



УДК 616 – 002,5 + 576,8.

ПОРІВНЯННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ ЗАСТОСУВАННЯ ТЕСТІВ ВИЗНАЧЕННЯ ЧУТЛИВОСТІ *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* ДО АНТИМІКОБАКТЕРІАЛЬНИХ ПРЕПАРАТІВ

**Н. В. Кондратюк¹, Г. В. Ващилін¹, О. З. Зарічна²,
Л. А. Гагаловська¹, Р. І. Сибірня³**

¹ВОДТМО, централізоване відділення клінічної мікробіології
пр-т Відродження, 30, Луцьк 43030, Україна
e-mail: vdtmo2@gmail.com

²Львівський НДІЕГ МОЗ України, вул. Зелена, 12, Львів 79005, Україна

³Львівський державний університет внутрішніх справ
вул. Городецька, 26, Львів 79007, Україна

Досліджено чутливість штамів *Mycobacterium tuberculosis*, виділених від хворих з легеневиими патологіями, до антимікобактеріальних препаратів і проведено порівняння ефективності застосування тестів визначення чутливості у повністю автоматизованій системі Bactec MGIT-960 з використанням готового діагностичного набору Bactec MGIT-960 SIRE KIT і методом пропорцій за Кеннетті, з використанням готових наборів антимікобактеріальних препаратів індійської фірми Tulip diagnostics (P) Ltd. Встановлено, що при дослідженні резистентності штамів *M. tuberculosis* до ізоніазиду та стрептоміцину збіг результатів двох методів становив 96,9%, до етамбутолу – 93,8% і найменший – до рифампіцину – 73,8%. Термін отримання результатів у повністю автоматизованій системі Bactec MGIT-960 становив від 6 до 13 днів, тоді як методом пропорцій – 20–24 дні.

Ключові слова: *Mycobacterium tuberculosis*, антимікобактеріальні препарати, резистентність, мультирезистентні штами.

ВСТУП

Розповсюдження туберкульозної інфекції під час епідемії супроводжується наростанням агресивних властивостей збудника – високої життєздатності та стійкості до антимікобактеріальних препаратів [1, 2]. З кінця XX ст. в усьому світі спостерігається зростання резистентності *M. tuberculosis* до основних антимікобактеріальних препаратів. Це значною мірою знижує ефективність лікування, підвищує ризик летального результату. На сьогодні найбільшу загрозу як для хворого, так і для оточуючих становить мультирезистентний туберкульоз (резистентність до ізоніазиду і рифампіцину одночасно), причому лікування хворих, які виділяють

мультирезистентні штами *Mycobacterium tuberculosis*, є тривалим і не завжди ефективним, потребує включення у режим хіміотерапії нових антимікобактеріальних препаратів і антибіотиків широкого спектра дії, що обходиться у сотні разів дорожче, ніж лікування хворих із чутливим збудником. Тому актуальною є своєчасна діагностика хіміорезистентного туберкульозу, а першим кроком на цьому етапі стає пошук нових прискорених методів визначення чутливості *Mycobacterium tuberculosis* до антимікобактеріальних препаратів [2–4, 6–11].

Ефективність лікування значно залежить від своєчасності й повноти результатів, які отримують під час бактеріологічних досліджень. Застосування традиційних методів виявлення збудника туберкульозу і визначення його резистентності до антимікобактеріальних препаратів потребує довготривалого дослідження, хоча для практичного фтизіатра не стільки важливе культуральне підтвердження бактеріовиділення у хворого, як результат визначення чутливості збудника до антимікобактеріальних препаратів, особливо у вперше діагностованих хворих [1, 2, 6].

Мета роботи – провести порівняння ефективності застосування тестів визначення чутливості *Mycobacterium tuberculosis* до антимікобактеріальних препаратів у повністю автоматизованій системі Bactec MGIT-960 з використанням готового діагностичного набору Bactec MGIT-960 SIRE KIT і методом пропорцій за Кеннетті, з використанням готових наборів антимікобактеріальних препаратів індійської фірми Tulip diagnostics (P) Ltd.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Проведено визначення чутливості до антимікобактеріальних препаратів 65 штамів *Mycobacterium tuberculosis*, виділених від хворих на різні форми туберкульозу легень (інфільтративний, ексудативний, вогнищевий, фіброзно-кавернозний), ексудативний плеврит і з підозрою на туберкульоз.

Готовий діагностичний набір Bactec MGIT-960 SIRE KIT, який містить препарати 1-го ряду (стрептоміцин, ізоніазид, рифампіцин, етамбутол), готували для роботи методом розведення антибіотиків стерильною дистильованою водою до потрібної концентрації відповідно до інструкції.

