О. А. Журило, А. І. Барбова

ВИКОРИСТАННЯ МЕТОДУ ВИЗНАЧЕННЯ МІНІМАЛЬНИХ ІНГІБУЮЧИХ КОНЦЕНТРАЦІЙ В РІДКОМУ ЖИВИЛЬНОМУ СЕРЕДОВИЩІ ДЛЯ ОЦІНКИ СТУПЕНЮ МЕДИКАМЕНТОЗНОЇ СТІЙКОСТІ НЕТУБЕРКУЛЬОЗНИХ МІКОБАКТЕРІЙ

ДУ «Національний інститут фтизіатрії і пульмонології ім. Ф. Г. Яновського НАМН України»

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕТОДА ОПРЕДЕЛЕНИЯ МИНИМАЛЬНЫХ ИНГИБИРУЮЩИХ КОНЦЕНТРАЦИЙ В ЖИДКОЙ ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЕ ДЛЯ ОЦЕНКИ СТЕПЕНИ ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ НЕТУБЕРКУЛЕЗНЫХ МИКОБАКТЕРИЙ

А. А. Журило, А. И. Барбова

Резюме

Цель исследования — анализ лекарственной устойчивости (ЛУ) некоторых видов нетуберкулезных микобактерий (НТМБ) методом двойных серийных микроразведений препаратов разных групп для определения минимальных ингибирующих концентраций (МИК) в жидкой питательной среде с использованием тест-системы TREK Diagnostic Systems, Thermo Scientific — SLOWMYCO для медленно-растущих микобактерий и RAPMYCO для быстрорастущих микобактерий, нокардий и аэробных актиномицетов.

Материалы и методы. Методом ПЦР-гибридизации на стрип-полосках (Hain Lifescience GenoType Mycobacterium CM/AS) проведено генотипирование 143 изолятов НТМБ. ЛУ определяли культуральным методом с использованием наборов TREK Diagnostic Systems. Панель для медленно-растущих НТМБ позволяла определять МИК 13 препаратов, для быстрорастущих НТМБ — 15 препаратов.

Определение ЛУ НТМБ проводили следующим образом: суспензию выросшей на плотной питательной среде Левенштейна-Йенсена культуры НТМБ (в концентрации 5×10^5 КОЕ/мл), инокулировали в ячейки 96 луночных планшетов в количестве 100 мкл и инкубировали в термостате при температуре 37 °C до появления роста в контрольных лунках. Результаты интерпретировали с использованием бактериологического анализатора Sensititre Vizion System TREK Diagnostic Systems (США).

Результаты и выводы. Тест-система TREK Diagnostic Systems позволяет очень быстро определять ЛУ НТМБ и на сегодня является наиболее перспективной для внедрения во фтизиатрическую лабораторную службу Украины. Использование ПЦР-гибридизации на стрип-полосках с последующим определением ЛУ НТМБ методом двойных серийных микроразведений препаратов разных групп позволяют провести идентификацию видовой принадлежности НТМБ и определить ЛУ к антибактериальным препаратам.

Низкие МИК кларитромицина, линезолида, амикацина, моксифлоксацина для медленно-растущих НТМБ делают эти препараты наиболее эффективными для лечения микобактериозов, которые вызываются этой группой микроорганизмов. Для лечения микобактериозов, которые вызываются быстрорастущими НТМБ, более перспективными являются амикацин, линезолид, моксифлоксацин и ципрофлоксацин.

Ключевые слова: микобактериоз, лекарственная устойчивость, нетуберкулезные микобактерии, минимальная ингибирующая концентрация.

Укр. пульмонол. журнал. 2020, № 4. С. 61–65.

