

ОПРЕДЕЛЕНИЕ КРИТИЧЕСКОЙ КОНЦЕНТРАЦИИ ПРЕПАРАТОВ ВТОРОГО РЯДА (ЦИКЛОСЕРИНА И ПАСК) ДЛЯ ПОСТАНОВКИ ТЕСТА ЛЕКАРСТВЕННОЙ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ В ЖИДКОЙ СРЕДЕ MIDDLEBROOK 7H9

Е. С. ДЮЖИК¹, Н. В. КАУНЕТИС¹, Т. Г. СМЕРНОВА², Е. Е. ЛАРИОНОВА², Г. В. ВОЛЧЕНКОВ¹, Л. Н. ЧЕРНОУСОВА²

DEFINING CRITICAL CONCENTRATIONS OF THE SECOND LINE TB DRUGS (CYCLOSERIN AND PAS), TO ESTABLISH DRUG SUSCEPTIBILITY TESTING ON THE LIQUID MEDIUM OF MIDDLEBROOK 7H9

E. S. DYUZHNIK¹, N. V. KAUNETIS¹, T. G. SMIRNOVA², E. E. LARIONOVA², G. V. VOLCHENKOV¹, L. N. CHERNOUSOVA²

¹ГБУЗ Владимирской области «Центр специализированной фтизиопульмонологической помощи», г. Владимир
²ФГБНУ «Центральный НИИ туберкулеза», г. Москва

¹Center for Specialized of Phthiopiulmonary Care, Vladimir, RF
²Central Tuberculosis Research Institute, Moscow, RF

С целью установления критических концентраций противотуберкулезных препаратов второго ряда (циклосерина и ПАСК) для постановки теста лекарственной чувствительности методом пропорций в жидкой среде Middlebrook 7H9 в системе автоматизированного учета роста микобактерий Bactec MGIT 960 исследована 441 культура *M. tuberculosis*, полученная после посева 2 534 образцов диагностического материала от 1 330 больных туберкулезом, проживающих во Владимирской области. По результатам постановки тестов на лекарственную чувствительность на плотной среде сформированы 4 группы штаммов *M. tuberculosis*, устойчивых и чувствительных к ПАСК и циклосерину. Результаты определения минимальных ингибирующих концентраций ПАСК и циклосерина для этих групп в жидкой питательной среде Middlebrook 7H9 позволили выявить критические концентрации для ПАСК (2,0 мкг/мл) и циклосерина (15,0 мкг/мл).

Ключевые слова: *M. tuberculosis*, чувствительность к ПАСК и циклосерину, критические концентрации.

In order to determine critical concentrations of the second line TB drugs, namely cycloserin and PAS, and to use these critical concentrations for establishment of drug susceptibility testing by the proportional method on the liquid medium of Middlebrook 7H9 in the Bactec MGIT 960, 441 cultures of *M. Tuberculosis* were tested after inoculation of 2534 samples obtained from 1330 TB patients living in Vladimir Region. Upon results of drug susceptibility testing on solid media 4 groups of *M. tuberculosis* strains, susceptible and resistant to PAS and cycloserin have been identified. Results of searching for minimum inhibiting concentrations of PAS and cycloserin for these groups of strains in the liquid medium of Middlebrook 7H9 allowed finding critical concentrations for PAS (2.0 mkg/ml) and cycloserin (15.0 mkg/ml).

Key words: *M. tuberculosis*, susceptibility to PAS and cycloserin, critical concentrations.

Туберкулез, вызванный микобактериями, чувствительными к противотуберкулезным препаратам, излечивается в большинстве случаев. Лекарственная устойчивость (ЛУ) возбудителя требует повышенного внимания как в плане диагностики заболевания, так и при установлении интенсивности, сроков химиотерапии и стоимости лечения.

