

Домотенко Л.В., Морозова Т.П., Шемякин И.Г., Шепелин А.П.

ОПЫТ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ТБ ТЕСТ-НАБОРА ДЛЯ УСКОРЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ *M. TUBERCULOSIS*

Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии Роспотребнадзора, 142279, п. Оболенск, Московская обл., Россия

Приведены результаты сравнительного тестирования чувствительности клинических штаммов *M. tuberculosis* к изониазиду, стрептомицину, рифампицину, этамбутолу с использованием разработанного в ГНЦ ПМБ (Оболенск) ТБ тест-набора и метода абсолютных концентраций; ТБ тест-набора и автоматизированной системы BACTEC MGIT 960. Тестированы 629 и 220 штаммов *M. tuberculosis*, соответственно. Показана высокая степень совпадения результатов: 89,1-98,6% для изониазида, 96,2-98,0% для рифампицина, 91,5-98,2% для стрептомицина, 89,1-95,9% для этамбутола. Наименьшее количество расхождений результатов получено при сравнении ТБ тест-набора и BACTEC MGIT 960.

Проведён анализ несовпадающих результатов методами пропорций, ПЦР-секвенирования, или повторного тестирования на новых сериях ТБ тест-набора и среды Левенштейна-Йенсена с противотуберкулёзными препаратами, после которого чувствительность, специфичность и эффективность ТБ тест-набора превысили 95% для всех противотуберкулёзных препаратов.

Время получения результатов с ТБ тест-набором (среднее 9,25-9,9 дней, диапазон от 8 до 13 дней) значительно короче, чем с использованием метода абсолютных концентраций (среднее 21-23 дней, диапазон от 20 до 28 дней) и соизмеримо с временем получения результатов с BACTEC MGIT 960 (среднее 7,2 дней, диапазон от 5 до 12 дней). ТБ тест-набор прост в использовании, не требует дорогостоящего оборудования и специальной подготовки персонала.

Ключевые слова: ТБ тест-набор; лекарственная чувствительность *M. tuberculosis*; изониазид; стрептомицин; рифампицин; этамбутол; метод абсолютных концентраций; нитратредуктазный метод; BACTEC MGIT 960.

Для цитирования: Домотенко Л.В., Морозова Т.П., Шемякин И.Г., Шепелин А.П. Опыт использования ТБ тест-набора для ускоренного определения лекарственной чувствительности *M. tuberculosis*. Клиническая лабораторная диагностика. 2020; 65 (2): 122-130. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2020-65-2-122-130>

Domotenko L. V., Morozova T.P., Shemyakin I.G., Shepelin A. P.

EXPERIENCE OF USING TB TEST KIT FOR THE RAPID DRUG SUSCEPTIBILITY TESTING OF *M. TUBERCULOSIS*

State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Obolensk, Moscow region, Russia

The results of the comparative testing of the susceptibility of *M. tuberculosis* clinical strains to isoniazid, streptomycin, rifampicin and ethambutol using the TB test kit, developed in SCRAMB, (Obolensk) and the absolute concentrations method; the TB test kit and the BACTEC MGIT 960 automated system are presented in the study. A total of 629 and 220 strains, respectively, were tested. A high degree of agreement of the results was shown: 89.1-98.6% for isoniazid, 96.2-98.0% for rifampicin, 91.5-98.2% for streptomycin and 89.1-95.9% for ethambutol. The smallest number of discrepancies in the results was obtained when comparing the TB test kit and BACTEC MGIT 960. The discrepant results analysis was performed by the proportion method, PCR sequencing, or re-testing on new lots of the TB test kit and Lowenstein-Jensen medium with anti-tuberculosis drugs, after which the sensitivity, the specificity and the efficiency of the TB test kit have exceeded 95 % for all anti-tuberculosis drugs.

The turnaround time with the TB test kit (median 9.25-9.9 days, ranged from 8 to 13 days) was significantly shorter than that with the absolute concentration method (median 21-23 days, ranged from 20 to 28 days) and is commensurate with the turnaround time with BACTEC MGIT 960 (average 7.2 days, ranged from 5 to 12 days).

The TB test kit is easy to use, does not require expensive equipment and special staff training.

Keywords: TB test kit; drug susceptibility testing of *M. tuberculosis*; isoniazid; streptomycin; rifampicin; ethambutol; the absolute concentration method; nitrate reductase assay; BACTEC MGIT 960.

For citation: Domotenko L. V., Morozova T.P., Shemyakin I.G., Shepelin A. P. Experience of using TB test kit for the rapid drug susceptibility testing of *M. tuberculosis*. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2020; 65 (2): 122-130. (in Russ.)

DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2020-65-2-122-130>

For correspondence: Domotenko L.V., Lied Researcher, Laboratory of Nutrient Medium Development; e-mail: domotenko@obolensk.org

Information about authors:

Domotenko L.V., <http://orcid.org/0000-0002-4785-6418>

Morozova T.P., <https://orcid.org/0000-0002-1891-9918>

Shemyakin I.G., <http://orcid.org/0000-0001-9667-1674>

Shepelin A.P., <http://orcid.org/0000-0002-8253-7527>

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgment. The study had no sponsorship.

Received 26.12.2019
Accepted 04.01.2020

Введение. Туберкулёз (ТБ) остается серьезной проблемой здравоохранения в мире. По оценкам Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) в 2018 г. в мире около 10 млн человек заболели туберкулёзом, умерли от данной болезни 1,2 млн ВИЧ-отрицательных и 251 000 ВИЧ-инфицированных людей [1]. Сохраняется угроза лекарственно-устойчивого туберкулёза. В 2018 г. зарегистрировано около полумиллиона новых случаев туберкулёза с устойчивостью к рифампицину (из которых 78% имели туберкулёз с множественной лекарственной устойчивостью). В мире 3,4% новых случаев туберкулёза и 18% ранее пролеченных случаев имели туберкулёз с множественной лекарственной устойчивостью или рифампицин-резистентный туберкулёз, причём самые высокие показатели (>50% в ранее пролеченных случаях) на постсоветском пространстве.

В Российской Федерации в 2018 г. зарегистрировано почти 64,7 тыс. новых случаев туберкулёза, показатель заболеваемости составил 44,06 на 100 тыс. населения, достигая в некоторых территориях очень высокого уровня: например, 187,56 (Чукотский автономный округ), 139,63 на 100 тыс. населения (Республика Тыва) [2]. В учреждениях уголовно-исполнительной системы показатель заболеваемости впервые выявленным туберкулёзом составил 856,41 на 100 тыс. человек.