Для приготування суспензії *M. tuberculosis* 3–4-тижневу культуру, вирощену на твердому поживному середовищі Левенштейна–Йєнсена, переносили у стерильну пробірку і доводили до стандарту каламутності 0,5 MC Farland. Одержану суспензію розводили у співвідношенні 1:5 і використовували для подальших досліджень. У пробірці з контролем (K+) суспензію *M. tuberculosis* розводили у співвідношенні 1:100. На спеціальній плашці зі штрих-кодом розміщували пробірки з поживним бульйоном Middlebrook 7H9, підписували їх відповідно до програми комп'ютера апарату Bactec MGIT-960. Використовували програму з такими концентраціями антимікобактеріальних препаратів: № 1 – контроль росту K+, № 2 – 1,0 мкг/мл стрептоміцину, № 3 – 0,1 мкг/мл ізоніазиду, № 4 – 1,0 мкг/мл рифампіцину і № 5 – 5 мкг/мл етамбутолу. Апарат проводив безперервне тестування культури.

Результати інтерпретували з урахуванням росту культури *M. tuberculosis* у пробірці № 1 з контролем (K+). У разі досягнення ростового індексу 400 (мікробних тіл) контроль вважався позитивним. Для підтвердження цього здійснювали бактеріоскопію препарату, зафарбованого за Ціль-Нільсеном.

Визначення чутливості *M. tuberculosis* до антимікобактеріальних препаратів методом пропорцій за Кеннетті на твердому поживному середовищі Левенштейна–Йенсена, з використанням готових діагностичних наборів індійської фірми Tulip diagnostics (P) Ltd проводили згідно з наказом МОЗ України № 45 від 06.02.2002 р. (табл. 1).

Таблиця 1. Стандартні концентрації антимікобактеріальних препаратів для визначення чутливості *Mycobacterium tuberculosis*

Table 1. Standard concentrations of the antimicobacterial agents used for evaluation of the sensitivity of *Mycobacterium tuberculosis*

Антимікобактеріальні препарати	Концентрація, мкг/мл	
	Система Bactec MGIT-960 Фірма BD	Фірма Tulip diagnostics (P) Ltd
Стрептоміцин	1,0	0,4
Ізоніазид	0,1	0,2
Рифампіцин	1,0	40,0
Етамбутол	5,0	2,0

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ І ЇХНЕ ОБГОВОРЕННЯ

У повністю автоматизованій системі Bactec MGIT-960 з використанням готового діагностичного набору Bactec MGIT-960 SIRE KIT проведено дослідження чутливості до антимікобактеріальних препаратів 65 штамів *M. tuberculosis*, виділених від хворих на захворювання легень. Зокрема, досліджено 44 штами від хворих на інфільтративний туберкульоз легень, що становить 67,7% від загальної кількості досліджених штамів (рис. 1), 14 штамів від хворих на дисемінований туберкульоз (21,5%), 1 штам від хворого на вогнищевий туберкульоз (1,5%), ще 1 штам від хворого на фіброзно-кавернозний туберкульоз (1,5%). Також досліджено 2 штами, що виділені від хворих на ексудативний плеврит, що становило 3,1% від загальної кількості досліджених штамів. Крім того, досліджено 3 штами, виділені від хворих з підозрою на туберкульозний процес, що становить 4,6% від загальної кількості досліджених штамів. Одночасно порівняли дані, одержані за допомогою системи Bactec MGIT-960 з результатами визначення чутливості досліджуваних штамів *M. tuberculosis* до антимікобактеріальних препаратів методом пропорцій за Кеннетті, з використанням готових наборів антимікобактеріальних препаратів індійської фірми Tulip diagnostics (P) Ltd (табл. 3).

Важливим етапом під час дослідження чутливості мікобактерій туберкульозу до антимікобактеріальних препаратів є швидкість росту культури і тривалість отримання кінцевого результату. Так, термін отримання результатів тестів чутливості у системі Bactec MGIT-960 становив у 13 з досліджених штамів 6–7 днів, у 9 штамів ріст у контролі спостерігали на 9–10-й день, у 15 штамів – на 13-й день. При цьому методом пропорцій 13 штамів дали позитивний контроль на 20-й день культивування, а решта – на 21, 22, 33 і 40-й дні (рис. 2).

