

УДК 57.08

Новый экономичный метод ускоренного определения лекарственной устойчивости микобактерий туберкулеза в полужидкой питательной среде Миддлбрука

О.А. Маничева, Л.Н. Стеклова, Е.Н. Мякотина, Б.И. Вишневский

Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии
Минздрава России

New cost-effective method of rapid determination of *Mycobacterium tuberculosis* drug resistance in Middlebrook semi-liquid medium

O.A. Manicheva, L.N. Steklova, E.N. Mjakotina, B.I. Vishnevskiy

St. Petersburg Research Institute for Phthisiopulmonology of the Ministry of Health
of the Russian Federation

Резюме

Проведена сравнительная оценка методов ускоренного определения лекарственной чувствительности микобактерий туберкулеза на автоматизированной системе BACTEC MGIT 960 и полужидких средах Миддлбрука и Сотона. Исследовано 38 панельных и 47 клинических штаммов МБТ. Параметры тестирования на жидкой (BACTEC) и полужидкой средах Миддлбрука не отличаются ни по срокам роста, ни по показателю чувствительности и специфичности метода. Полужидкая среда Миддлбрука позволяет в короткие сроки (3–4 дня) выявить штаммы с множественной лекарственной устойчивостью; кроме того, метод значительно дешевле, чем BACTEC MGIT 960 SIRE Kit.

Ключевые слова: микобактерии туберкулеза; лекарственная чувствительность; методы ускоренного определения; BACTEC MGIT 960; полужидкая среда Миддлбрука.

Summary

A comparative evaluation of methods of accelerated drug susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis* using the automated BACTEC MGIT 960 system and semi-medium and Middlebrook Soton conducted. 38 panel and 47 clinical *Mycobacterium tuberculosis* strains studied. Parameters testing liquid (BACTEC) and semi Middlebrook media are not differ neither time-bound growth nor in terms of sensitivity and specificity of the method. Semisolid Middlebrook culture allows in a short time (3–4 days) to identify strains of multi-drug resistant, in addition, the method is much cheaper than the BACTEC MGIT 960 SIRE Kit.

Keywords: *Mycobacterium tuberculosis*; drug sensitivity; rapid determination methods; BACTEC MGIT 960; semi-solid Middlebrook culture.

Введение

Mycobacterium tuberculosis (МБТ) с множественной и широкой лекарственной устойчивостью (МЛУ и ШЛУ) представляют собой наиболее эпидемиологически опасную часть популяции штаммов, циркулирующих на территории РФ [1], что повышает значимость лабораторного тестирования клинических изолятов возбудителя. Особенно важны результаты определения лекарственной чувствительности для выбора режима терапии впервые выявленных больных. Анализ данных англоязычной литературы за период 1965–2007 гг., проведенный W. Lew и соавт. [2], показал, что безуспешность лечения и рецидивы связаны именно с первичной лекарственной устойчивостью. По данным В.В. Тестова и соавт. (2014), общая эффективность химиотерапии больных туберкулезом с МЛУ возбудителя составляет 49,6%, а эффективность лечения впервые выявленных больных туберкулезом с МЛУ возбудителя — 59,5% [1]. Применение методов ускоренного определения лекарственной чувствительности МБТ сокращает сроки получения данных, необходимых для назначения адекватной химиотерапии, повышая таким образом ее эффективность. Наиболее быстрые в настоящее время — молекулярно-генетические методы (различные тест-системы с использованием биочипов, Xpert MTB/RIF, GenoType MTBDRplus и др.) [3, 4, 5]. К ускоренным фенотипическим методам относится тестирование чувствительности МБТ на автоматизированной системе бульонного культивирования BACTEC MGIT 960, на сегодняшний день наиболее эффективной и широко используемой [6, 7, 8]. Однако как сама система, так и наборы реагентов очень дороги, финансирование диагностических исследований с помощью этой системы — проблема, которая должна решаться на уровне региональных органов здравоохранения и решение которой осложняется в современных реалиях кризиса. Поэтому актуальной остается задача ускоренного выявления резистентных штаммов МБТ с помощью быстрых недорогих фенотипических методов, доступных для практических фтизиобактериологических лабораторий любого уровня.

