число и результаты анализов	Число штаммов	% совпадений с методом Левенштейна – Йенсена
Стрептомицин	чувст.	4,4	9	62	92,6
	уст.	0,13	53	–	
Изониазид	чувст.	6,3	14	62	97
	уст.	0,04	48	–	
Рифампицин	чувст.	6,2	28	62	85
	уст.	-0,17	34	–	
Этамбутол	чувст.	6,87	32	62	89
	уст.	0,3	30	–	
Амикацин	чувст.	7,15	38	49	92
	уст.	0,99	11	–	
Капреомицин	чувст.	7,5	41	49	86
	уст.	1,18	7	–	
Канамицин	чувст.	8,0	33	42	79
	уст.	0,74	9	–	
Моксифлоксацин	чувст.	6,45	32	40	92,5
	уст.	0,62	8	–	

результатов с традиционным методом с использованием среды Левенштейна – Йенсена. Средний уровень совпадений результатов нового метода с традиционным составил 89%.

В то же время в опытах по исследованию чувствительности 5 клинических культур МБТ к 10 препаратам с использованием тест-системы Bactec совпадение с результатами метода на основе микобактериофагов составило 96%. Различия наблюдались только по 1 препарату.

В дальнейшем установлено, что аналогичные результаты могут быть получены при использовании вместо 24-луночных планшетов и CO₂-инкубатора закрытых пробирок объемом 4,5-5,0 мл, содержащих по 1 мл соответствующей среды. Кроме того, используя известную рецептуру приготовления биодобавки OADC, приготовили аналогичный продукт. Этот продукт (биодобавка) изучена в отдельных

опытах при культивировании нескольких штаммов МБТ с анализом динамики роста на основе количественного измерения ДНК МБТ. Результаты роста МБТ при использовании OADC и аналогичной биодобавки были аналогичными.

Заключение. Предложен и изучен эффективный метод ускоренного культурального определения чувствительности клинических штаммов МБТ к широкому спектру противотуберкулезных препаратов. Эффективность ускоренного (4 дня) метода составляет не менее 90% по сравнению с традиционными методами.

Учитывая доступность отечественных компонентов при проведении исследования, можно считать хорошей перспективой создание соответствующего набора реагентов для импортозамещения и повышения эффективности микробиологических исследований во фтизиатрии.

BD BASTEC™ MGIT™ 960, 320

Стандартизация, качество и безопасность
в диагностике туберкулеза



Экспресс-идентификация положительных пробирок



Определение ЛЧ к препаратам первого и второго ряда



Результаты исследования
Эпидемиологический мониторинг



5

4

Выявление микобактерий



Экспресс-идентификация положительных пробирок

6

7

3

Обработка диагностического материала



Обработка диагностического материала

2

Окраска для микроскопии



Окраска для микроскопии

1

Сбор диагностического материала



Сбор диагностического материала



Представительство
компании BD в России:
123317, РФ, г. Москва,
Пресненская наб., 10,
блок С, этаж 7-й,
тел.: +7 (495) 775 85 82
факс: +7 (495) 775 85 83
www.bd.com/ru

ЗАО «Р-ФАРМ»:
123317, г. Москва, ул. Тестовская,
д. 10, подъезд 1, этаж 20
Бизнес-центр «Северная Башня»
Тел./Факс: +7 (495) 956 79 37, +7 (495) 956 79 38
www.r-pharm.com

Департамент «Лабораторная диагностика
и медицинская техника»:
603000, Россия, г. Нижний Новгород,
ул. Белинского, 32, офис 403
Тел./факс: +7 (831) 257 76 21
E-mail: info@rpharm.ru



Р-ФАРМ
Инновационные
технологии
здоровья