Лечение лекарственно-устойчивого туберкулёза требует быстрой диагностики. Быстрое обнаружение лекарственной устойчивости является главной задачей для снижения риска распространения резистентных штаммов возбудителя. Общепринятые методы определения лекарственной чувствительности *M. tuberculosis*, такие как метод абсолютных концентраций, длительны и требуют 3-4 нед для получения результатов [3]. Автоматизированные системы, такие как ВАСТЕС MGIT 960 [4-5] и молекулярные тесты, такие как молекулярные биочипы, Xpert MTB/RIF и др. более быстрые и существенно ускоряют тестирование лекарственной чувствительности [6-9]. Современные коммерческие молекулярные тесты могут определять лишь определённое количество детерминант устойчивости и геномных областей, что ограничивает клиническую ценность анализов. Полное геномное секвенирование (WGS) может предоставить почти полную информацию о возбудителе, но затраты и проблемы интерпретации данных в настоящее время не позволяют широко его использовать в клинической практике [10].

ВОЗ одобрила использование новых экономически эффективных и быстрых методов определения лекарственной чувствительности для выявления больных с МЛУ-ТБ, среди них, нитратредуктазный метод (НРМ) [11]. В РФ нитратредуктазный метод (более известный как метод Грисса) известен давно [12] и рекомендован к использованию Методическими рекомендациями по совершенствованию диагностики и лечения туберкулёза органов дыхания¹, утвержденными приказом Минздрава Российской Федерации № 951 от 29 декабря 2014 г.

Принцип метода заключается в способности микобактерий туберкулёза восстанавливать нитраты в нитриты, что применяется при биохимической идентификации видов микобактерий. Присутствие нитратов легко выяв-

ляется специфическим реагентом (реактивом Грисса), взаимодействие которых даёт цветную реакцию. НРМ для определения лекарственной чувствительности *M. tuberculosis* представляет вариант метода абсолютных концентраций на среде Левенштейна-Йенсена, содержащей нитраты калия или натрия, но позволяющий получать результаты через 8-12 дней после посева культуры.

Показано хорошее совпадение результатов определения лекарственной чувствительности *M. tuberculosis* НРМ в сравнении с традиционными методами и отмечено, что НРМ является недорогим, довольно быстрым и легко выполнимым методом определения лекарственной чувствительности [13-15].

В ФБУН ГНЦ прикладной микробиологии и биотехнологии (Оболensk) разработана технология промышленного изготовления ряда препаратов, основанных на НРМ, для определения чувствительности микобактерий туберкулёза к препаратам 1 и 2 ряда, включая пиразинамид: ТБ тест-набор, PZA-тест и XDR-тест. Все препараты зарегистрированы как медицинские изделия и выпускаются промышленными сериями.

ТБ тест-набор предназначен для ускоренного определения лекарственной чувствительности и первичной идентификации *M. tuberculosis* (регистрационное удостоверение № 2007/03366). Определение лекарственной чувствительности с его помощью основано на обнаружении ингибирующего действия противотуберкулёзных препаратов первого ряда с помощью НРМ. ТБ тест-набор представляет собой комплект из восьми готовых к применению ячных питательных сред во флаконах, каждая из которых содержит один из препаратов в критических концентрациях – изониазид (1 мкг/мл), рифампицин (40 мкг/мл), стрептомицин (10 мкг/мл), этамбутол (2 мкг/мл), натрия салицилат (1000 мкг/мл), тиофенкарбосигидразид (ТКГ, 2 мкг/мл), два контрольных флакона со средой, не содержащей препараты. В состав набора входит реактив Грисса для учёта результатов, шприцы для посева и внесения реактива Грисса. ТБ тест-набор дополнительно укомплектован цветной шкалой для учёта результатов.

Цель исследования – сравнить результаты лекарственной чувствительности *M. tuberculosis*, полученные с использованием ТБ тест-набора, метода абсолютных концентраций и автоматизированной системы ВАСТЕС MGIT 960 в нескольких бактериологических лабораториях противотуберкулёзных учреждений.

Материал и методы. Биоэтические требования. Материалы, использованные в работе, не содержат персональных данных пациентов, т. к. полученные от них клинические изоляты промаркированы без указания фамилии, даты рождения, адреса проживания, номера истории болезни, личных документов и других именных материалов. В соответствии с требованиями биоэтического комитета Российской Федерации, каждый пациент при поступлении в клинику заключал договор с лечебным учреждением, содержащий согласие на проведение лечения и лабораторного обследования.

Штаммы. В испытаниях исследованы свежевыделенные штаммы из клинических образцов (мокрота, промывные воды бронхов, моча), полученных от впервые выявленных и ранее лечившихся больных с различными формами туберкулёза в учреждениях, в которых проходили испытания.

Дизайн исследования. Испытания проводили в трёх бактериологических лабораториях противотуберку-

Приказ Минздрава РФ от 29.12. 2014 г. № 951 «Об утверждении методических рекомендаций по совершенствованию диагностики и лечения туберкулёза органов дыхания».

лѐзных учреждений (Новосибирском научно-исследовательском институте туберкулѐза (лаборатория № 1), Тульском областном противотуберкулѐзном диспансере (лаборатория № 2), Московском городском научно-практическом центре борьбы с туберкулѐзом (Лаборатория № 3) в равнозначных условиях при одновременном анализе штаммов с использованием ТБ тест-набора и метода абсолютных концентраций. В одной из лабораторий лекарственную чувствительность изолятов определяли параллельно с использованием ТБ тест-набора, метода абсолютных концентраций и автоматического анализатора ВАСТЕС MGIT 960.

В 1-й лаборатории проанализировано 198 изолятов, во 2-й – 211, в 3-ей – 220 изолятов *M. tuberculosis*. В ходе испытаний определена их чувствительность к изониазиду, рифампицину, стрептомицину, этамбутолу.

Методика определения лекарственной чувствительности *M. tuberculosis*. Бактериальные суспензии для проведения испытаний готовили суспендированием изолятов в 0,3 мл 0,2%-ного стерильного раствора твина-80 в 10-мл пробирках на Vortex со стеклянными бурами диаметром 1 мм. Мутность суспензий доводили до 5 ЕД по стандартному образцу мутности ОСО-42-28-86 П, содержащем примерно 5×10^8 микробных клеток в 1 мл, и затем разводили 1:10 стерильным 0,9%-ным раствором натрия хлорида.

При определении лекарственной чувствительности *M. tuberculosis* с использованием ТБ тест-набора по 0,2 мл суспензии каждого изолята *M. tuberculosis* инокулировали в каждый флакон ТБ тест-набора с помощью шприца путѐм прокалывания резиновой пробки или с помощью пипетки. Перед посевом пипеткой все флаконы ТБ тест-набора, содержащие питательные среды, вскрывали, удаляя алюминиевые колпачки, и заменяли резиновые пробки на стерильные конические медицинские пробки. Засеянные флаконы укладывали в наклонном положении в упаковочную коробку, которую затем помещали в термостат при температуре $(36 \pm 1)^\circ \text{C}$. Через 8 сут инкубации добавляли 0,5 мл 7,5%-ного раствора реактива Грисса, приготовленный из сухого реактива, в один из двух контрольных флаконов. В случае появления в нём интенсивной розовой или красной окраски (не менее 3+ по цветовой шкале) вносили по 0,5 мл 7,5%-ного раствора реактива Грисса во все оставшиеся флаконы и проводили визуальный учѐт результатов по появлению окраски. Если в контрольном флаконе окраска меньше чем 3+, этот флакон уничтожали, остальные продолжали инкубировать до 10-12 сут, затем вносили раствор реактива Грисса в оставшиеся флаконы и проводили учѐт результатов по наличию окраски.