Цель работы — оценить различные фенотипические методы ускоренного определения лекарственной чувствительности МБТ к противотуберкулезным препаратам 1-го ряда в сравнении со стандартным методом на среде Левенштейна–Йенсена.

Материалы и методы

Исследовано 38 штаммов, полученных в составе панелей, присылаемых ФСВОК для оценки качества определения лекарственной чувствительности, а

также 47 культур, выделенных из материала больных туберкулезом. В качестве контрольного тест-штамма использовали штамм H37Rv, (ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения»).

Суспензию МБТ готовили стандартным образом [9]. Плотность суспензии измеряли с помощью денситометра Densi-La-Meter; 5 ед. по стандарту мутности ФГБУ НЦЭСМП соответствует 1,5 ед. по McFarland. Суспензии разводили в 10 (10^{-1} , рабочая суспензия) и в 1000 (10^{-3} , контроль 1% популяции) раз. Взвесь МБТ плотностью 10^{-1} вносили в одну из контрольных пробирок с разработанными полужидкими средами и во все пробирки с препаратами, плотностью 10^{-3} — во вторую контрольную пробирку. Объем инокулята — 0,5 мл при посеве на жидкую или полужидкую среду Миддлбрука, 0,2 мл — при посеве на полужидкую среду Сотона и стандартную плотную среду. Суспензию МБТ на полужидкие среды наносили поверхностно, методом наложения, без перемешивания и встряхивания. Посевы инкубировали при 37°C , делая просмотр полужидких сред каждый день, начиная с 3-го, и фиксируя срок появления колоний МБТ. На плотной среде лекарственную чувствительность определяли непрямой методом абсолютных концентраций, на полужидких — непрямой методом пропорций, учитывая при этом и рост неразведенного контроля.

В исследовании использовали: 1) стандартную среду Левенштейна–Йенсена; 2) реагенты для определения лекарственной чувствительности в BACTEC MGIT 960 SIRE Kit; 3) полужидкую среду Сотона [10]; 4) полужидкую среду Миддлбрука. Последнюю готовили из сухой коммерческой среды Миддлбрука 7H9 (Becton Dickinson) согласно прописи; кроме того, в бульон добавляли 1,25 г/л панкреолитического гидролизата казеина (ФГУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии») и 0,125% микробиологического агар-агара (Hispanlab) и кипятили до растворения агар-агара. Стерилизацию проводили автоклавированием при 121°C в течение 10 мин. Затем в охлажденную до комнатной температуры среду вносили 10% ростовой добавки OADC (Becton Dickinson) и разливали в пробирки по 5 мл.

В плотную среду Левенштейна–Йенсена и полужидкую среду Сотона вносили разведения химически чистых субстанций противотуберкулезных препаратов (Sigma) в конечных концентрациях: изониазид — 1 мкг/мл, стрептомицин — 10 мкг/мл, рифампицин — соответственно 40 и 20 мкг/мл, этамбутол — 2 и 5 мкг/мл. Конечные концентрации препаратов в полужидкой среде Миддлбрука соответствовали таковым в пробирках MGIT набора SIRE Kit: изониазид — 0,1 мкг/мл, стрептомицин и рифампицин — по 1,0 мкг/мл, этамбутол — 5,0 мкг/мл. Минимальную ингибирующую концентрацию (МИК) этамбутола опре-

деляли методом серийных двукратных разведений в полужидких средах Миддлбрука (рН 6,6±0,2) и Сотона (рН 7,2±0,2).

Результаты исследований и их обсуждение

На полужидких средах МБТ растут в верхней части среды в виде облачка очень мелких колоний. Среда остается прозрачной в случае отсутствия роста, что означает чувствительность к тестируемому препарату. В табл. 1 представлены средние сроки появления колоний возбудителя при инокулировании суспензий различной плотности на жидкую и полужидкие среды, не содержащие препаратов (контроль). На полужидких средах Сотона и Миддлбрука средние скорости роста густых взвесей (10^{-1}) как панельных, так и клинических штаммов не отличаются друг от друга и колеблются в пределах 3,5–4 сут. При разведении суспензии в 1000 раз (контроль 1% популяции, используемый в методе пропорций, 10^{-3}) панельные штаммы наиболее медленно росли на среде Сотона, что можно объяснить разным объемом инокулята (0,2 мл против 0,5 мл в пробирках MGIT и полужидкой среде Миддлбрука). В автоматизированной системе рост МБТ регистрировался на 0,62 дня достоверно позже, чем на полужидкой среде Миддлбрука. При исследовании клинических штаммов значимых различий между средами в скорости роста МБТ не обнаружено как для густых, так и для разведенных суспензий. Срок регистрации роста 1% популяции является сроком регистрации результата тестирования лекарственной чувствительности, он составляет в среднем для всех исследованных штаммов, панельных и клинических ($n=83$), в системе ВАСТЕС — $7,9\pm 0,2$ дня, на полужидкой среде Миддлбрука — $7,5\pm 0,4$, на полужидкой среде Сотона — $8,3\pm 0,6$. Однако рост ре-