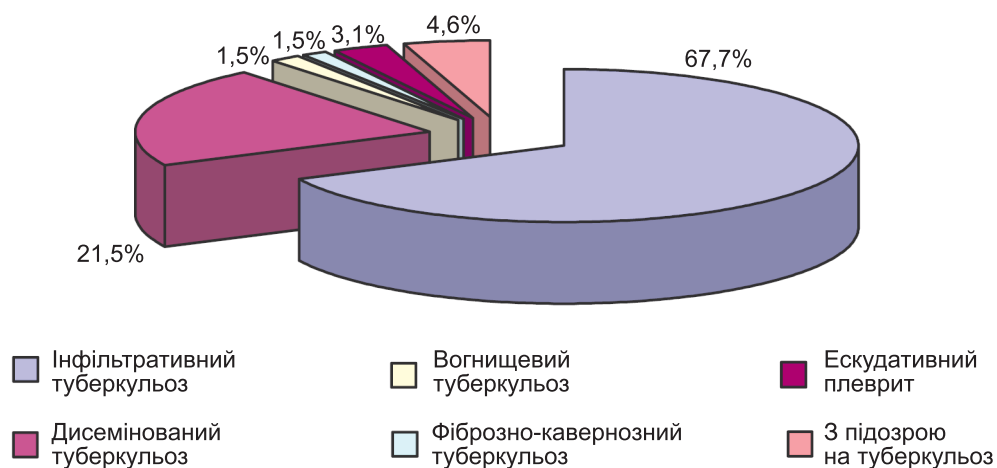


Рис. 1. Кількість досліджених штамів у системі Bactec MGIT-960 і на твердому поживному середовищі
Fig. 1. Quantity of examined strains in the system Bactec MGIT-960 and on the solid nutrient medium

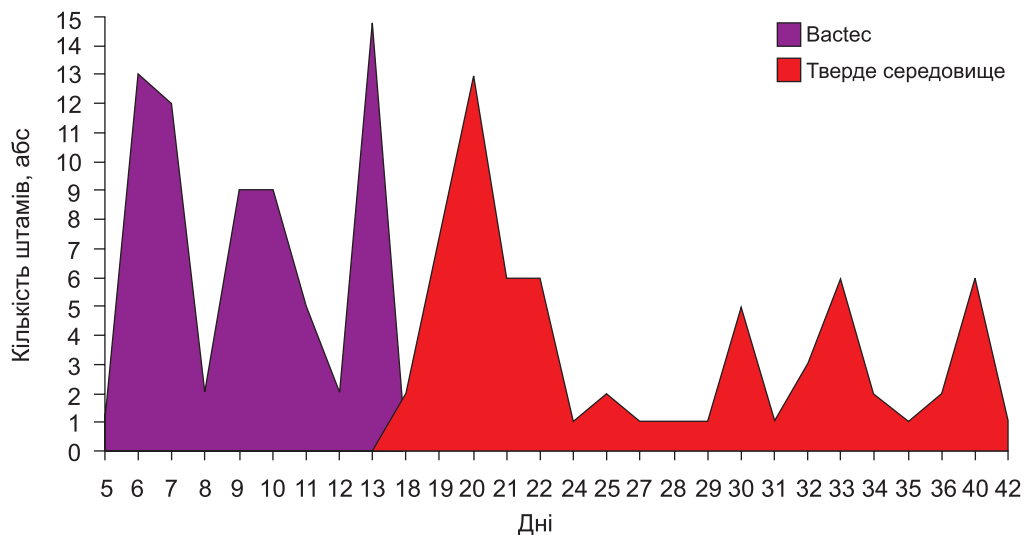


Рис. 2. Терміни видачі кінцевого результату тесту чутливості *Mycobacterium tuberculosis* до антиміко-
 бактеріальних препаратів у системі Bactec MGIT-960 і на твердому поживному середовищі
Fig. 2. Time-frame of the final result of the sensitivity test for *Mycobacterium tuberculosis* to the antitubercu-
 losis drugs in the system Bactec MGIT-960 and on the solid nutrient medium

Встановлено, що $41,5 \pm 6,1\%$ штамів збудника туберкульозу були резистентними до стрептоміцину й ізоніазиду за результатами досліджень у системі Bactec MGIT-960, а методом пропорцій відповідно $38,5 \pm 6,0\%$ ($p < 0,05$) (табл. 2). До етамбутолу виявили стійкість $20,0 \pm 5,0\%$ штамів у системі MGIT-960, методом пропорцій – $26,2 \pm 5,5\%$ ($p < 0,05$). Кількість стійких штамів до рифампіцину в автоматизованій системі становила $26,2 \pm 5,5\%$, тоді як методом пропорцій ця цифра сягала $52,3 \pm 6,2\%$.