Проведение теста лекарственной чувствительности (ТЛЧ) с системой обеспечения качества имеет решающее значение для выявления лекарственной чувствительности (ЛЧ) культуры и назначения адекватного лечения, а также для снижения вероятности ложной диагностики. Недостаточный охват пациентов обследованием с помощью ТЛЧ является одной из основных причин относительно редкого выявления туберкулеза с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ) возбудителя во многих странах. Несмотря на развитие современной бактериологической диагностики туберкулеза, в России среди впервые зарегистрированных боль-

ных туберкулезом легких бактериовыделение редко фиксируется с помощью культурального метода: 2005 г. – в 15,2%; 2012 г. – в 22,9%; 2013 г. – в 24,5% случаев. Поэтому лечение туберкулеза проводится без важной информации о наличии или отсутствии ЛУ микобактерий туберкулеза (МБТ) к противотуберкулезным препаратам [2]. Диагностика туберкулеза без определения ЛЧ возбудителя может приводить к неблагоприятным исходам лечения, дополнительным и неоправданным страданиям, затратам пациентов и дальнейшему распространению лекарственно-устойчивых штаммов. Одной из основных причин распространения МБТ с МЛУ является запоздалое определение ЛЧ [1]. Использование ускоренных методов микробиологической диагностики туберкулеза позволяет при поступлении в стационар на этапе обследования больного выявлять устойчивость МБТ к противотуберкулезным препаратам и назначать адекватный режим химиотерапии в интенсивную фазу лечения, что

сокращает сроки абациллирования, повышает эффективность лечения и предотвращает формирование и распространение лекарственно-устойчивых штаммов МБТ [1].

Три четверти (74%) от всех стран мира применяют автоматизированные системы культивирования МБТ на жидких питательных средах [11, 12]. В России в течение многих лет ЛЧ определяли исключительно на плотных питательных средах – Левенштейна – Йенсена (Л–Й) и Финна-П. Исследование занимает 21 день после получения чистой культуры. Метод не стандартизирован и в современных условиях распространения лекарственно-устойчивых штаммов требует слишком много времени. Быстро и надежно определить ЛЧ выделенных штаммов к противотуберкулезным препаратам – одна из главных задач современной микробиологической диагностики туберкулеза. Эта задача успешно решается с помощью анализатора Bactec MGIT 960, внедрение которого в рутинную практику явилось революционным решением и определяется как золотой стандарт для выполнения посевов и тестов на чувствительность возбудителя [3, 10]. Это система для детекции *M. tuberculosis* и определения их чувствительности к лекарственным препаратам полностью автоматизирована. Она позволяет получить быстрый и достоверный результат (в среднем 13 дней), характеризуется стандартизацией бактериологического исследования и автоматической интерпретацией результатов ЛЧ. В анализаторе возможно ускоренное определение ЛЧ к 5 препаратам первого ряда и 9 препаратам второго ряда методом пропорций в жидкой среде [10]. Однако ЛЧ к некоторым препаратам, например бедаквилину, перхлорону, циклосерину (СУС) и до недавнего времени ПАСК (PAS), в системе Bactec MGIT 960 не определяют из-за отсутствия рекомендуемых критических концентраций (КК). Между тем в лечении туберкулеза с МЛУ и широкой лекарственной устойчивостью (ШЛУ) возбудителя такие препараты второго ряда, как ПАСК и циклосерин, являются одними из основных. Следует отметить, что для ПАСК была предпринята попытка определить КК для постановки ТЛЧ в жидкой среде. В 2008 г. Rodrigues C. et al. и в 2011 г. Sharma M. et al. проводили исследования в целях определения КК для 7 противотуберкулезных препаратов второго ряда в системе Bactec MGIT 960, в том числе и для ПАСК. План исследования зарубежных ученых аналогичен опытам, проведенным нами. На первом этапе чувствительные штаммы (на среде Л–Й) протестированы для установления минимальной ингибирующей концентрации (МИК). Затем тестирование штаммов, определенных как устойчивые на среде Л–Й к тем же МИК на жидкой среде, подтверждает выбор КК. На третьем этапе проведен анализ результатов, полученных на 1-м и 2-м этапах [7, 9].