Таблица 1

Скорость роста панельных и клинических штаммов *M. tuberculosis* на жидкой и полужидких средах

Питательная среда	Число исследований	Скорость роста в сутках ($m\pm l$) при плотности суспензии	
		10^{-1}	10^{-3}
Панельные штаммы			
BBL MGIT	38	–	$7,36\pm 0,22$
Полужидкая Миддлбрука	38	$4,13\pm 0,25$	$6,74\pm 0,23^*$
Полужидкая Сотона	18	$3,95\pm 0,23$	$8,33\pm 0,56^\#$
Клинические штаммы			
BBL MGIT	46	–	$8,30\pm 0,31$
Полужидкая Миддлбрука	47	$3,46\pm 0,16$	$8,13\pm 0,55$
Полужидкая Сотона	47	$3,77\pm 0,22$	$8,96\pm 0,72$

Примечания. 10^{-1} — суспензия 5 ед. по стандарту мутности ГИСК, разведенная в 10 раз; 10^{-3} — суспензия 5 ед. по стандарту мутности ГИСК, разведенная в 1000 раз. *, # — различия между средами значимы при $p<0,05$.

зистентных штаммов в пробирках с препаратами можно учитывать раньше, если он не меньше, чем в контрольной пробирке, засеянной густой суспензией штамма. В среднем для всех исследованных штаммов он достигает $3,8\pm 0,2$ дня на полужидкой среде Миддлбрука и $3,9\pm 0,2$ дня — на полужидкой среде Сотона.

В табл. 2 представлены параметры определения лекарственной чувствительности панели штаммов МБТ на 4 средах: Левенштейна–Йенсена, ВАСТЕС MGIT 960 SIRE Kit, полужидких средах Миддлбрука и Сото-

Таблица 2

Параметры методов при тестировании 38 панельных штаммов *M. tuberculosis* с помощью 4 сред (%)

Препарат	Чувствительность				Специфичность				Положительная прогностическая эффективность				Отрицательная прогностическая эффективность				Общая эффективность			
	ЛЙ	В	М	С	ЛЙ	В	М	С	ЛЙ	В	М	С	ЛЙ	В	М	С	ЛЙ	В	М	С
S	100,0	100,0	100,0	100,0	95,5	100,0	95,4	100,0	94,1	100,0	94,1	100,0	100,0	100,0	95,2	100,0	97,4	100,0	94,7	100,0
I	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
R	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
E	100,0	50,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	50,0	100,0	100,0	100,0	88,2	100,0	100,0	100,0	89,5	100,0	100,0

Примечание. S — стрептомицин; I — изониазид; R — рифампицин; E — этамбутол; ЛЙ — среда Левенштейна–Йенсена; В — ВАСТЕС MGIT 960 SIRE Kit; М — полужидкая Миддлбрука; С — полужидкая Сотона.

на. Наиболее стабильные результаты получены при определении чувствительности к изониазиду и рифампицину: все показатели составляют 100,0%. В отношении этамбутола чувствительность метода при использовании автоматизированной системы равна 50%. Однако ее нельзя считать значимой, так как из 38 панельных штаммов резистентность к этамбутолу проявляли только 8, из которых 4 дали ложночувствительный результат. На среде Левенштейна–Йенсена из 22 чувствительных к стрептомицину штаммов у одной культуры была зарегистрирована ложная устойчивость (рост 25 колоний). В целом параметры всех 4 методов в отношении четырех основных противотуберкулезных препаратов (кроме ВАСТЕС MGIT 960 при тестировании этамбутола) достаточно высоки — 94,1–100,0%.

