

МИНИМАЛЬНЫЕ ИНГИБИРУЮЩИЕ КОНЦЕНТРАЦИИ, ПОЛУЧАЕМЫЕ НА ОСНОВЕ МЕТОДА МИКРОРАЗВЕДЕНИЙ, ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ *M. TUBERCULOSIS*

ПОПОВ С. А.¹, КУЗЬМИНА В.^{1,2}, САБГАЙДА Т. П.¹, ВЕДЕНИНА Н. Г.¹

MINIMAL INHIBITING CONCENTRATIONS RECEIVED BY THE TECHNIQUE OF MICRO-DILUTIONS FOR DRUG SUSCEPTIBILITY TESTING OF *M. TUBERCULOSIS*

POPOV S. A.¹, KUZMINA V.^{1,2}, SABGAYDA T. P.¹, VEDENINA N. G.¹

¹ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова МЗ РФ, г. Москва

²ТКУЗ МГНПЦ борьбы с туберкулезом ДЗМ, г. Москва

¹I. M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, RF

²Moscow Scientific Practical TB Control Center, Moscow Health Department, Moscow, RF

Проблема выбора быстрого, надежного и доступного метода определения лекарственной чувствительности (ЛЧ) микобактерий туберкулеза (МБТ) к препаратам 1-го и 2-го рядов особенно актуальна в наши дни, учитывая текущую эпидемическую ситуацию в стране и другие факторы, влияющие на доступность, качество и своевременность диагностики возбудителя. В последнее время в нашей стране зарегистрирован ряд коммерческих наборов, позволяющих решить обозначенные проблемы. Одним из таких предложений является система Sensititre (TREK Diagnostics, Cleveland, OH), включающая автоматический диспенсер взвеси культур МБТ, микропланшет с 12 лиофилизированными противотуберкулезными препаратами 1-го и 2-го рядов в различных разведениях, готовые питательные среды, устройство визуального чтения результатов. Метод основан на определении минимальных ингибирующих концентраций (МИК) противотуберкулезных препаратов в жидкой питательной среде.

Цель: определить параметры и условия проведения исследований ЛЧ МБТ на основе определения МИК методом микроразведений на жидких питательных средах для применения в клинической практике.

Материалы и методы. На 162 клинических культурах МБТ с множественной лекарственной устойчивостью определены МИК в жидкой питательной среде Middlebrook 7H9/OADC в формате 96-луночного планшета (Sensititre) для препаратов (в мкг/мл): стрептомицин (0,25-128), изониазид (0,03-16), рифампицин (0,125-32), рифабутин (0,125-32,0), амикацин (0,122-128), канамицин (0,6-40), офлоксацин (0,25-64), моксифлоксацин (0,063-16), этамбутол (0,5-64), этионамид (0,3-80), циклосерин (2-256), ПАСК (0,5-128). Использовали различные дизайны исследований ЛЧ в системе Sensititre. МИК и ЛЧ методом абсолютных концентраций (АК) на среде Левенштейна – Йенсена определяли в параллельных исследованиях.

Результаты. При использовании различных схем проведения методик и правил интерпретации ре-

зультатов роста культуры МБТ в системе Sensititre был выбран дизайн, который давал наиболее стабильные и гармонизированные результаты по отношению к методу определения ЛЧ на среде Левенштейна – Йенсена. Контрольные посеы проводили в нескольких разведениях. Для облегчения интерпретации результатов использовали компьютерные микропрограммы, локализованные в регистрационном лабораторном журнале. В конечном итоге получены величины МИК (мкг/мл), характеризующие устойчивость/чувствительность МБТ (табл.).

Длительность культивирования в системе Sensititre варьировала от 11 до 22 дней, а средняя величина составила 14,6 дня. Наиболее трудно было интерпретировать результаты при работе с культурами, имевшими замедленный рост. Как правило, это были культуры МБТ, выделенные из каверн и от больных, длительно принимавших препараты. Метод требовал строго контроля контаминации культуры МБТ посторонней микрофлорой, а также обязательного использования контрольного штамма (H37Rv) в каждой постановке ЛЧ. Определенные сложности вызывало сравнение результатов при определении ЛЧ к 2 препаратам – этамбутолу и циклосерину. Традиционно эти препараты всегда имели сложности в сравнительных исследованиях. Для этих препаратов требуется дополнительный опыт работы. Особенно это относится к циклосерину, так как число культур МБТ с устойчивостью к этому препарату мало для статистического обсчета. В случае работы с чувствительной культурой к основным препаратам интерпретация по чувствительности к циклосерину более облегчена по понятным причинам, если же выявляется устойчивость к циклосерину на фоне устойчивости к другим препаратам, то такой результат желательно валидировать на плотных средах. Входящие в планшет препараты рифабутин и моксифлоксацин не проверяли методом АК, однако можно отметить, что критерии, рекомендованные для этих препаратов на агаровых плотных или жидких средах с использованием дизайна метода пропорций, впол-