Журило Олександр Анатолійович

ДУ «Національний інститут фтизіатрії і пульмонології

ім. Ф. Г. Яновського НАМН України»

Зав. лабораторією мікробіології і біохімії туберкульозу

Д-р. мед. наук, професор

10, вул. М. Амосова, Київ, 03038, Україна

Тел: +38(044) 275-54-30

USE OF THE METHOD FOR DETERMINING MINIMUM INHIBITORY CONCENTRATIONS IN A LIQUID MEDIA FOR SUSCEPTIBILITY TESTING OF NON-TUBERCULOSIS MYCOBACTERIA

O. A. Zhurilo, A. I. Barbova

Abstract

The aim of the study was to analyze drug resistance (DR) of some types of non-tuberculosis mycobacterium (NTMB) using the method of double series of microdilutions of different antimicrobials for the determination of minimal inhibitory concentration (MIC) in a liquid nutrient medium using the TREK Diagnostic Systems test-system, Thermo Scientific — SLOWMYCO for slow-growing mycobacterium and RAPMYCO for fast-growing mycobacterium, nocardia and aerobic actinomycetes.

Materials and methods. Genotyping of 143 NTMB isolates was carried out by PCR hybridization on strip-strips (Hain Lifescience GenoType Mycobacterium CM/AS). DR was determined by the culture method using TREK Diagnostic Systems kits. The panel for slow-growing NTMBs made it possible to determine the MIC of 13 drugs, for fast-growing NTMBs — 15 drugs.

Determination of DR NTMB was carried out as follows: a suspension of NTMB culture grown on Levenshtein-Jensen solid nutrient medium (at a concentration of 5×10^5 CFU/ml) was inoculated into the cells of 96-cell plates in an amount of 100 μ L and incubated in a thermostat at 37 °C until growth in control wells. The results were interpreted using a bacteriological analyzer Sensititre Vizion System TREK Diagnostic Systems (USA).

Results and conclusion. The TREK Diagnostic Systems test-system allows fast determination of DR of NTMB, being the most promising for implementation into anti-tuberculosis laboratory service workflow in Ukraine. The use of PCR hybridization on strips with the subsequent determination of DR NTMB by the method of double serial microdilutions makes it possible to identify the species of NTMB and determine DR to antibacterial drugs.

Low MICs of clarithromycin, linezolid, amikacin, moxifloxacin for slow-growing NTMBs confirm efficacy of these antibiotics for the treatment of mycobacteriosis caused by this group of microorganisms. Amikacin, linezolid, moxifloxacin and ciprofloxacin are more effective for the treatment of mycobacteriosis caused by rapidly growing NTMBs.

Key words: mycobacteriosis, drug resistance, non-tuberculosis mycobacteria, minimum inhibitory concentration.

Ukr. Pulmonol. J. 2020; 4: 61–65.

Aleksandr A. Zhurilo

SI "National institute of phthisiology and pulmonology named

after F. G Yanovsky NAMS of Ukraine"

Chief of laboratory of microbiology and biochemistry of tuberculosis.

Doctor of medicine, professor

10, M. Amosova str., Kyiv, Ukraine

Tel: +38(044) 275-54-30

Висока природна стійкість нетуберкульозних мікобактерій (НТМБ) до більшості протитуберкульозних (ПТП) і антибактеріальних препаратів (АБП). При дослідженні механізму множинної медикаментозної стійкості

(ММБ) НТМБ було встановлено, що полісахариди (мікозид С) зовнішнього шару клітинної стінки перешкоджають дифузії хіміотерапевтичних препаратів всередину клітини. Однак можливим механізмом впливу на НТМБ вважається здатність високогідрофобних і низкополярних речовин розчинятися в ліпідах, що формують зовнішні шари бактерійної оболонки, і взаємодіяти з ліпідами клітинної стінки [1, 2, 3].

Одним з важливих способів захисту мікобактерій від впливу АБП є вироблення ними ферментів. Доведено наявність у різних видів мікобактерій внутрішньоклітинної бета-лактамази, яка зумовлює їх стійкість до бета-лактамних антибіотиків [4, 5, 6]. Вивчено властивості і поширеність аміноглікозидацетилюючих ферментів серед швидкозростаючих НТМБ [7]. Показано, що культури *Mycobacterium avium* complex (MAC) можуть мати фермент гідразидазу, який розкладає ізоніазид на неактивні продукти — ізонікотинову кислоту і гідразин [8]. Запропоновано гіпотезу, що пояснює природну стійкість культур MAC до протимікробних препаратів існуванням у них плазмід, що містять фактори резистентності [9].