Цель исследования: разработка КК противотуберкулезных препаратов второго ряда, циклосерина

и ПАСК, для постановки ТЛЧ методом пропорций в жидкой среде Middlebrook 7H9 в системе для автоматизированного учета роста микобактерий Bactec MGIT 960.

Материалы и методы

Диагностический материал

В исследование взято 2 534 образца диагностического материала от 1 330 проживающих во Владимирской области больных туберкулезом, направленных в лабораторию ГБУЗ ВО «Центр специализированной фтизиопульмонологической помощи» в 2010-2014 гг. Материал для исследования собран, сохранен и транспортирован в соответствии с правилами сбора диагностического материала [4]. Основной исследуемый материал – мокрота и другие виды отделяемого трахеобронхиального дерева.

Получение чистой культуры M. tuberculosis

Для получения чистой культуры из диагностического материала использовали два метода – посев на плотную среду Л–Й и посев на жидкую среду Middlebrook 7H9 с последующей инкубацией в системе для автоматизированного учета роста микобактерий Bactec MGIT 960.

Для первичного посева на плотную питательную среду материал (1 906 образцов) подвергали гомогенизации в 10% растворе трехзамещенного фосфорнокислого натрия. Затем проводили инкубацию 18-20 ч в термостате при 37°C. После этого каждый образец центрифугировали при 3000 x g в течение 15 мин. Удаляли супернатант и продолжали работу с осадком. Посев проводили инокуляцией равных объемов материала (примерно по 0,5-0,6 мл) в 2 пробирки с яичными средами с учетом стерильности. Засеянные пробирки инкубировали в термокомнате в течение 12 нед. при обязательном еженедельном просмотре. Из культуры делали препарат, окрашивали по методу Циля – Нельсена и микроскопировали на наличие кислотоустойчивых микобактерий. Идентификацию проводили с помощью теста на наличие роста на среде с натрием салициловокислым (1 мг/мл) и роста на среде, содержащей 2 мкг/мл гидразида тиофен-2 карбоксилевой кислоты.

Первичный посев материала (628 образцов) с помощью анализатора Bactec MGIT 960 (BD, США) проводили согласно стандартному протоколу Becton Dickinson [6]. Для предобработки использовали BD MycoPrep (BD, США). Подготовленный материал после разжижения и деконтаминации засеивали в объеме 0,5 мл в заранее подготовленные пробирки MGIT, содержащие жидкую питательную среду Middlebrook 7H9 и ростовую добавку. Пробирки помещали в прибор Bactec MGIT 960 на срок 42 дня до получения отрицательного результата. Пробирки с положительной культурой, выросшей ранее, подвергали процедуре идентификации с использованием иммунохроматографического теста BD

MGIT TBc ID. Для подтверждения положительных результатов и контроля отрицательных результатов с каждой положительной пробирки делали препарат, окрашивали по методу Циля – Нельсена.

Определение ЛЧ на плотной питательной среде методом абсолютных концентраций

Все культуры *M. tuberculosis*, полученные с плотной среды (323 изолята), были подвергнуты определению ЛЧ с помощью метода абсолютных концентраций на среде Л–Й согласно приказу МЗ РФ № 109 от 21.03.2003 г. Все манипуляции с диагностическим материалом (предпосевная подготовка, посев, приготовление препаратов, процедура субкультивирования, тесты на идентификацию, постановка ТЛЧ) проводились в шкафу биологической безопасности II класса защиты [4, 5].

Определение ЛЧ в жидкой среде Middlebrook 7H9

Тест ЛЧ к первому и второму рядам противотуберкулезных препаратов проводили для всех культур *M. tuberculosis*, выросших с помощью анализатора Bactec MGIT 960 (118 изолятов). Чистую культуру перемешивали на вортексе, оставляли на 5-10 мин, чтобы осели крупные частицы. Затем работали с инокулятом из надосадочного бульона согласно протоколу, рекомендованному производителем. Для исследования ЛУ к первому ряду выполнили разведение лиофилизированных противотуберкулезных препаратов, входящих в коммерческий набор, а для постановки ЛУ к препаратам второго ряда использовали чистые субстанции (Sigma-Aldrich), расчеты и разведения препаратов осуществляли самостоятельно.