Таблиця 2. Стійкість штамів *Mycobacterium tuberculosis* до протитуберкульозних препаратів виявлена у системі Bactec MGIT-960 і методом пропорцій за Кеннетті

Table 2. Resistance of the *Mycobacterium tuberculosis* strains to the antituberculosis drugs in the Bactec MGIT-960 system and in case of using method of proportions

Антимікобактеріальні препарати	Всього штамів	Кількість стійких штамів			
		MGIT-960		Метод пропорцій	
		абс.	%	абс.	%
Стрептоміцин	65	27	$41,5 \pm 6,1$	25	$38,5 \pm 6,0$
Рифампіцин	65	17	$26,2 \pm 5,5$	34	$52,3 \pm 6,2$
Ізоніазид	65	27	$41,5 \pm 6,1$	25	$38,5 \pm 6,0$
Етамбутол	65	13	$20,0 \pm 5,0$	17	$26,2 \pm 5,5$

Таблиця 3. Порівняння результатів тестів чутливості *Mycobacterium tuberculosis* до антимікобактеріальних препаратів, одержаних у системі Bactec MGIT-960 і методом пропорцій за Кеннетті

Table 3. Comparison of the test results for the sensitivity of *Mycobacterium tuberculosis* to the antituberculosis drugs in the Bactec MGIT-960 system and at using method of proportions

Антимікобактеріальні препарати	Всього досліджених штамів	Збіг результатів	
		абс.	%
Стрептоміцин	65	63	$96,9 \pm 2,1$
Ізоніазид	65	63	$96,9 \pm 2,1$
Рифампіцин	65	48	$73,8 \pm 5,5$
Етамбутол	65	61	$93,8 \pm 3,0$

Під час порівняння отриманих даних було також встановлено, що найбільший збіг результатів спостерігався при виявленні резистентності до ізоніазиду та стрептоміцину – $96,9\%$ ($p > 0,01$) дещо менший відсоток збігу спостерігали у разі виявлення резистентності до етамбутолу – $93,8\%$ ($p > 0,01$) і найменший збіг результатів зареєстровано при виявленні стійкості до рифампіцину $73,8\%$ ($p > 0,05$) (табл. 3).

ВИСНОВКИ

1. Використання тесту для виявлення чутливості *Mycobacterium tuberculosis* до антимікобактеріальних препаратів у повністю автоматизованій системі Bactec MGIT-960 є більш доцільним за термінами отримання кінцевого результату, що становить 6–13 днів проти 20–21 дня методом пропорцій з використанням готових наборів антимікобактеріальних препаратів індійської фірми Tulip diagnostics (P) Ltd, що дає змогу значно швидше призначити адекватну схему протитуберкульозної терапії.
2. Встановлено, що при дослідженні резистентності досліджуваних штамів *M. tuberculosis* до ізоніазиду та стрептоміцину збіг результатів двох методів становив 96,9%, до етамбутолу – 93,8%, і найменший зареєстровано при виявленні резистентності до рифампіцину – 73,8%.

-
1. Дорожкова И.Р., Попов С.А., Медведева И.М. Мониторинг лекарственной устойчивости при туберкулезе в России 1979–1998 гг. **Пробл. туберкулеза**, 2000; 5: 19–22.
 2. Журило О.А., Барбова А.І., Мироненко С.В., Пустовалова А.В. Сучасні методи бактеріологічної діагностики туберкульозу і визначення медикаментозної стійкості збудника до антимікобактеріальних препаратів. **Укр. пульмонол. журн**, 2009; 1: 8–11.
 3. Иртуганова О.А. Культуральное определение микобактерий туберкулеза / О.А. Иртуганова, Н.С. Смирнова. **Лаб. диагностика туберкулеза**. Москва, 2001. С. 25–35.
 4. Кондратюк Н.В., Сибірний В.А., Сибірня Р.І. Порівняльна характеристика медикаментозної чутливості штамів *Mycobacterium tuberculosis*. **Мікробіол. журн**, 2006; 4: 54–59.
 5. Мельник В.П., Стаднік Л.В., Загородній В.В. та ін. Порівняльна характеристика поживних властивостей середовищ Левенштейна–Єнсена фірм-виробників „HIMEDIA” та „BIOMERIEUX”. **Укр. пульмонол. журн**, 2008; 3: 53–55.
 6. Новожилова И.О. Значимость определения лекарственной устойчивости микобактерий туберкулеза для успешного лечения туберкулеза легких / И.О. Новожилова. **Пробл. туберкулеза и болезней легких**, 2004; 4: 29–31.
 7. Оттен Т.Ф., Нарвская О.В., Олейник В.В. и др. Микробиологическая и молекулярно-генетическая характеристика штаммов *Mycobacterium tuberculosis*, выделенных от больных полиорганным и генерализованным туберкулезом. **Пробл. туберкулеза и болезней легких**, 2003; 10: 44–47.
 8. Феценко Ю.І., Петренко В.М., Черенько С.О. та ін. Епідеміологія, діагностика та лікування хіміорезистентного туберкульозу органів дихання. **Укр. пульмонол. журн**, 2002; 4: 5–12.
 9. Хейфец Л.Б. Микробиологические аспекты выявления больных туберкулезом с лекарственной устойчивостью / Л.Б. Хейфец. **Пробл. туберкулеза и болезней легких**, 2004; 5: 3–6.
 10. Heifets L. Drug susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis*: a neglected problem at the turn of the century / L. Heifets, G. Cangelosi. **Int. J. Tuberculosis. M. Lung. Dis**, 1999; 3: 564–581.
 11. WHO/IUATLD Global Project on Anti-Tuberculosis Drug – Resistance in the World. Geneva, 1997. 217 p.
-