Из 47 исследованных клинических штаммов МБТ 33 были с множественной лекарственной устойчивостью. В системе ВАСТЕС MGIT 960 средний срок выявления этих штаммов составил $8,4 \pm 0,4$ дня (от 6 до 11 дней). На полужидких средах рост всех мультирезистентных штаммов в пробирках с изониазидом и рифампицином наблюдался в те же сроки, что и в контрольной, засеянной суспензией аналогичной плотности — 10^{-1} . В среднем на среде Миддлбрука они составили $3,8 \pm 0,3$ (от 3 до 6 дней), на среде Сотона — $4,2 \pm 0,4$ (от 3 до 7 дней).

В табл. 3 отражена частота истинных и ложных результатов определения лекарственной чувствительности клинических штаммов МБТ. Чувствительность или устойчивость изолята к препаратам определена стандартным непрямым методом абсолютных кон-

центраций, с которым сравнивали остальные тесты. При определении лекарственной чувствительности МБТ к изониазиду наблюдали полное совпадение данных. Исследование чувствительности к стрептомицину выявило один ложноположительный результат на полужидкой среде Миддлбрука, что объясняется разной концентрацией препарата в средах: 10,0 мкг/мл в среде Левенштейна–Йенсена и 1,0 мкг/мл в наборе SIRE Kit. Три ложноотрицательных результата на полужидкой среде Сотона, содержащей всего лишь 0,1% агар-агара, можно объяснить большей активностью препарата в этой практически жидкой среде. Тем же обусловлено расхождение данных, полученных при тестировании рифампицина: устойчивости на плотной среде и чувствительности на жидкой и полужидких средах. Наибольшее несоответствие результатов выявлено в отношении этамбутола: ложноотрицательные данные в системе ВАСТЕС — 7, на полужидкой среде Миддлбрука — 3, на среде Сотона — 2, ложноположительные — соответственно 0; 1; 5.

Параметры методов ускоренного определения лекарственной чувствительности 47 клинических штаммов МБТ на жидкой и полужидких средах в сравнении со стандартной средой Левенштейна–Йенсена приведены в табл. 4. При тестировании чувствительности изолятов к изониазиду получены 100%-е показатели чувствительности, специфичности, положительной и отрицательной прогностической эффективности и общей эффективности. В отношении стрептомицина и рифампицина они высоки и колеблются от 91,4 до 100,0%.

Таблица 3

Частота истинных и ложных результатов определения лекарственной чувствительности клинических изолятов МБТ

Препарат	Число штаммов													
	всего	чувствительных						устойчивых						
		на ВАСТЕС		на полужидкой среде Миддлбрука		на полужидкой среде Сотона		всего	на ВАСТЕС		на среде Миддлбрука		на среде Сотона	
		Ч	ЛЧ	Ч	ЛЧ	Ч	ЛЧ		У	ЛУ	У	ЛУ	У	ЛУ
S	12	12	1	11	0	11	3	35	33	0	35	1	32	0
I	12	12	0	12	0	12	0	35	34	0	35	0	35	0
R	13	13	1	13	1	13	1	34	32	0	33	0	33	0
E	21	21	7	20	3	16	2	26	18	0	23	1	24	5

Примечание. С помощью ВАСТЕС MGIT 960 SIRE Kit проведено тестирование 46 штаммов МБТ, с помощью полужидких сред — 47. S — стрептомицин; I — изониазид; R — рифампицин; E — этамбутол; Ч — чувствительные; ЛЧ — ложночувствительные; У — устойчивые; ЛУ — ложноустойчивые.

Таблица 4

Параметры методов ускоренного определения лекарственной чувствительности клинических штаммов *M. tuberculosis* (%)

Препарат	Чувствительность			Специфичность			Положительная прогностическая эффективность			Отрицательная прогностическая эффективность			Общая эффективность		
	В	М	С	В	М	С	В	М	С	В	М	С	В	М	С
S	94,3	100,0	91,4	100,0	91,7	91,7	94,3	97,2	91,4	92,3	91,7	73,3	97,8	97,9	91,5
I	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
R	94,1	97,1	97,1	100,0	100,0	100,0	94,1	97,1	97,1	92,9	92,9	92,9	97,8	97,9	97,9
E	69,2	88,5	92,3	100,0	95,2	76,2	69,2	85,2	77,4	75,0	83,3	69,9	84,8	91,5	85,1

Примечание. S — стрептомицин; I — изониазид; R — рифампицин; E — этамбутол; В — BACTEC MGIT 960 SIRE Kit; М — полужидкая среда Миддлбрука; С — полужидкая среда Сотона. Всего исследовано 47 штаммов МБТ.