Культура считалась чувствительной к конкретному противотуберкулѐзному препарату, если во флаконе с лекарственным препаратом не наблюдалось появления окраски (при интенсивной окраске в контрольном флаконе). Культура считалась устойчивой при появлении окраски (от 1+ до 5+) во флаконе с противотуберкулѐзным препаратом. Положительным контролем окраски при анализе *M. tuberculosis* служил флакон с ТКГ, в котором происходило появление красной или розовой окраски; отрицательным контролем – флакон с салицилатом натрия, в котором красная или розовая окраска не появлялась. Схема проведения анализа лекарственной чувствительности *M. tuberculosis* с использованием ТБ тест-набора представлена на рисунке.

Определение лекарственной чувствительности изолятов *M. tuberculosis* методом абсолютных концентра-

ций проводили на среде Левенштейна-Йенсена, содержащей противотуберкулѐзные препараты, которую готовили в каждой лаборатории самостоятельно в соответствии с требованиями Приложения № 11 к Приказу Минздрава РФ от 21.03.03 № 109².

Анализ результатов. При анализе результатов оценивали диагностические характеристики ТБ тест-набора: чувствительность (способность определять истинную лекарственную устойчивость), специфичность (способность определять истинную лекарственную чувствительность), эффективность (доля правильных результатов к общему числу результатов) [16]. Диагностические характеристики определены в каждой лаборатории для каждого из четырёх противотуберкулѐзных препаратов отдельно.

Анализ несовпадающих результатов проводили с использованием метода пропорций – «золотого стандарта» в определении лекарственной чувствительности *M. tuberculosis* [17] – на среде Миддлбрука 7H10 (BD Difco, Кат. № 262710) с добавкой OADC (BD BBL, Кат. № 211886) и глицерина (ГОСТ 6824-96). В лаборатории № 2 лекарственную чувствительность изолятов с несовпадающими результатами повторно тестировали с использованием новых серий ТБ тест-набора и среды Левенштейна-Йенсена с противотуберкулѐзными препаратами. Устойчивость культур с несовпадающими результатами к изониазиду, рифампицину, стрептомицину, этамбутолу подтверждали наличием мутаций в генах *katG*; *rpoB*; *rpsL* и *16SrRNA*; *embB*, соответственно, методом ПЦР-секвенирования [18].

Результаты. Характеристика культур. Используемые для сравнительных испытаний 629 изолятов *M. tuberculosis* имели различный спектр лекарственной устойчивости. 32,4% ($n=204$) из них являлись чувствительными. Устойчивость к изониазиду обнаружена у 54,4% ($n=342$), рифампицину у 40,9% ($n=257$), стрептомицину у 54,2% ($n=341$), этамбутолу у 26,3% ($n=167$) изолятов.

Сравнение результатов определения лекарственной чувствительности. В результате проведѐнного исследования получен высокий процент совпадения результатов. В первой лаборатории при тестировании 198 изолятов *M. tuberculosis* обнаружено, что спектр чувствительности к четырѐм противотуберкулѐзным препаратам, определѐнный с использованием ТБ тест-набора и методом абсолютных концентраций совпадал для 182 изолятов, т. е. в 91,9% случаев. Для изониазида результаты совпадали в 98,5% ($n=195$) случаев, для рифампицина – в 98,0% ($n=194$), для стрептомицина – в 97,4% ($n=193$), для этамбутола – в 94,9% случаев ($n=188$). Диагностические характеристики ТБ тест-набора, полученные в ходе испытаний в данной лаборатории, приведены в табл. 1.

Как следует из табл. 1, в лаборатории № 1 чувствительность ТБ тест-набора составила 97,5% для изониазида, 94,9% для рифампицина, 96,9% для стрептомицина, 94,9% для этамбутола; специфичность для изониазида и рифампицина – 100%, для стрептомицина – 98,6% и для этамбутола – 95,1%.

Время, затраченное на определение лекарственной чувствительности *M. tuberculosis* с помощью ТБ тест-набора в данной лаборатории, составило 9,89 сут (диапазон 8-13), методом абсолютных концентраций – 21 сут (табл. 2).

²Приказ МЗ РФ от 21.03.03 № 109 «О совершенствовании противотуберкулѐзных мероприятий в Российской Федерации».

В ходе тестирования выявлено 16 изолятов с несопадающими результатами хотя бы к одному из четырёх противотуберкулёзных препаратов. При дальнейшем субкультивировании на среде Левенштейна-Йенсена 5 изолятов оказались контаминированы. Поэтому анализ несопадающих результатов выполнен методом пропорций для 11 изолятов (всего $n=16$ тестов). Результаты анализа, полученные методом пропорций и ПЦР-секвенирования, представлены в табл. 3.

Результаты определения лекарственной чувствительности методом пропорций для четырёх изолятов *M. tuberculosis* (76, 228, 272, 440) совпали с первоначальными результатами, полученными на ТБ тест-наборе, для остальных изолятов *M. tuberculosis* – с результатами, полученными методом абсолютных концентраций (табл.2). Результаты определения устойчивости к изониазиду, рифампицину, стрептомицину дополнительно подтверждены наличием мутаций в генах *katG*, *rpoB*, *rpsL* и *16SrRNA*, соответственно. У изолятов, устойчивых к этамбутолу, равно как и у чувствительных изолятов к данному препарату, выявлены мутации в кодоне 306 *embB* гена. Мутации в указанном кодоне встречаются с равной вероятностью у устойчивых и у чувствительных к этамбутолу штаммов, и не могут быть маркером устойчивости к этамбутолу [19]. Окончательный вывод о лекарственной чувствительности изолятов с несопадающими результатами сделан на основании данных метода пропорций.

С учётом полученных данных при анализе несопадающих результатов заново определена точность определения лекарственной чувствительности с помощью ТБ тест-набора в сравнении с методом абсолютных концентраций (табл. 4). Для изониазида и стрептомицина результаты не изменились. Для рифампицина значение чувствительности возросло с 94,9% до 97,4%, эффективности – с 98,4% до 99,0%. Значение специфичности не изменилось и сохранилась на уровне 100%. Для этамбутола значения всех параметров возросли; так, значение чувствительности увеличилось до 97,5%, специфичности – до 96,6%, эффективности – 97,0%.

При проведении испытаний в лаборатории № 2 посев 211 анализируемых культур во флаконы ТБ тест-набора осуществляли с помощью пипетки. При данной технике посева в процессе инкубации иногда выскакивали пробки из флаконов, нарушалась герметичность, что вело к подсыханию среды или контаминации посевов.