Все исследованные культуры, полученные с плотных и жидких сред, были охарактеризованы по ЛЧ к ПАСК и циклосерину методом абсолютных концентраций на среде Л–Й. Использовали рекомендуемые КК: 1 мкг/мл для ПАСК и 30 мкг/мл для циклосерина соответственно.

Определение минимальных ингибирующих концентраций и критических концентраций для циклосерина и ПАСК на жидкой среде в системе Bactec MGIT 960

Постановку ЛЧ в системе Bactec MGIT 960 осуществляли согласно рекомендациям производителя [8, 10]. Кратко чистую культуру *M. tuberculosis* гомогенизировали на вортексе, оставляли на 5-10 мин, чтобы осели крупные частицы. Продолжали работу с инокулятом из надосадочного бульона согласно протоколу, рекомендованному производителем. Для исследования ЛУ к циклосерину и ПАСК взвешивание, расчет и разведения препаратов осуществляли самостоятельно. Для определения КК ПАСК использовали 7 разведений фармакопейной субстанции ПАСК с чистотой не менее 98% (PAS, Sigma-Aldrich, Китай), для циклосерина использовали 8 разведений фармакопейной субстанции циклосерина с чистотой не менее 98% (CS, Sigma-Aldrich, Китай). При выборе концентраций

циклосерина для исследования руководствовались величиной КК, рекомендованной Приказом № 109 МЗ РФ [4], при выборе концентраций ПАСК руководствовались Приказом № 109 МЗ РФ [4], а также данными зарубежных исследователей, проводивших поиск КК для этого препарата [7, 9]. Разведения препаратов приведены в табл. 1.

Таблица 1

Концентрации циклосерина и ПАСК, использованные для определения МИК и КК на жидкой среде Middlebrook 7H9 в системе Bactec MGIT 960

Циклосерин, мкг/мл	ПАСК, мкг/мл
4,0	0,5
8,0	1,0
10,0	2,0
15,0	4,0
20,0	8,0
30,0	20,0
40,0	40,0
50,0	–

Результаты исследования

Из 2 534 образцов диагностического материала, посеянных на плотные и жидкие среды, всего был выделен 441 штамм *M. tuberculosis* (17,4%). Результаты определения ЛЧ методами абсолютных концентраций и пропорций к препаратам первого и второго рядов показали, что 40 (9,1%) культур были чувствительными ко всем противотуберкулезным препаратам, 332 культуры обладали МЛУ (75,3%), 69 культур были с ШЛУ (15,7%).

Так как все штаммы *M. tuberculosis* могут обладать разной степенью устойчивости к одному и тому же препарату, для точного определения КК необходимо, чтобы выборка культур, взятых для исследования, включала штаммы с различным профилем ЛУ–ЛЧ – это штаммы, чувствительные ко всем препаратам, штаммы с МЛУ и штаммы с ШЛУ. Подробная информация о спектре ЛУ выделенных культур *M. tuberculosis* приведена в табл. 2 и 3.

По результатам определения спектра ЛУ для 441 культуры *M. tuberculosis* были отобраны: для опре-

Таблица 2

Основные профили ЛЧ проанализированных культур, n = 441

Профиль ЛЧ	Число культур <i>M. tuberculosis</i> , абс. (%)
Чувствительные	40 (9,1%)
МЛУ	332 (75,3%)
ШЛУ	69 (15,7%)
Полирезистентные	401 (91,0%)

Таблица 3

Спектр ЛЧ 441 культуры

Препараты	Число чувствительных культур	Число устойчивых культур
H	66	375
R	109	332
E	173	268
S*	49	69
Z*	64	54
Ofi	316	124
Cap	317	123
Kan	299	141

Примечание: * – результаты ЛЧ, полученные на жидкой среде в системе Bactec MGIT 960 для 118 культур.

