

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-

лезным препаратам (ПТП) носят многоэтапный характер и связывают несколько методов в единый технологический процесс. Принятые Всемирной организацией здравоохранения (ВОЗ) рекомендации по определению лекарственной чувствительности (ЛЧ) микобактерий туберкулеза (МБТ) содержат параметры, относящиеся к методу пропорций, исполняемому на разных питательных средах, в то время как в нашей стране принят метод абсолютных концентраций как для препаратов 1-го, так и 2-го ряда. В последнее время в нашей стране зарегистрирован ряд коммерческих наборов и систем, позволяющих проводить ускоренное выявление, культивирование МБТ и определение их ЛЧ к препаратам 1-го и 2-го рядов, а также молекулярно-генетическую диагностику МБТ. К ним относятся получившие распространение системы MGIT Bactec-960/320 (BD, США), GeneXpert (Cepheid, США), Биочип (Россия) и относительно новые Sensititre (TREK Diagnostics, США) и др.

Цель: провести сравнительные исследования по выявлению МБТ и определению их ЛЧ в аттестованных образцах контрольных панелей ФСВОК; оценить основные характеристики методов в составе единой технологической цепи исследований диагностического материала.

Материалы и методы. Тест-панель, состоящая из 21 аттестованного диагностического образца (тест-панель ФСВОК, цикл-2), часть из которых содержала клинические культуры МБТ, исследована методами люминесцентной микроскопии с параллельным проведением посева на плотные питательные среды Левенштейна – Йенсена, Финна-2, жидкие питательные среды в системе Bactec MGIT 960, а также исследована в системе GeneXpert и Биочип. Выделенные культуры МБТ были идентифицированы иммунохроматографическим тестом, проверены на отсутствие внешней контаминации, исследованы на ЛЧ к ПТП 1-го и 2-го рядов методом абсолютных концентраций, в системе MGIT Bactec-960 (использовали рекомендованные ВОЗ критические концентрации) и в системе Sensititre (на основе минимальных ингибирующих концентраций (МИК)).

Результаты. Тест-панель, состоящая из разнонагруженных образцов различных культур МБТ в скудной питательной среде, имитирует различные диагностические ситуации и является хорошей моделью для отработки используемых методов. В целях получения препарата для микроскопии хорошего качества добавляли в каждый образец 0,25 мл стерильного 5% альбумина (можно использовать раствор OADC из набора Bactec-960). Эту смесь в дальнейшем использовали для посева на все питательные среды.

В качестве «золотого стандарта» определения ЛЧ в большинстве стран используют метод пропорций на плотных агаровых средах (МПА) или среде Левенштейна – Йенсена (МПЛ). Тем не менее в по-

следнее время все большую популярность приобретает определение ЛЧ в системе Bactec MGIT 960, для которого почти ежегодно публикуются корректировки критических концентраций ПТП, гармонизирующие его с МПА. Как известно, панель ФСВОК сформирована на основе международной панели и аттестована в системе Bactec MGIT 960. В силу этого в качестве референтных результатов использовали данные, полученные именно этим методом, соотносили их с заявленными в панели характеристиками и затем выстраивали цепочку сравнения с другими методами.

Контрольные посева при определении ЛЧ для задач гармонизации методов проводили в нескольких разведениях. Для облегчения интерпретации результатов использовали компьютерные микропрограммы, локализованные в регистрационном лабораторном журнале (табл.).

В предложенном дизайне тест-панели методы микроскопии, молекулярно-генетические и культуральные легко справились с задачей выявления МБТ, используя предварительную процедуру по обогащению образцов белковым раствором. В предложенной концентрации белок не мешает проведению реакций ПЦР, а мазок для микроскопии надежно локализуется на стекле.

Все три отрицательных образца были обнаружены всеми методами.

Среди положительных образцов наиболее быстрым результат получился в системе GeneXpert. Результат посева на плотных средах был получен самым последним. При этом не выявили явных преимуществ какой-либо из питательных сред, для одних культур лучше подходила среда Левенштейна – Йенсена, для других – Финна-2. Объясняется это тем, что образцы не проходили предварительную обработку щелочью или детергентом, поэтому для нейтральных образцов «традиционно лучшая» среда Финна-2 не дала ожидаемого преимущества в росте.

Определение ЛЧ. Длительность культивирования в системе Sensititre варьировала от 12 до 19 дней. Наибольшее число несовпадения результатов и наиболее трудно было интерпретировать результаты при работе с культурами, имевшими замедленный рост. Наибольшее расхождение результатов наблюдалось по препарату этамбутолу. Традиционно этот препарат всегда имел трудности в сравнительных исследованиях по оценке ЛЧ, что отмечается и в рекомендациях ВОЗ. Для этого препарата требуется дополнительное исследование при повышенной концентрации на жидких питательных средах. Наибольшая конкордантность наблюдалась между методами Sensititre и Bactec MGIT 960.

Заключение. Панель ФСВОК является хорошей моделью для отработки лабораторных методов исследований с учетом особенностей приготовления мазков для микроскопии. Для использования разных методов определения ЛЧ МБТ они должны

Показатели методов определения МБТ и лекарственной чувствительности МБТ

Выявление МБТ											
	Чув.			Спец.			Среднее время результата				
Микроскопия	100			100			24 ч				
GeneXpert	100			100			6 ч				
Биочип	100			100			3 дня				
Посев Bactec-960	100			100			9,3 ± 4,4				
Посев Л-Й	100			100			31 ± 5				
Посев Ф-2	100			100			31 ± 5				
Определение ЛЧ											
Метод	MGIT Bactec-960			Абсол. концентр Л-Й			Sensititre			GX	Биочип
Ср. время результата, сут	8,5 ± 2,0			28,0 ± 2,0			16,0 ± 3,0			0,25	3
	к/к	Чув.	Спец.	к/к	Чув.	Спец.	к/к	Чув.	Спец.	Эфф.	Эфф.
Стрептомицин	1,0	100	100	10	100	100	4,0	100	100		
Изониазид	0,1	100	100	1,0	100	100	0,2	100	100		100
Рифампицин	1,0	100	100	40	100	100	1,0	100	100	100	100
Этамбутол	5	100	100	5	84	100	4,0	84	100		
Канамицин	2,5	100	100	30	100	100	2,5	100	100		
Амикацин	1,0	100	100	8,0	100	100	2,0	100	100		
Офлоксацин	2,0	100	100	2,0	95	100	2,0	100	100		100
Циклосерин	–	–	–	30	100	100	32	100	100		
ПАСК	4,0	100	100	1,0	100	100	4,0	100	100		
Этионамид	5,0	100	100	30	100	100	5,0	100	100		
Капреомицин	2,5	100	100	30	100	100	–	–	–		
Рифабутин		–	–	–	–		0,5	100	100		
Моксифлоксацин		–	–	–	–	–	0,25	100	100		

Примечание: Чув. – диагностическая чувствительность метода; Спец. – специфичность метода; к/к – критическая концентрация, мкг/мл; Эфф. – эффективность определения ЛЧ (доля в % правильно определенных результатов).

нести в себе элементы гармонизации, позволяющие получать очень близкие результаты. Методы определения ЛЧ на основе жидких питательных сред имеют более близкие параметры. Определение ЛЧ на основе микроразведений в стандартном 96-луночном планшете обладает достаточной чувствительностью и специфичностью и позволяет учесть

международные рекомендации по использованию увеличенных концентраций к некоторым ПТП при выявлении и к ним лекарственной устойчивости культур МБТ. Для получения воспроизводимых и точных результатов необходимо соблюдение определенных стандартов выполнения процедур и подготовки культур МБТ.