В процессе испытаний выполнено 844 тестов по определению чувствительности каждого изолята к четырём противотуберкулёжным препаратам. Полное совпадение результатов получено в 772 (91,5%) тестах. Диагностические характеристики ТБ тест-набора представлены в табл. 1.

Время получения результатов лекарственной чувствительности тестируемых изолятов во второй лаборатории составило в среднем 9,25 сут (диапазон 8-13),

метод абсолютных концентраций обеспечивал получение результатов в среднем через 23,0 сут (см.табл. 2).

Из 211 культур результаты лекарственной чувствительности, полученные с использованием ТБ тест-набора и метода абсолютных концентраций, не совпали для 50 изолятов. Все 50 изолятов повторно тестированы с использованием новых серий ТБ тест-набора и среды Левенштейна-Йенсена с противотуберкулёжными препаратами. Результаты повторного тестирования лекарственной чувствительности данных изолятов представлены в табл. 5.

Два изолята контаминированы при переконтроле, и их лекарственная чувствительность не уточнена. Для 29 изолятов спектр лекарственной чувствительности совпал с первоначальным, полученным на ТБ тест-наборе, для 16 изолятов – с первоначальными данными, полученными методом абсолютных концентраций. Для трёх изолятов *M. tuberculosis* (№ 1711, 3273, 4516) новые данные, полученные с использованием ТБ тест-набора и метода абсолютных концентраций, не совпали между собой, но повторили первоначальные результаты каждого метода. Расхождения результатов для данных изолятов связаны с устойчивостью к стрептомицину. У указанных изолятов определяли наличие мутаций в ге-

Таблица 1

Диагностические характеристики ТБ тест-набора в сравнении с методом абсолютных концентраций и ВАСТЕС MGIT 960

Лаборатория	Чувствительность, %	Специфичность, %	Эффективность, %
Изониазид			
Лаборатория № 1	97,5	100	98,5
Лаборатория № 2	93,9	85,0	89,1
Лаборатория № 3	99,3	97,6	98,6
ВАСТЕС MGIT 960	97,9	100	98,6
Рифампицин			
Лаборатория № 1	94,9	100	98,0
Лаборатория № 2	92,9	98,4	96,2
Лаборатория № 3	96,9	96,7	97,3
ВАСТЕС MGIT 960	96,9	98,4	97,7
Стрептомицин			
Лаборатория № 1	96,9	98,6	97,4
Лаборатория № 2	87,6	97,2	91,5
Лаборатория № 3	96,8	96,8	97,4
ВАСТЕС MGIT 960	97,7	98,9	98,2
Этамбутол			
Лаборатория № 1	94,9	95,1	94,9
Лаборатория № 2	73,4	95,9	89,1
Лаборатория № 3	97,9	88,1	90,5
ВАСТЕС MGIT 960	98,4	95,0	95,9

Таблица 2

Время (в сутках) получения результатов лекарственной чувствительности изолятов *M. tuberculosis* в ходе испытаний

Лаборатория	ТБ тест-набор		Метод абсолютных концентраций		ВАСТЕС MGIT 960	
	Среднее значение	Диапазон	Среднее значение	Диапазон	Среднее значение	Диапазон
Лаборатория № 1	9,89	8-13	21,0	20-23	-	-
Лаборатория № 2	9,25	8-13	23,0	21-28	-	-
Лаборатория № 3	9,9	8-15	21,6	21-28	7,2	5-12

Результаты анализа несовпадающих результатов в лаборатории 1

ПТП	Штамм <i>M. tuberculosis</i>	Первоначальные результаты		Анализ несовпадающих результатов		Статус изолята после анализа несовпадающих результатов
		ТБ тест-набор	МАК	Метод пропорций	ПЦР-секвенирование	
Изониазид	177	S*	R**	R	<i>katG</i> - 315 AGC	R
	275	S	R	R	<i>katG</i> - 315 AGC	R
Рифампицин	76	S	R	S	<i>rpoB</i> - WT***	S
	272	S	R	S	<i>rpoB</i> - WT	S
Стрептомицин	178	S	R	R	<i>rpoB</i> - 531 TCG	R
	223	R	S	S	<i>rpsL</i> - WT, <i>16SrRNA</i> - WT	S
Этамбутол	116	S	R	R	<i>rpsL</i> - WT, <i>16SrRNA</i> - 516 C	R
	178	S	R	R	<i>rpsL</i> - 43 AAG, <i>16SrRNA</i> - WT	R
	275	S	R	R	<i>rpsL</i> - WT, <i>16SrRNA</i> - WT	R
Этамбутол	114	S	R	R	<i>embB</i> - 306ATG	R
	177	S	R	S	<i>embB</i> - WT	S
	178	S	R	R	<i>embB</i> - 306 ATG	R
	223	R	S	R	<i>embB</i> - 306 ATG	R
	228	R	S	R	<i>embB</i> - WT	R
	440	S	R	S	<i>embB</i> - WT	S
	441	R	S	S	<i>embB</i> - WT	S

Примечание. ПТП – противотуберкулезный препарат; S* – чувствительный; R** – устойчивый; WT*** – дикий тип.

Таблица 4

Точность определения лекарственной чувствительности с помощью ТБ тест-набора после анализа несовпадающих результатов

Лаборатория	Чувствительность, %	Специфичность, %	Эффективность, %
Изониазид			
Лаборатория № 1	97,5	100	98,5
Лаборатория № 2	98,3	99,0	98,6
Лаборатория № 3	99,8	98,8	99,5
Рифампицин			
Лаборатория № 1	97,4	100	99,0
Лаборатория № 2	97,7	100	99,1
Лаборатория № 3	98,0	100	100
Стрептомицин			
Лаборатория № 1	96,9	98,6	97,4
Лаборатория № 2	95,1	100	97,3
Лаборатория № 3	97,6	100	98,0
Этамбутол			
Лаборатория № 1	97,5	96,6	97,0
Лаборатория № 2	96,8	100	99,1
Лаборатория № 3	98,6	100	99,5

нах *16SrRNA* и *rpsL*, ответственных за устойчивость к стрептомицину. ПЦР-секвенирование не выявило мутаций ни в гене *16S rRNA*, ни в гене *rpsL*. Учитывая полученные данные и ошибки при проведении внешнего контроля качества в данной лаборатории, связанные с ложной устойчивостью к стрептомицину, решено считать все три штамма чувствительными к стрептомицину, что подтверждает результаты, полученные с использованием ТБ тест-набора.

После анализа несовпадающих результатов, снова определена точность определения лекарственной чув-

ствительности с помощью ТБ тест-набора в сравнении с методом абсолютных концентраций (см. табл. 4). После проведения анализа несовпадающих результатов все сравнительные оценочные параметры изменились. Чувствительность ТБ тест-набора увеличилась для изониазида – с 92 до 98,3%; для рифампицина – с 91,9 до 97,7%; для стрептомицина – с 86,2 до 95,1%; для этамбутола – с 71,2 до 96,8%. Значения специфичности возросли для изониазида – с 85,8 до 99,0%; для рифампицина – с 98,5 до 100%; для стрептомицина – с 96,9 до 100%; для этамбутола – с 96,8 до 100%.