деления КК ПАСК 117 штаммов *M. tuberculosis*, для определения КК циклосерина 121 штамм *M. tuberculosis*

Культуры *M. tuberculosis* разделили на группы по результатам посева методом абсолютных концентраций на плотной среде: чувствительные к циклосерину – группа 1 (90 штаммов) и устойчивые к циклосерину – группа 2 (31 штамм), табл. 4.

Также культуры *M. tuberculosis* разделили на группы по результатам посева методом абсолют-

Таблица 4

ЛЧ культур к циклосерину на среде Л-Й

Устойчивые к СУС	Чувствительные к СУС	Всего
31	90	121

ных концентраций на плотной среде: чувствительные к ПАСК – группа 3 (75 штаммов) и устойчивые к ПАСК – группа 4 (42 штамма), табл. 5.

Определение критических концентраций для циклосерина

Таблица 5

ЛЧ культур к PAS на среде Л-Й

Устойчивые к PAS	Чувствительные к PAS	Всего
42	75	117

Со всеми чувствительными штаммами из группы 1 проведено определение МИК циклосерина на жидкой среде Middlebrook 7H9 в системе Bactec MGIT 960. Исследовали 8 концентраций циклосерина – 4,0; 8,0; 10,0; 15,0; 20,0; 30,0; 40,0; 50,0 мкг/мл. Исследование показало, что к концентрации 4,0 мкг/мл было устойчиво подавляющее число штаммов из группы 1 (89), к 8,0 мкг/мл устойчиво 73 штамма МБТ, чувствительно 17, к 10 мкг/мл – соответственно 40 и 50; к 15,0 мкг/мл – все штаммы из группы 1 были чувствительны, при концентрации 20,0; 30,0; 40,0 и 50,0 мкг/мл все штаммы из группы 1 были чувствительны (табл. 6).

Из полученных данных следует, что концентрация 15,0 мкг/мл является МИК для чувствительных к циклосерину штаммов МБТ. Для подтверждения того, что эта концентрация является критической, в системе Bactec MGIT 960 с теми же разведениями циклосерина исследовали штаммы из группы 2, устойчивые к циклосерину (по данным метода абсолютных концентраций). Результаты показали, что к концентрациям 4,0; 8,0; 10,0 и 15 мкг/мл были устойчивы все штаммы из группы 2, к 20 мкг/мл – 26 штаммов были устойчивы, 5 – чувствительны, к 30 мкг/мл – 7 штаммов были устойчивы, 24 – чувствительны, к 40,0 и 50,0 мкг/мл все штаммы из группы 2 были чувствительны, табл.

Определение критических концентраций для ПАСК

Культуры *M. tuberculosis* разделили на 2 группы по результатам посева с помощью метода абсолютных концентраций на плотной среде: чувствительные к ПАСК – группа 3 (75 штаммов) и устойчивые к ПАСК – группа 4 (42 штамма). Со всеми чувствительными штаммами из группы 3 было проведено определение МИК ПАСК на жидкой среде Middlebrook 7H9 в системе Bactec MGIT 960. Исследовали 7 концентраций ПАСК– 0,5; 1,0; 2,0; 4,0; 8,0; 20,0; 40,0 мкг/мл. Исследование показало, что к концентрации 0,5 мкг/мл было устойчиво более половины штаммов из группы 3 (45), к 1,0 мкг/мл – 11 штаммов, чувствительно – 64, к 2,0 мкг/мл – все штаммы группы 3 были чувствительны, при концентрациях 4,0; 8,0; 20,0; 40,0 мкг/мл так же все штаммы были чувствительны (табл. 8).