COMPARISON OF EFFECTIVENESS OF ESTIMATION TESTS OF *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* SENSITIVITY TO ANTIMYCOBACTERIAL MEDICINES

**N. V. Kondratiuk¹, H. V. Vashchylin¹, O. Z. Zarichna²,
L. A. Gagalovska¹, R. I. Sybirna³**

¹VODTMO (Volyn Regional Children's Territorial Medical Institution),
Centralized Clinical Microbiology Department, 30, Vidrozhdenia Ave., Lutsk 43030, Ukraine
e-mail: vdtmo2@gmail.com

²Lviv NDIEG (Research Institute for Epidemiologist and Hygiene)
of Ministry of Health of Ukraine, 12, Zelena St., Lviv 79005, Ukraine

³Lviv State University of Internal Affairs Ministry of Home Affairs of Ukraine
26, Horodotska St., Lviv 79007, Ukraine

Sensitivity to the antibacterial drugs of the *Mycobacterium tuberculosis* stock cultures taken from the patients for lung tuberculosis was tested. The estimation of the effectiveness of using the tests of the estimation of the sensitivity in the fully automated system Bactec MGIT-960 with using the ready Kit with the antimycobacterial agents Bactec MGIT-960 SIRE KIT and according to the method of proportions after Kennetti, with using the Kits of antimycobacterial agents of Indian company Tulip diagnostics (P) Ltd. Were performed was established that the bacterial resistance to isoniazid and streptomycin coincided with the results of both methods for 96.9%, to the ethambutol – 93.8%/ The last one was registered by the detection of the resistance to rifampicin – 73.8%. Time of receiving the results in the fully automated system Bactec MGIT-960 ranged from 6 to 13 days whereas according to the method of proportions, it was 20–24 days.

Key words: *Mycobacterium tuberculosis*, antimycobacterial agents, resistance, multiresistant stock cultures.

СРАВНЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ ТЕСТОВ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* К АНТИМИКОБАКТЕРИАЛЬНЫМ ПРЕПАРАТАМ

**Н. В. Кондратюк¹, Г. В. Ващилин¹, О. З. Зарична²,
Л. А. Гагаловская¹, Р. И. Сибирная³**

¹ВОДТМО, Централизованное отделение клинической микробиологии
пр-т Возрождения, 30, Луцк 43030, Украина
e-mail: vdtmo2@gmail.com

²Львовский НИИЭГ МЗ Украины, ул. Зеленая, 12, Львов 79005, Украина

³Львовский государственный университет внутренних дел
ул. Городецкая, 26, Львов 79007, Украина

Изучена чувствительность выделенных от больных штаммов *Mycobacterium tuberculosis* к антимикобактериальным препаратам. Проведено сравнение эффективности применения тестов определения чувствительности в автоматизи-

рованной системе Bactec MGIT-960 с использованием готового диагностического Bactec MGIT-960 SIRE KIT и методом пропорций по Кеннетти, с использованием готовых наборов антимикобактериальных препаратов индийской фирмы Tulip diagnostics (P) Ltd. Установлено, что при определении резистентности штаммов *Mycobacterium tuberculosis* к изониазиду и стрептомицину процент совпадения результатов двух методов составил 96,9%, к этамбутолу – 93,8%. Срок получения результатов в автоматизированной системе Bactec MGIT-960 составил от 6 до 13 дней, тогда как методом пропорций – 20–24 дня.

Ключевые слова: *Mycobacterium tuberculosis*, антимикобактериальные препараты, резистентность, мультирезистентные штаммы.

Одержано: 14.06.2011