В лаборатории № 3 в испытаниях использованы 220 изолятов *M. tuberculosis*. Чувствительность ТБ тест-набора для изониазида составила 99,3%, для рифампицина – 96,9%, для стрептомицина – 96,8%, для этамбутола – 97,3%. Специфичность ТБ тест-набора составила для изониазида – 97,6%, для рифампицина – 97,6%, для стрептомицина – 96,8%, для этамбутола – 81,7%. Эффективность составила для изониазида – 98,6%, для рифампицина – 97,3%, для стрептомицина – 97,4%, для этамбутола – 84,5% (см. табл. 1).

Время получения результатов лекарственной чувствительности тестируемых изолятов в лаборатории № 3 составило в среднем 9,9 сут (диапазон 8-15), в то время как метод абсолютных концентраций обеспечивал получение результатов в среднем через 21,6 сут (см. табл. 2).

При анализе результатов обнаружен 41 изолят с несовпадающими результатами. Из них, для изониазида (H) всего 3 изолята имели несовпадающие результаты: два изолята определены как H-устойчивые при исследовании с помощью ТБ тест-набора, но как H-чувствительные методом абсолютных концентраций. Один изолят дифференцирован как H-чувствительный на ТБ тест-наборе, а метод абсолютных концентраций классифицировал его как H-устойчивый. По рифампицину (R) результаты различались для 6 изолятов: ТБ тест-набор выявил три изолята как R-чувствительные, а МАК – как R-устойчивые. Три изолята определены с помощью ТБ

Таблица 5

Результаты анализа несовпадающих результатов лекарственной чувствительности изолятов *M. tuberculosis* в лаборатории № 2

Изолят <i>M. tuberculosis</i>	Результат на ТБ тест-наборе		Результат, полученный методом абсолютных концентраций		Окончательный статус изолятов
	Первичный	Повторное тестирование	Первичный	Повторное тестирование	
672	HSE	HSE	Чувств.	HSE	HSE
708	HRSE	HRSE	RSE	HRSE	HRSE
802	S	HS	HS	HS	HS
1416	HRSE	HRSE	RSE	HRSE	HRSE
1505	И	HRSE	HRSE	HRSE	HRSE
1816	HRS	HRSE	HRSE	HRSE	HRSE
1824	HRS	HRS	RS	HRS	HRS
1917	HRS	HRS	HRSE	HRS	HRS
1950	HSE	HSE	HRSE	HSE	HSE
2108	HRS	HRS	HRSE	HRS	HRS
2152	Чувств.	Чувств.	S	Чувств.	Чувств.
2167	Н	Контаминация	R	Контаминация	Нет данных
2290	HRE	Контаминация	HRSE	Контаминация	Нет данных
2333	Н	Н	HRS	Н	Н
2402	Чувств.	Чувств.	S	Чувств.	Чувств.
2557	HRS	HRS	RS	HRS	HRS
2566	HRSE	HRSE	RS	HRSE	HRSE
2645	HRSE	HRSE	RSE	HRSE	HRSE
4718	Чувств.	HSE	HSE	HSE	HSE
6341	Чувств.	HSE	HSE	HSE	HSE
1078	HRE	HRE	Чувств.	HRE	HRE
1088	Чувств.	HRSE	HRSE	HRSE	HRSE
1284	RSE	HRSE	HRSE	HRSE	HRSE
1602	HR	HR	HRS	HR	HR
1711	Чувств.	Чувств.	S	S	Не определен
1728	HSE	HRSE	HRSE	HRSE	HRSE
3072	S	S	SE	SE	S
3173	HRS	HRS	HRSE	HRS	HRS
3253	Чувств.	HSE	HSE	HSE	HSE
3260	HRSE	HRSE	HRS	HRSE	HRSE
3273	Чувств.	Чувств.	S	S	Не определен
3329	HSE	HSE	S	HSE	HSE
3415	S	Чувств.	Чувств.	Чувств.	Чувств.
3458	HRE	HRSE	HRSE	HRSE	HRSE
3497	RSE	RS	RS	RS	RS
3651	HRS	HRS	HRSE	HRS	HRS
3715	HRS	HRSE	HRSE	HRSE	HRSE
3721	HRS	HRS	HRSE	HRS	HRS
3786	HS	HS	HSE	HS	HS
3846	HRSE	HRSE	RSE	HRSE	HRSE
3873	HRS	HRSE	HRSE	HRSE	HRSE
3879	HRS	HRSE	HRSE	HRSE	HRSE
4126	Н	Н	Чувств.	Н	Н
4179	HRS	HRS	RS	HRS	HRS
4429	Чувств.	Чувств.	S	Чувств.	Чувств.
4509	Н	Н	Чувств.	Н	Н
4516	HR	HR	HRS	HRS	Не определен
4519	Н	Н	Чувств.	Н	Н
4524	HRE	HRE	RE	HRE	HRE
4777	HRS	HRS	HRSE	HRS	HRS

Примечание. Н – устойчивость к изониазиду, R – рифампицину, S – стрептомицину, E – этамбутолу. Чувств. – чувствительный изолят.

тест-набора как R-устойчивые, а методом абсолютных концентраций как R-чувствительные. По стрептомицину (S) различались результаты для 7 изолятов: четыре изолята были S-чувствительными на ТБ тест-наборе, а S-устойчивыми при анализе методом абсолютных концентраций. Три изолята были S-устойчивыми на ТБ тест-наборе, а S-чувствительными при анализе методом абсолютных концентраций. По этамбутолу (E) результаты различались для 21 изолята: Из них только один изолят определен как E-чувствительный на ТБ тест-наборе и как E-устойчивый при тестировании методом абсолютных концентраций. Оставшиеся 20 изолятов протестированы как E-устойчивые с помощью ТБ тест-набора и как E-чувствительные с помощью метода абсолютных концентраций (табл. 6).

Все изоляты с несоответствующими результатами субкультивированы на среде Левенштейна-Йенсена. В процессе субкультивирования 2 изолята (8500 и 17036) оказались контаминированы. Остальные изоляты в процессе проведения анализа несоответствующих результатов методом пропорций на агаре Миддлбрука 7Н10 и методом ПЦР-секвенирования показали следующие результаты. Для изолятов с несоответствиями по изониазиду: изолят № 1901 определен как устойчивый методом пропорций, что совпадало с первоначальным результатом на ТБ тест-наборе. Изолят № 32292 показал результаты, совпадающие с методом абсолютных концентраций, т. е. при тестировании методом пропорций выявлена устойчивость к изониазиду. При ПЦР-секвенировании *katG* генов обоих изолятов обнаружены мутации в 315 кодоне.