Из полученных данных следует, что концентрация 2,0 мкг/мл является МИК для чувствительных к ПАСК штаммов МБТ. Для подтверждения того, что эта концентрация является критической, в системе Bactec MGIT 960 с теми же разведения-

Таблица 6

Результаты определения МИК штаммов *M. tuberculosis* (чувствительные к СУС на среде Л-Й)

Концентрации СУС, мкг/мл	4,0	8,0	10,0	15,0	20,0	30,0	40,0	50,0
Чувствительность культуры	1	17	50	90	90	90	90	90
Устойчивость культуры	89	73	40	0	0	0	0	0

Таблица 7

Результаты определения МИК штаммов *M. tuberculosis* (устойчивые штаммы *M. tuberculosis* к СУС на среде Л-Й)

Концентрации СУС, мкг/мл	4,0	8,0	10,0	15,0	20,0	30,0	40,0	50,0
Чувствительность культуры	0	0	0	0	5	24	31	31
Устойчивость культуры	31	31	31	31	26	7	0	0

Таблица 8

Результаты определения МИК штаммов *M. tuberculosis* (чувствительные штаммы *M. tuberculosis* к PAS на среде Л-Й)

Концентрации PAS, мкг/мл	0,5	1,0	2,0	4,0	8,0	20,0	40,0
Чувствительность культуры	45	64	75	75	75	75	75
Устойчивость культуры	30	11	0	0	0	0	0

ми ПАСК были исследованы штаммы из группы 4, устойчивые к ПАСК по данным метода абсолютных концентраций. Результаты показали, что к концентрациям 0,5; 1,0; 2,0 мкг/мл были устойчивы все штаммы из группы 4, к 4,0 мкг/мл – 37 штаммов были устойчивы, 5 – чувствительны, к 8,0 мкг/мл 33 штамма были устойчивы, 9 – чувствительны, к 20,0 мкг/мл – 22 штамма были устойчивы, 20 – чувствительны, к 40 мкг/мл устойчивы были 17 штаммов, 25 – чувствительны (табл. 9).

Заключение

ЛИТЕРАТУРА

Таблица 9

Результаты определения МИК штаммов *M. tuberculosis* (устойчивые штаммы к PAS на среде Л-Й)

Концентрации PAS, мкг/мл	0,5	1,0	2,0	4,0	8,0	20,0	40,0
Чувствительность культуры	0	0	0	5	9	20	25
Устойчивость культуры	42	42	42	37	33	22	17

1. Васильева И. А., Эргешов А. Э. Федеральные клинические рекомендации по диагностике и лечению туберкулеза органов дыхания с множественной и широкой лекарственной устойчивостью возбудителя. – М., 2014. – 71 с.
2. Габбасова Л. А., Касаева Т. Ч., Кормачева Е. А. и др. Туберкулез в Российской Федерации 2011, 2013 г. Аналитический обзор статистических показателей, используемых в Российской Федерации и в мире. – М.: Триада. – 2013. – 280 с.
3. Приказ МЗ РФ № 951 «Об утверждении методических рекомендаций по совершенствованию диагностики и лечения туберкулеза органов дыхания». 29 декабря 2014 г.
4. Приказ МЗ РФ от 21.03.2003 г. № 109 «Совершенствование противотуберкулезных мероприятий в Российской Федерации». – М., 2003. – 347 с.
5. Федорова Л. С., Юзбашев В. Г., Попов С. А. и др. Система инфекционного контроля в противотуберкулезных учреждениях. – М.: Триада, 2013. – 137 с.
6. Kent P. T., Kubica G. P. Public Health Mycobacteriology: A Guide for the Level III Laboratory. US Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control, USA. – 1985.
7. Rodrigues C., Jani J., Shenai P. et al. Drug susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis* against second-line drugs using the Bactec MGIT 960 system // Int. J. Tuberc. Lung Dis. – 2008. – Vol. 12. – P. 1449-1455.
8. Salman H. Siddiqi guidelines for second-line drug susceptibility testing in MGIT based on published studies // Crit. Concentrations and Procedures. – 2014. – P. 28.
9. Sharma M., Thiberts L., Chedore P. et al. A Canadian multi-center laboratory study for standardized second-line antimicrobial susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis* // J. Clin. Microbiol. – 2011. – Vol. 49. – P. 4112-4116.
10. Siddiqi S. H., Rusch-Gerdes S. Руководство по работе с системой Bactec MGIT 960. – 2006. – С. 7-15.
11. WHO Global tuberculosis report. World Health Organization. – Geneva, Switzerland. – 2014. – P. 73.
12. World Health Organization. Global tuberculosis report 2012. Geneva, World Health Organization. – 2012.
13. World Health Organization. Guidelines for the programmatic management of drug-resistant tuberculosis. – Geneva, WHO. – 2008.
14. World Health Organization. Policy guidance on drug-susceptibility testing (DST) of second-line antituberculosis drugs. – Geneva, WHO. – 2008.