Тестирование чувствительности изолятов к этамбутолу с помощью всех ускоренных методов отличалось самыми низкими показателями. У системы BACTEC MGIT 960 они были в пределах от 69,2 до 84,8%, достигая 100% лишь по показателю специфичности. Наименьший разброс показателей наблюдался при использовании полужидкой среды Миддлбрука — от 83,3 до 95,2%, при этом их соотношение было оптимальным. Достаточно высокая чувствительность метода ускоренного определения с помощью полужидкой среды Сотона — 92,3% — сопровождалась низким процентом специфичности — 76,2. В сравнении с проведенными ранее исследованиями [10] показатели чувствительности и специфичности стали более высокими вследствие применения метода пропорций, а не абсолютных концентраций, так как учитывается рост 1% популяции. Вариабельность результатов при определении чувствительности МБТ к этамбутолу с помощью жидкой и полужидкой сред Миддлбрука и полужидкой среды Сотона объясняется разными значениями их pH. По данным литературы, штаммы, резистентные к препарату в слабокислой среде, при сдвиге pH среды в щелочную сторону проявляют чувствительный фенотип [11]. При несовпадении результатов тестирования чувствительности МБТ к этамбутолу различными методами определяли МИК препарата для этих штаммов в полужидких средах. Значения МИК колебались от 1 до 4 мкг/мл на среде Сотона и от 3 до 10 мкг/мл на среде Миддлбрука, в среднем достигая соответственно $2,5 \pm 0,3$ и $6,5 \pm 0,8$ мкг/мл. Средняя МИК этамбутола в более щелочной среде Сотона (pH 7,2) значимо ниже при использовании более кислой среды Миддлбрука (pH 6,6). Не выявлено корреляции между величиной МИК, определенной с помощью полужидких сред, и результатами определения на них чувствительности МБТ к этамбутолу.

Заключение

Таким образом, предлагается метод ускоренного определения чувствительности МБТ к 4 основным противотуберкулезным препаратам с помощью полужидкой среды Миддлбрука, альтернативный методу тестирования с использованием автоматизированной системы BACTEC MGIT 960. Внесение в бульон Миддлбрука агар-агара в небольшом количестве (0,125%) позволяет в короткие сроки (3–4 дня) визуально регистрировать рост МБТ (плотность суспензии 0,15 ед. по McFarland). На полужидкой среде средний срок роста 1% популяции (рабочей суспензии, разведенной в 100 раз) не отличается от такового в системе бульонного культивирования. Это дает возможность через 7–9 дней давать ответ о чувствительности исследуемого штамма. Совпадение сроков роста в контрольной пробирке и в пробирке с препаратом при резистентности к нему исследуемого изолята позволяет на 3–7-е сутки выявлять лекарственно-устойчивые штаммы, в особенности наиболее эпидемиологически опасные культуры с множественной лекарственной устойчивостью. В отношении изониазида, рифампицина, стрептомицина предлагаемый метод по своим параметрам не отличается от системы BACTEC MGIT 960 SIRE Kit, а относительно этамбутола даже несколько превосходит ее. Кроме того, преимуществом метода в сравнении с BACTEC MGIT 960 является использование стандартизированных по плотности суспензий МБТ. Метод ускоренного определения лекарственной чувствительности МБТ с помощью полужидкой среды Миддлбрука не уступает таковому в автоматизированной системе BACTEC MGIT 960, но значительно дешевле, так как не требует дорогостоящей аппаратуры и реагентов.