При тестировании методом пропорций четырех изолятов с несоответствующими результатами по рифампицину получены результаты, совпадающие с первоначальными результатами на ТБ тест-наборе: № 30228, 1901, 3803 R-устойчивые, изолят № 3967 – R-чувствительный. Два изолята № 30232 и 32292 дали результаты, совпада-

ющие с первоначальными результатами, полученными методом абсолютных концентраций: они определены как R-устойчивые. Полученные результаты подтверждены данными ПЦР-секвенирования. R-устойчивые изоляты № 30228, 30232, 1901, 3803 и 32292 имели мутации в *rpoB* гене. Изолят № 3967 не имел мутаций в гене *rpoB* и определен как R-чувствительный при анализе методом пропорций.

Анализ изолятов с несоответствующими результатами по стрептомицину дал следующие результаты: данные для изолятов № 22337, 1901, 7908, 377 совпали с первоначальными результатами, полученными на ТБ тест-наборе. Результаты ЛЧ изолятов № 4744 и 32292 совпали с первоначальными, полученными методом абсолютных концентраций. При ПЦР-секвенировании S-устойчивых изолятов № 22337, 4744, 377 и 32292 определены мутации 43 AGG в гене *rpsL*. В S-устойчивом изоляте № 1901 и в изоляте № 7908 не выявлены мутации, ответственные за устойчивость к стрептомицину.

При проведении испытаний наибольшее количество расхождений ($n=21$) наблюдали при определении чувствительности к этамбутолу. 20 изолятов устойчивы к этамбутолу при анализе с помощью ТБ тест-набора и чувствительны к этамбутолу при тестировании методом абсолютных концентраций. Фенотипическое определение чувствительности к этамбутолу является несовершенным, особенно для изолятов с мутациями в гене *embB*, что ведёт к невысокому проценту совпадения результатов при сравнительных испытаниях [20, 21]. При анализе изолятов методом пропорций 20 изолятов подтвердили первоначальные данные ТБ тест-набора; для изолята № 26738 ($n=1$) получены данные, совпадающие с первоначальными результатами метода абсолютных концентраций. ПЦР-секвенирование обнаружило мутации у 12 изолятов № 360, 364, 365, 368, 377, 1752, 2318, 3677, 4023, 4733, 4744, 29795 в гене *embB* в положении 406. Мутации в данном положении встреча-

Таблица 6

Несоответствующие результаты определения лекарственной чувствительности *M. tuberculosis* в лаборатории № 3

ПТП (число несоответствий)	Штамм <i>M. tuberculosis</i>	ТБ тест-набор	Метод абсолютных концентраций	Метод пропорций	ПЦР секвенирование
Изониазид ($n=3$)	17036	R	S	Контаминация	Не анализировали
	1901	R	S		
	32292	S	R		
Рифампицин ($n=6$)	1901	R	S	R	<i>katG</i> 315 AGC
	3803	R	S	R	<i>katG</i> 315 ACC
	30228	R	S	R	<i>rpoB</i> 531 TTG
	3967	S	R	S	<i>rpoB</i> 531 TCG
	30232	S	R	R	<i>rpoB</i> – нет мутаций
	32292	S	R	R	<i>rpoB</i> 516 GTC
Стрептомицин ($n=7$)	22337	R	S	R	<i>rpoB</i> - нет мутаций
	1901	R	S	R	<i>rpsL</i> - 43 AGG
	7908	S	R	S	<i>rpsL</i> – нет мутаций
	377	R	S	R	<i>rpsL</i> - 43 AGG
	4744	S	R	R	<i>rpsL</i> - 43 AGG
	32292	S	R	R	<i>rpsL</i> - 43 AGG
	8500	S	R	R	<i>rpsL</i> - 43 AGG
Этамбутол ($n=34$)	26738 ($n=1$)	S	R	Контаминация	Не анализировали
	360, 364, 365, 368, 377, 1752, 2318, 3677, 4023, 4733, 4744, 29795 ($n=12$)	Все R ($n=20$)	Все S ($n=20$)	R ($n=12$)	<i>embB</i> - Нет мутаций <i>emb</i> 406 GGC ($n=12$)
	1767, 2213, 2237, 3145, 3803, 4530, 22337, 26877, ($n=8$)			R ($n=8$)	<i>embB</i> 306 ATG ($n=8$)

ются только у культур, устойчивых к этамбутолу. У 8 изолятов № 1767, 2213, 2237, 3145, 3803, 4530, 22337, 26877 мутации выявлены в 306 кодоне. Данный тип мутаций встречается у устойчивых и чувствительных к этамбутолу штаммов *M. tuberculosis* [19].

Окончательный статус изолятов принят по данным метода пропорций. Точность определения лекарственной чувствительности изолятов *M. tuberculosis* с помощью ТБ тест-набора в лаборатории № 3 после анализа несовпадающих результатов изменилась: чувствительность ТБ тест-набора увеличилась для изониазида – с 99,3 до 99,8%; для рифампицина – с 96,9 до 98%; для стрептомицина – с 96,8 до 97,6%; для этамбутола – с 97,9 до 98,6%. Значения специфичности возросли для изониазида – с 97,6 до 98,8%; для рифампицина – с 97,6 до 100%; для стрептомицина – с 96,8 до 100%; для этамбутола – с 88,1 до 100%. Эффективность достигла 99,5% для изониазида, 99,1% для рифампицина, 98,0% для стрептомицина, 99,5% для этамбутола.

Сравнение ТБ тест-набора и ВАСТЕС 960 MGIT. В лаборатории № 3 результаты определения лекарственной чувствительности 220 изолятов *M. tuberculosis*, полученные с использованием ТБ тест-набора, сравнивали с результатами ВАСТЕС MGIT 960. Чувствительность ТБ тест-набора для изониазида составила 97,9%, для рифампицина – 96,9%, для стрептомицина – 97,7%, для этамбутола – 98,4%. Специфичность ТБ тест-набора составила для изониазида – 100%, для рифампицина – 98,4%, для стрептомицина – 98,9%, для этамбутола – 95,1%. Эффективность – для изониазида – 98,6%, для рифампицина – 97,7%, для стрептомицина – 98,2%, для этамбутола – 95,9% (см. табл. 1).

Время получения результатов лекарственной чувствительности тестируемых изолятов составило на ТБ тест-наборе в среднем 9,9 сут (диапазон 8-15). ВАСТЕС MGIT 960 давал результаты через 7,2 сут (диапазон 5-12 сут) (см. табл. 2).