Лікування інфекцій, викликаних НТМБ, — мікобактеріозів, є досить складним внаслідок природної ММС до більшості ПТП і інших АБП, що зазвичай не застосовуються для терапії туберкульозу. Тому лікування мікобактеріозу часто вимагає використання комбінації з декількох препаратів, хірургічного втручання або поєднання обох методів [10].

Виходячи з вищевикладеного, стає зрозумілим, що в бактеріологічній практиці недостатньо тільки охарактеризувати вид виділеного мікроорганізму, оцінити його етіологічну значимість в захворюванні людини. Для успішного проведення лікування антибіотиками, особливо у випадках хронічної інфекції, необхідно попередньо визначити ступінь чутливості до антибіотиків мікробів, що викликали захворювання.

Таким чином, одним із завдань фтизіатричної лабораторної служби (ФЛС) України в даний час є не тільки ідентифікація видової приналежності НТМБ, але і визначення їх чутливості до АМП та ПТП, визначення мінімальних інгібуючих концентрацій (МІК) препаратів щодо того чи іншого мікроорганізму.

Всього існує декілька методів визначення антибіотикорезистентності у мікобактерій. Більшість з них ґрунтуються на культивуванні мікобактерій на щільних або рідких живильних середовищах з додаванням антимікробних препаратів в різних концентраціях. Одним з найбільш перспективних на сьогодні методів є метод, який ґрунтується на подвійному серійному мікророзведенні препаратів різних груп для визначення мінімальних МІК [11]. Визначення МІК препаратів відомо давно і стало можливим з появою технології культивування мікобактерій на рідких середовищах. Однак не для всіх видів НТМБ критерії інтерпретації доопрацьовані і висвітлені в літературі, зокрема в рекомендаціях Інституту з клінічних та лабораторних стандартів США (CLSI) [12].

Тест-система TREK Diagnostic Systems, Thermo Scientific (виробництво США) — SLOWMYCO для повільнозростаючих мікобактерій та RAPMYCO для швидкозростаючих мікобактерій, нокардій і аеробних актиноміцетів широко використовуються у фтизіатричній лабораторній практиці в усьому світі [13], тоді як в Україні з цими тест-системами в лабораторіях ФЛС України до теперішнього часу не працюють.

Мета дослідження — аналіз медикаментозної стійкості (МС) деяких видів НТМБ методом подвійних серійних мікророзведень препаратів різних груп для визна-

чення МІК в рідкому поживному середовищі з використанням тест-системи TREK Diagnostic Systems, Thermo Scientific SLOWMYCO для повільнозростаючих мікобактерій та RAPMYCO для швидкозростаючих мікобактерій, нокардій і аеробних актиноміцетів.

Матеріали та методи

Методом ПЛР-гібридизації на стрип-смужках (Hain Lifescience GenoType *Mycobacterium* CM/AS) проведено генотипування 143 ізолятів НТМБ. Ізоляти виділені від пацієнтів протитуберкульозних стаціонарів України. За видами НТМБ розподілилися наступним чином: повільнозростаючі *M. avium* — 52 ізоляти, *M. intracellulare* — 17 ізолятів, *M. kansasii* — 9 ізолятів, *M. goodii* — 36 ізолятів, швидкозростаючі *M. fortuitum* — 20 ізолятів, *M. abscessus* — 9 ізолятів.

МС визначали культуральним методом із застосування наборів TREK Diagnostic Systems, використовували панелі для повільнозростаючих НТМБ (SLOWMYCO) і панелі для швидкозростаючих (RAPMYCO). Панель для повільнозростаючих дозволяє визначити МІК 13 препаратів (амікацин, доксициклін, кларитроміцин, лінезолід, моксифлоксацин, триметоприм/сульфометаксазол, цiproфлоксацин, ізоніазид, рифампіцин, рифабутин, стрептоміцин, етамбутол, етіонамід). Панель для швидкозростаючих НТМБ включає дворазові мікророзведення в лунках 15 препаратів (амікацин, амоксицилін, доксициклін, іміпенем, кларитроміцин, лінезолід, міноциклін, моксифлоксацин, тігекциклін, тобраміцин, триметоприм/сульфометаксазол, цефепім, цефокситин, цефтриаксон, цiproфлоксацин).