Список литературы

1. Тестов В.В., Стерликов С.А., Васильева И.А., Ерохин В.В., Кесаева Т.Ч. Результаты химиотерапии у больных туберкулезом с множественной лекарственной устойчивостью возбудителя в регионах Российской Федерации // Туберкулез и болезни легких. — 2014. — Т. 91, № 4. — С. 9–13.
2. Lew W., Pai M., Oxlade O., Martin D., Menzies D. Initial drug resistance and tuberculosis treatment outcomes: systematic review and meta-analysis. // Ann. Intern. Med. — 2008. — Vol. 149, N 2. — P. 123–134. doi: 10.7326/0003-4819-149-2-200807150-00008.
3. Носова Е.Ю., Краснова М.А., Галкина Л.Ю., Макарова М.В., Литвинов В.И., Мороз А.М. Сравнительная оценка эффективности молекулярных тест-систем «ТБ-БИОЧИП», «ХPERT МТВ/РИФ» и «GENOTYPE MTBDRPLUS» для быстрого определения мутаций, ответственных за лекарственную устойчивость *Mycobacterium tuberculosis* complex (в респираторном материале пациентов Московского региона) // Молекулярная биология. — 2013. — Т. 47, № 2. — С. 267. doi: http://dx.doi.org/10.7868/S0026898413010102.
4. Севастьянова Э.В., Пузанов В.А., Смирнова Т.Г., Ларионова Е.Е., Черноусова Л.Н. Оценка комплекса микробиологических и молекулярно-генетических методов исследований для диагностики туберкулеза // Туберкулез и болезни легких. — 2015. — № 1. — С. 35–41.
5. Rodwell T.C., Valafar F., Douglas J., Qian L., Garfein R.S., Chawla A., Torres J., Zadorozhny V., Kim M.S., Hoshide M., Catanzaro D., Jackson L., Lin G., Desmond E., Rodrigues C., Eisenach K., Victor T.C., Ismail N., Crudu V., Gler M.T., Catanzaro A. Predicting extensively drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* phenotypes with genetic mutations // J. Clin. Microbiol. — 2014. — Vol. 53, N 3. — P. 781–789. doi: 10.1128/JCM.02701-13.
6. Барило В.Н., Кузьмина А.В., Черноусова Л.Н., Голышевская В.И. Ускоренное определение чувствительности *Mycobacterium tuberculosis* к основным противотуберкулезным препаратам в системе «ВАСТЕС MGIT 960» и на биочипах «ТБ-БИОЧИП» // Туберкулез и болезни легких. — 2009. — № 11. — С. 56–60.
7. Garrigó M., Aragón L.M., Alcaide F., Borrell S., Cardeñosa E., Galán J.J., Gonzalez-Martín J., Martin-Casabona N., Moreno C., Salvado M., Coll P. Multicenter laboratory evaluation of the MB/BacT mycobacterium detection system and the BACTEC MGIT 960 system in comparison with the BACTEC 460TB system for susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis* // J. Clin. Microbiology — 2007. — Vol. 45, N 6. — P. 1766–1770. doi: 10.1128/JCM.02162-06.
8. Hwang S.M., Hwang K.C., Hong Y.J., Kim T.S., Park K.U., Son J., Kim E.C., Lee H.R., Lee J.H. Improving antitubercular drug susceptibility testing with liquid media // Annals of Clinical and Laboratory Science. — 2014. — Vol. 44, N 2. — С. 123–130.
9. О совершенствовании противотуберкулезных мероприятий в Российской Федерации: приказ Минздрава РФ от 21.03.2003 № 109. URL: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_100829/ (дата обращения: 07.07.2015).
10. Маничева О.А., Вишнеvский Б.И., Мякотина Е.Н. Ускоренное определение лекарственной устойчивости *Mycobacterium tuberculosis* с помощью полужидкой среды // Клинич. и лаборатор. диагностика. — 2003. — № 7. — С. 50–52.
11. Акимова Н.А., Морозова Т.П., Домотенко Л.В. Влияние pH среды на результаты определения чувствительности *M. tuberculosis* к этамбутолу // Туберкулез сегодня: материалы VII рос. съезда фтизиатров. — М.: БИНОМ, 2003. — С. 81.