Величины МИК (мкг/мл), характеризующие устойчивость/чувствительность МБТ

Противотуберкулезный препарат	S		R		I		Чувствительность	Специфичность
	МИК $\leq$	%	МИК $\geq$	%	МИК $\leq$	%		
Стрептомицин	2	94	8	100	8	100	100	94
Изониазид	0,5	94	2	97,5		0	97,5	95
Рифампицин	0,5	100	8	100		0	100	100
Этамбутол	4	89,6	8	83,4	8	100	89,6	82,4
Канамицин	5	93	10	100	5	100	100	93
Амикацин	1	97,8	16	100	2	100	100	97,5
Офлоксацин	2	100	8	96	4	100	100	96
Циклосерин	32	100	64	70		0	100	70
ПАСК	4	100	32	100	32	75	100	96
Этионамид	10	92,3	10	94,8	10	100	94	92

Примечание: R – устойчивая культура на основе данных метода АК; S – чувствительная культура на основе данных метода АК; I – критическое значение чувствительности/устойчивости на основе данных метода АК, то есть если величина роста на питательной среде с ПТП составляла от 1 до 20 КОЕ при объеме роста в контрольной пробирке 3+.

не приемлемы для испытуемой системы. В нашем исследовании не было ни одного результата, когда культуры, устойчивые к этим препаратам, были бы чувствительны к рифампицину и офлоксацину соответственно. При этом устойчивость к офлоксацину на среде Левенштейна – Йенсена с концентрацией 10 мкг/мл в 100% случаев сопровождалась устойчивостью к моксифлоксацину с МИК $\geq$ 2 мкг/мл, что превышает достигаемую максимальную концентрацию этого препарата в крови человека при приеме рекомендованной суточной дозы и может выступать как суррогатный маркер устойчивости культуры к этому препарату (моксифлоксацину).

Заключение. Определение ЛЧ МБТ на основе МИК, получаемых на основе микроразведений в стандартном 96-луночном планшете, обладает достаточно высокой чувствительностью и специфичностью при определении ЛЧ культур МБТ к большинству препаратов 1-го и 2-го рядов, применяемых при лечении больных туберкулезом. Метод технически и методически доступен в стандартной бактериологической лаборатории и позволяет в течение 14 дней выдать результаты определения ЛЧ МБТ. Для получения воспроизводимых и точных результатов необходимо соблюдение определенных стандартов выполнения процедур и подготовки культур МБТ.

ОЦЕНКА РЕЗУЛЬТАТОВ ВЫЯВЛЕНИЯ И ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ *M. TUBERCULOSIS* В СОСТАВЕ ТЕСТ-ПАНЕЛИ ФСВОК РАЗЛИЧНЫМИ МЕТОДАМИ

ПОПОВ С. А.¹, КУЗЬМИН А. В.^{1,2}, САБГАЙДА Т. П.¹, ВЕДЕНИНА Н. Г.¹, ПУЗАНОВ В. А.³

EVALUATION OF DETECTION AND DRUG SUSCEPTIBILITY TESTING RESULTS OF *M. TUBERCULOSIS* AS A PART OF TEST-PANEL OF FEDERAL SYSTEM OF EXTERNAL QUALITY CONTROL BY VARIOUS TECHNIQUES

POPOV S. A.¹, KUZ'MIN A. V.^{1,2}, SABGAYDA T. P.¹, VEDENINA N. G.¹, PUZANOV V. A.³

¹ГБОУ ВПО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» МЗ РФ, г. Москва

²ТКУЗ МГНПЦ борьбы с туберкулезом ДЗМ, г. Москва

³ФГБНУ «Центральный НИИ туберкулеза» РАН, г. Москва

¹I. M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, RF

²Moscow Scientific Practical TB Control Center, Moscow Health Department, Moscow, RF

³Central Tuberculosis Research Institute, Moscow, RF

В соответствии с клиническими рекомендациями (Приказ № 951 от 29.12.2014 г. МЗ РФ) выяв-

ление возбудителя туберкулеза и определение его лекарственной устойчивости к противотуберку-