Визначення МС НТМБ проводили наступним чином: суспензію культури НТМБ, що виросла на середовищі Левенштейна-Єнсена (в концентрації 5×10^5 КУО/мл), інкулювали в осередки 96 ямкових планшетів в кількості 100 мкл і інкубували в термостаті при температурі 37 °C до появи зростання в контрольних лунках. Результати інтерпретували з використанням автоматичного бактеріологічного аналізатора Sensititre Vizion System TREK Diagnostic Systems (США). Обчислювали середню і помилку середньої для МІК, проводили підрахунок резистентних штамів серед повільнозростаючих і швидкозростаючих НТМБ.

Результати та їх обговорення

Частота резистентності досліджених ізолятів повільнозростаючих НТМБ до антимікробних препаратів і середня величина МІК антибактеріальних препаратів для повільнозростаючих НТМБ представлені в табл. 1 і 2.

Як видно з табл. 1 і 2, більшість ізолятів *M. avium* були стійкі до триметоприму (середня МІК 6,6 мкг/мл), доксицикліну (середня МІК 11,4 мкг/мл), етамбутолу (середня МІК 13,9 мкг/мл), етіонамиду (середня МІК 16,6 мкг/мл), цiproфлоксацину (середня МІК 11,1 мкг/мл). Для лінезоліду середня МІК склала 38,3 мкг/мл, для моксифлоксацину — 3,3 мкг/мл, для кларитроміцину — 13,5 мкг/мл.

Більшість ізолятів *M. intracellulare* були резистентні до доксицикліну (МІК 12,8 мкг/мл), етіонамиду (МІК 15,3 мкг/мл). Середня МІК для стрептоміцину склала 16,5 мкг/мл, етамбутолу — 4,4 мкг/мл, амікацину — 8,1 мкг/мл,

моксифлоксацину — 2,7 мкг/мл, лінезоліду — 15,2 мкг/мл, рифабутину — 3,3 мкг/мл. Найбільш ефективний відносно *M. intracellulare* був кларитроміцин — середня МІК складала 4,7 мкг/мл.

Дуже низька бактерицидна активність по відношенню до МАС виявлена при роздільній дії ізоніазиду, рифампіцину, рифабутину, етамбутолу, етіонаміду, що відповідає літературним даним [14, 15, 16].

Вивчення чутливості МАС до рифампіцину і його похідних показало, що якщо активність рифампіцину була дуже низькою (лише 13,5 % штамів *M. avium* і 17,6 % штамів *M. intracellulare* були чутливі до нього *in vitro*), то рифабутин можна розглядати як ефективний препарат відносно більшості культур МАС і його можна використовувати в комплексному лікуванні хворих з МАС-інфекцією (71,2 % штамів *M. avium* і 58,8 % штамів *M. intracellulare* були чутливі до нього *in vitro*) (табл. 1).

Великий розкид результатів дії ПТП на НТМБ можна, мабуть, пояснити, з мікробіологічної точки зору, гетерогенністю культур мікобактерій та особливостями застосованого методу дослідження. Серед виділених культур МАС зустрічаються пігментні і не пігментні варіанти колоній, а при певних умовах формуються прозорі і не прозорі колонії. Встановлено тісний взаємозв'язок між

морфологією колоній і бактеріологічними і біохімічними властивостями мікобактерій. Так, непрозорі колонії виявляють високу чутливість до АБП, прозорі колонії, навпаки, стійкі до них. Це може відображатися і на видовій стійкості мікобактерій [17, 18].

Метод дослідження також може впливати на результати МС НТМБ. Щільність мікробної суспензії, число КУО і період інкубації впливають на результат експерименту як в сторону збільшення, так і в бік зменшення МІК. Так, при підвищенні щільності суспензії, яку використовують для інокуляції, до 10^{-6} мікробних клітин в одиниці об'єму МІК рифампіцину збільшувалася тільки в 2–3 рази, для етіонаміду, стрептоміцину і етамбутолу — в 4–9 разів, а для стрептоміцину — в 30–35 разів [19, 20].