Bibliography

1. Testov V.V., Sterlikov S.A., Vasil'eva I.A., Erokhin V.V., Kesaeva T. Ch. Rezul'taty khimioterapii u bol'nykh tuberkulezom s mnozhestvennoi lekarstvennoi ustoihivost'yu vozbuditelya v regionakh Rossiiskoi Federatsii // Tuberkulez i bolezni legkikh. — 2014. — Vol. 91, N 4. — P. 9–13. (rus)
2. Lew W., Pai M., Oxlade O., Martin D., Menzies D. Initial drug resistance and tuberculosis treatment outcomes: systematic review and meta-analysis. // Ann. Intern. Med. — 2008. — Vol. 149, N 2. — P. 123–134. doi: 10.7326/0003-4819-149-2-200807150-00008.
3. Nosova E.Yu., Krasnova M.A., Galkina L.Yu., Makarova M.V., Litvinov V.I., Moroz A.M. Sravnitel'naya otsenka effektivnosti molekulyarnykh test-sistem «TB-BIOCHIP», «XPERT MTB/RIF» i «GENOTYPE MTBDRPLUS» dlya bystrogo opredeleniya mutatsii, otvetstvennykh za lekarstvennyu ustoihivost' *Mycobacterium tuberculosis* complex (v respiratornom materiale patsientov Moskovskogo regiona) // Molekulyarnaya biologiya. — 2013. — Vol. 47, N 2. — P. 267. doi: http://dx.doi.org/10.7868/S0026898413010102. (rus)
4. Sevast'yanova E.V., Puzanov V.A., Smirnova T.G., Lariionova E.E., Chernousova L.N. Otsenka kompleksa mikrobiologicheskikh i molekulyarno-geneticheskikh metodov issledovaniya dlya diagnostiki tuberkuleza // Tuberkulez i bolezni legkikh. — 2015. — N 1. — P. 35–41. (rus)
5. Rodwell T.C., Valafar F., Douglas J., Qian L., Garfein R.S., Chawla A., Torres J., Zadorozhny V., Kim M.S., Hoshide M., Catanzaro D., Jackson L., Lin G., Desmond E., Rodrigues C., Eisenach K., Victor T.C., Ismail N., Crudu V., Gler M.T., Catanzaro A. Predicting extensively drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* phenotypes with genetic mutations // J. Clin. Microbiol. — 2014. — Vol. 53, N 3. — P. 781–789. doi: 10.1128/JCM.02701-13.
6. Barilo V.N., Kuz'mina A.V., Chernousova L.N., Golyshevskaya V.I. Uskorennoe opredelenie chuvstvitel'nosti *Mycobacterium tuberculosis* k osnovnym protivotuberkuleznym preparatam v sisteme «VASTES MGIT 960» i na biochipakh «TB-BIO-CHIP» // Tuberkulez i bolezni legkikh. — 2009. — N 11. — P. 56–60. (rus)
7. Garrigó M., Aragón L.M., Alcaide F., Borrell S., Cardeñosa E., Galán J.J., Gonzalez-Martín J., Martin-Casabona N., Moreno C., Salvado M., Coll P. Multicenter laboratory evaluation of the MB/BacT mycobacterium detection system and the BACTEC MGIT 960 system in comparison with the BACTEC 460TB system for susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis* // J. Clin. Microbiology — 2007. — Vol. 45, N 6. — P. 1766–1770. doi: 10.1128/JCM.02162-06.
8. Hwang S.M., Hwang K.C., Hong Y.J., Kim T.S., Park K.U., Son J., Kim E.C., Lee H.R., Lee J.H. Improving antitubercular drug susceptibility testing with liquid media // Annals of Clinical and Laboratory Science. — 2014. — Vol. 44, N 2. — С. 123–130.
9. O sovershenstvovaniy protivotuberkuleznykh meroprijatij v Rossijskoj Federacii: prikaz Minzdrava RF ot 21.03.2003 N 109. URL: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_100829/ (data obrashheniya: 07.07.2015). (rus)
10. Manicheva O.A., Vishnevskij B.I., Mjakotina E.N. Uskorennoe opredelenie lekarstvennoj ustojchivosti *Mycobacterium tuberculosis* s pomoshh'ju poluzhidkoj sredy // Klinich. i laborator. diagnostika. — 2003. — N 7. — P. 50–52. (rus)
11. Akimova N.A., Morozova T.P., Domotenko L.V. Vlijanie rN sredy na rezul'taty opredeleniya chuvstvitel'nosti *M. tuberculosis* k jetambutolu // Tuberkulez segodnja: materialy VII ros. s'ezda ftiziatrov. — M.: BINOM, 2003. — P. 81. (rus)