REFERENCES

1. Vasil'eva I.A., Ergeshov A.E. *Federalnye klinicheskiye rekomendatsii po diagnostike i lecheniyu tuberkuleza organov dykhaniya s mnozhestvennoy lekarstvennoy ustoychivostyu vozбудitelya*. [Federal clinical recommendations for diagnosis and treatment of respiratory tuberculosis with multiple drug resistance]. Moscow, 2014, 7 p.
2. Gabbasova L.A., Kasaeva T.Ch., Kormacheva E.A. *Tuberkulez v Rossijskoy Federatsii 2011, 2013 g. Analiticheskiy obzor statisticheskikh pokazateley, ispol'zuemykh v Rossijskoy Federatsii i v mire*. [Tuberculosis in the Russian Federation

- in 2011, 2013. Analytic review of statistic rates used in the Russian Federation and in the world]. Moscow, Triada Publ., 2013, 280 p.
3. Edict no. 951 by RF MoH as of 29.12.2014 On Approval of Guidelines for Improvement of Respiratory Tuberculosis Diagnostics and Treatment. 29 декабря 2014 г. (In Russ.)
 4. Edict no. 109 by RF MoH as of 21.03.2003 On Improvement of TB Control Measures in the Russian Federation. Moscow, 2003, 347 p. (In Russ.)
 5. Fedorova L.S., Yuzbashev V.G., Popov S.A. et al. *Sistema infektsionnogo kontrolya v protivotuberkuleznykh uchrezhdeniyakh*. [Infection control system in anti-tuberculosis units]. Moscow, Triada Publ., 2013, 137 p.
 6. Kent P.T., Kubica G.P. *Public Health Mycobacteriology: A Guide for the Level III Laboratory*. US Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control, USA, 1985.
 7. Rodrigues C., Jani J., Shenai P. et al. Drug susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis* against second-line drugs using the Bactec MGIT 960 system. *Int. J. Tuberc. Lung Dis.*, 2008, vol. 12, pp. 1449-1455.
 8. Salman H. Siddiqi guidelines for second-line drug susceptibility testing in MGIT based on published studies. *Crit. Concentrations and Procedures*, 2014, pp. 28.
 9. Sharma M., Thiberts L., Chedore P. et al. A Canadian multi-center laboratory study for standardized second-line antimicrobial susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis*. *J. Clin. Microbiol.*, 2011, vol. 49, pp. 4112-4116.
 10. Siddiqi S.H., Rusch-Gerdes S. Operation guidelines for Bactec MGIT 960. 2006, pp. 7-15.
 11. WHO Global tuberculosis report. World Health Organization. Geneva, Switzerland 2014, pp. 73,
 12. World Health Organization. Global tuberculosis report 2012. Geneva, World Health Organization. 2012,
 13. World Health Organization. Guidelines for the programmatic management of drug-resistant tuberculosis. Geneva, WHO. 2008,
 14. World Health Organization. Policy guidance on drug-susceptibility testing (DST) of second-line antituberculosis drugs. Geneva, WHO, 2008.

ДЛЯ КОРРЕСПОНДЕНЦИИ:

Дюжак Елена Сергеевна
 ГБУЗ Владимирской области «Центр специализированной
 фтизиопульмонологической помощи»,
 600023, г. Владимир, Судогодское шоссе, д. 63,
 Тел.: 8 (4922) 32-32-65.

Поступила 06.07.2015