Обсуждение. Испытания разработанного в ФБУН ГНЦ ПМБ ТБ тест-набора в сравнении с методом абсолютных концентраций и автоматизированной системой ВАСТЕС MGIT 960 продемонстрировали высокую степень совпадений полученных результатов тестирования чувствительности *M. tuberculosis* к противотуберкулёзным препаратам 1 ряда: изониазиду, рифампицину, стрептомицину, этамбутолу. Показатели эффективности ТБ тест-набора (чувствительность, специфичность, эффективность) относительно метода абсолютных концентраций в лабораториях № 1 и № 3 выше, чем в лаборатории № 2, возможно, из-за альтернативной техники посева. При сравнении ТБ тест-набора и ВАСТЕС MGIT 960 оценочные показатели превышали 95%. Результаты, полученные с коммерческим ТБ тест-набором, не уступают результатам нитратредуктазного метода, испытанного в нескольких международных лабораториях при определении чувствительности *M. tuberculosis* [22].

После проведения анализа несовпадающих результатов практически все показатели во всех трёх лабораториях превышали 95%, что соответствует требованиям ВОЗ, предъявляемым к новым анализам *M. tuberculosis* (чувствительность должна быть не менее 90% и специфичность – 95%) [23].

Время получения результатов с ТБ тест-набором короче, чем с использованием метода абсолютных концентраций и соизмеримо со временем получения резуль-

татов с ВАСТЕС MGIT 960. ТБ тест-набор прост в использовании, не требует дорогостоящего оборудования и специальной подготовки персонала.

Благодарности. Авторы выражают искреннюю признательность Чередниченко А.В., Левачевой В.А., Дорожкой И.Р. за помощь в проведении исследований.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Работа выполнена в рамках отраслевой программы Роспотребнадзора.

ЛИТЕРАТУРА (1, 3, 5, 7-11, 13-23 см. REFERENCES)

2. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2018 году: Государственный доклад. М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека; 2019. 254 с. Available at: https://www.rosпотребнадзор.ru/upload/iblock/798/gosudarstvennyy-doklad-o-sostoyanii-sanitarno_epidemiologicheskogo-blagopoluchiyu-naseleniya-v-rossiyskoy-federatsii-v-2018-godu.pdf.
4. Иртуганова О.А., Смирнова Н.С., Мороз А.М., Литвинов В.И. Ускоренная культуральная диагностика туберкулёза с использованием автоматизированных систем ВАСТЕС MGIT 960 и MB/VacT. *Проблемы туберкулёза*. 2002; 1: 58-62.
6. Беспятых Ю.А., Шитиков Е.А., Зименков Д.В., Кулагина Е.В., Грядун Д.А., Носова Е.Ю. и др. Определение лекарственной устойчивости и генотипирование клинических штаммов *Mycobacterium tuberculosis* при помощи экспериментального набора «ТБ-ТЕСТ». *Пульмонология*. 2013; 4: 77-81.
12. Гольшевская В.И., Смирнова Н.С., Иртуганова О.А., Домотенко Л.В. Сравнение нитратредуктазного и автоматизированного ВАСТЕС MGIT 960 AST методов определения лекарственной чувствительности микобактерий туберкулёза. *Проблемы туберкулёза и болезней лёгких*. 2003; 8: 34-7.

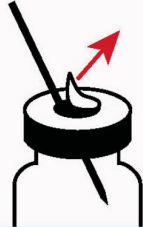
REFERENCES

1. Global tuberculosis report 2019. World Health Organisation. 2019. 283 p. Available at: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/329368/9789241565714-eng.pdf?ua=1&ua=1>.
2. On the state of the sanitary-epidemiological well-being of the population in the Russian Federation in 2018: State report. Moscow: Rosпотребнадзор; 2019. 254 Available at: https://www.rosпотребнадзор.ru/upload/iblock/798/gosudarstvennyy-doklad-o-sostoyanii-sanitarno_epidemiologicheskogo-blagopoluchiyu-naseleniya-v-rossiyskoy-federatsii-v-2018-godu.pdf. (in Russian)
3. Canetti G., Fox W., Khomenko A., Mahler H. T., Menon N. K., Mitchison D. A. et al. Advances in techniques of testing mycobacterial drug sensitivity, and the use of sensitivity tests in tuberculosis control programs. *Bull. WHO*. 1969; 41: 21-43.
4. Irtuganova O.A., Smirnova N.S., Moroz A.M., Litvinov V.I. Accelerated culture diagnosis of tuberculosis using the automated systems BACTEC MGIT 960 and MB/VacT. *Problemy tuberkuleza*. 2002; 1: 58-62. (in Russian)
5. Grace Lin S.-Y. G., Desmond E., Bonato D., Gross W., Siddiqi S. Multicenter Evaluation of BACTEC MGIT 960 System for Second-Line Drug Susceptibility Testing of Mycobacterium tuberculosis Complex. *J. Clin. Microbiol.* 2009; 47 (11): 3630-4.
6. Bespyatykh Yu.A., Shitikov E.A., Zimenkov D.V., Kulagina E.V., Gryadunov D.A., Nosova E.Yu. et al. Determination of drug resistance and genotyping of clinical strains of Mycobacterium tuberculosis with the experimental set of «TB-TEST». *Pul'monologiya*. 2013; 4: 77-81. (in Russian)
7. Lawn S.D., Mwaba P., Bates M., Piatek A., Alexander H., Marais B.J. et al. Advances in tuberculosis diagnostics: the Xpert MTB/RIF assay and future prospects for a point-of-care test. *Lancet Infect. Dis.* 2013; 13 (4): 349-61.
8. Iram S., Zeenat A., Hussain S., Yusuf N.W., Aslam M. Rapid diagnosis of tuberculosis using Xpert MTB/RIF assay - Report from a developing country. *Pak. J. Med. Sci.* 2015; 31(1): 105-10.

9. Fradejas I., Ontañón B., Muñoz-Gallego I., Ramírez-Vela M.J., López-Roa P. The value of Xpert MTB/RIF-generated CT values for predicting the smear status of patients with pulmonary tuberculosis. *Journal of Clinical Tuberculosis and Other Mycobacterial Diseases*. 2018; 13 (12): 9-12.
10. Miotto P, Tessema B, Tagliani E, et al. A standardised method for interpreting the association between mutations and phenotypic drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. *Eur. Respir. J.* 2017; 50: 1701354.
11. World Health Organization. Noncommercial culture and drug susceptibility testing methods for screening patients at risk for multi-drug-resistant tuberculosis. 2011. World Health Organization, Geneva, Switzerland. Available at: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/44601/9789241501620_eng.pdf?sequence=1.
12. Golyshevskaya V.I., Smirnova N.S., Irtuganova O.A., Domotenko L.V. Comparison of nitrate reductase assay and BACTEC MGIT 960 AST for the drug susceptibility testing of *M. tuberculosis*. *Problemy tuberkuleza i bolezney legkikh*. 2003; 8: 34-7. (in Russian)
13. Angeby K. A., Klintz L., Hoffner S. E. Rapid and Inexpensive Drug Susceptibility Testing of *Mycobacterium tuberculosis* with a Nitrate Reductase Assay. *J. Clin. Microbiol.* 2002; 40 (2): 553-5.
14. Affolabi D., Odoun M., Martin A., Palomino J.C., Anagonou S., Porataels F. Evaluation of Direct detection of *Mycobacterium tuberculosis* Rifampin Resistance by Nitrate Reductase Assay Applied to Sputum Samples in Cotonou, Benin. *J. Clin. Microbiol.* 2007; 45: 2123-5.
15. Kohli A., Bashir G., Fatima, A., Jan A., Wani N., & Ahmad J. Rapid drug-susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis* clinical isolates to first-line antitubercular drugs by nitrate reductase assay: A comparison with proportion method. *International Journal of Mycobacteriology*. 2016; 5(4): 469-74.
16. Toman K. Sensitivity, specificity and predictive value of diagnostic tests. *Bull. Int. Union Tuberc.* 1981; 56: 18-28.
17. Kent P., Kubica G. Public Health Mycobacteriology. A Guide for the level III Laboratory. US DHHS: Center for Diseases Control, Atlanta; 1985.
18. Sanger F. DNA Sequencing with Chain-Terminating Inhibitors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1977; 74: 5463-5.
19. Macrousov I., Otten T., Vyshnevskiy B., Narvskaya O. Detection of *embB* 306 Mutations in Ethambutol-Susceptible Clinical Isolates of *Mycobacterium tuberculosis* from Northwestern Russia: Implications for Genotypic Resistance Testing. *J. Clin. Microbiol.* 2002; 40; 3810-3.
20. Walker T.M., Kohl T.A., Omar S.V., et al. Whole-genome sequencing for prediction of *Mycobacterium tuberculosis* drug susceptibility and resistance: a retrospective cohort study. *Lancet Infect. Dis.* 2015; 15: 1193-1202.
21. Schön T., Miotto P., Köser C.U., Viveiros M., Böttger E., Cambau E. *Mycobacterium tuberculosis* drug-resistance testing: challenges, recent developments and perspectives. *Clin. Microbiol. Infect.* 2017; 23: 154-60.
22. Horne D.J., Pinto L. M., Arentz M., Lin S.-Y.G., Desmond E., Flores L.L. et al. Diagnostic Accuracy and Reproducibility of WHO-Endorsed Phenotypic Drug Susceptibility Testing Methods for First-Line and Second-Line Antituberculosis Drugs. *J. Clin. Microbiol.* 2013; 51: p. 393-401.
23. High-priority target product profiles for new tuberculosis diagnostics: report of a consensus meeting. Geneva: World Health Organization; 2014. Available at: http://www.who.int/tb/publications/tpp_report/en/.

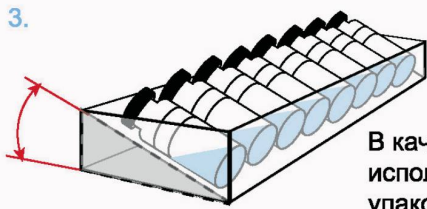
Поступила 26.12.19
Принята к печати 04.01.20

Подготовка флаконов к посеву

1. 

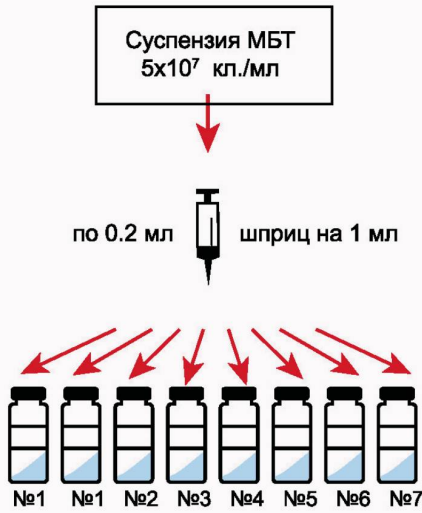
- снять центральную часть колпачка
- проколоть стерильной иглой шприца резиновую пробку

Инкубация 8-10 суток при 37° С

3. 

В качестве штатива использовать упаковочную коробку

Посев

2. 

Суспензия МБТ 5x10⁷ кл./мл

по 0.2 мл шприц на 1 мл

№1 №1 №2 №3 №4 №5 №6 №7

ТБ тест-набор

Учет результатов

4. 

дист. Н₂О 5мл (50° С)

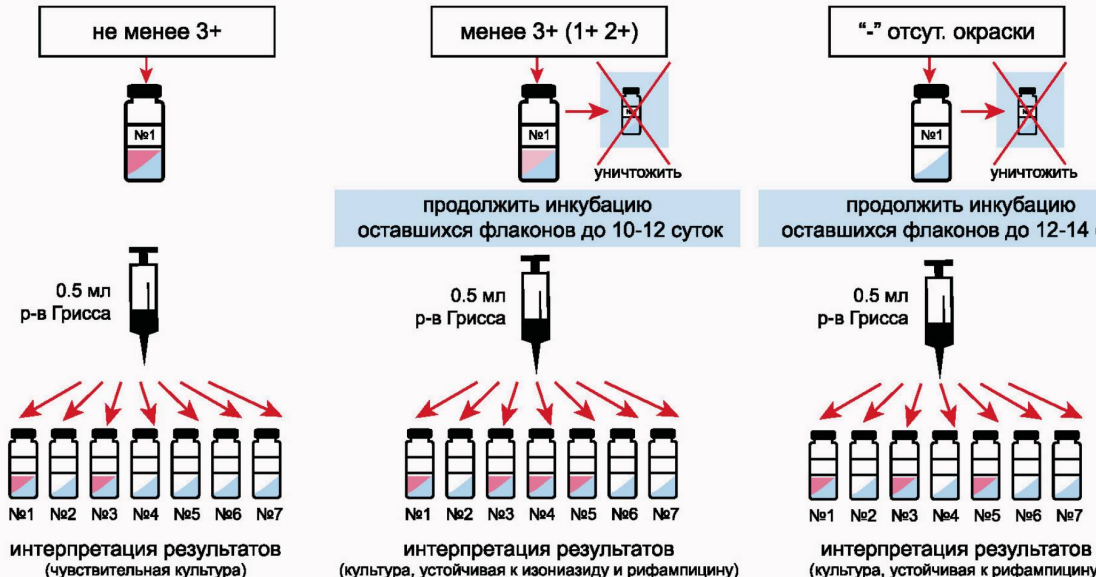
р-в Грасса №8

шприц на 5 мл

0.5 мл

№1

возможны 3 варианта окраски

5. 

1 вариант: не менее 3+ → интерпретация результатов (чувствительная культура)

2 вариант: менее 3+ (1+ 2+) → уничтожить флакон №1, продолжить инкубацию оставшихся флаконов до 10-12 суток → интерпретация результатов (культура, устойчивая к изониазиду и рифампицину)

3 вариант: "-" отсут. окраски → уничтожить флакон №1, продолжить инкубацию оставшихся флаконов до 12-14 суток → интерпретация результатов (культура, устойчивая к рифампицину)

Схема проведения анализа лекарственной чувствительности *M. tuberculosis* с использованием ТБ тест-набора.