З огляду на незначну бактерицидну активність окремих ПТП щодо МАС, можливо їх комбіноване застосування з метою використання їх синергізму. Низька ефективність ПТП при МАС-інфекції *in vitro* створює необхідність включати в комплексне лікування АБП широкого спектру дії і сульфаніаміди, які зазвичай не застосовуються при туберкульозі. Макролід нового покоління — кларитроміцин показав найвищу активність щодо МАС (пригнічує зростання 84,6 % штамів *M. avium* і 88,2 % штамів *M. intracellulare*) (табл. 1).

Таблиця 1

Частота резистентності до антимікробних препаратів повільнозростаючих НТМБ, (М ± m) %

Препарати	Частота резистентності							
	<i>M. avium</i> (n = 52)		<i>M. intracellulare</i> (n = 17)		<i>M. kansasii</i> (n = 9)		<i>M. gordonae</i> (n = 36)	
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
Амікацин	31	59,6 ± 6,8	4	23,5 ± 10,3	0	0	0	0
Доксициклін	31	59,6 ± 6,8	15	88,2 ± 7,8	2	22,2 ± 13,9	0	0
Кларитроміцин	8	15,4 ± 5,0	2	11,8 ± 7,8	3	33,3 ± 15,7	10	27,8 ± 7,5
Лінезолід	38	73,0 ± 6,2	5	29,4 ± 11,0	2	22,2 ± 13,9	0	0
Моксифлоксацин	15	28,8 ± 6,3	8	47,1 ± 12,1	2	22,2 ± 13,9	0	0
Триметоприм / сульфаметаксазол	31	59,6 ± 6,8	9	52,9 ± 12,1	3	33,3 ± 15,7	0	0
Ципрофлоксацин	24	46,2 ± 6,9	11	64,7 ± 11,6	5	55,6 ± 16,6	0	0
Ізоніазид	35	67,3 ± 6,5	16	94,1 ± 5,7	5	55,6 ± 16,6	6	16,7 ± 6,2
Рифампіцин	45	86,5 ± 4,7	14	82,4 ± 9,2	3	33,3 ± 15,7	0	0
Рифабутин	15	28,8 ± 6,3	7	41,2 ± 11,9	0	0	7	19,4 ± 6,6
Стрептоміцин	24	46,2 ± 6,9	7	41,2 ± 11,9	2	22,2 ± 13,9	9	23,1 ± 7,0
Етамбутол	45	86,5 ± 4,7	7	41,2 ± 11,9	7	77,7 ± 13,9	5	13,9 ± 5,8
Етіонамід	35	67,3 ± 6,5	11	64,7 ± 11,6	2	22,2 ± 13,9	0	0

Таблиця 2

Середня МІК антимікробних препаратів для повільнозростаючих НТМБ, (М ± m) %

Препарати	Середня МІК антимікробних препаратів			
	<i>M. avium</i>	<i>M. intracellulare</i>	<i>M. kansasii</i>	<i>M. gordonae</i>
Амікацин	24,3 ± 7,9	8,1 ± 1,1	8,0 ± 2,2	4,3 ± 0,7
Доксициклін	11,4 ± 2,2	12,8 ± 1,3	7,0 ± 2,7	0,8 ± 0,2
Кларитроміцин	13,5 ± 8,7	4,7 ± 3,5	6,5 ± 3,9	2,4 ± 1,5
Лінезолід	38,3 ± 10,0	15,2 ± 2,2	9,6 ± 5,6	2,6 ± 0,4
Моксифлоксацин	3,3 ± 1,0	2,7 ± 0,6	1,1 ± 0,7	0,4 ± 0,1
Триметоприм/сульфаметаксазол	6,6 ± 1,0	5,5 ± 1,0	3,6 ± 1,8	0,5 ± 0,1
Ципрофлоксацин	11,1 ± 2,4	8,5 ± 1,4	5,2 ± 2,8	1,3 ± 0,5
Ізоніазид	6,4 ± 1,1	6,8 ± 0,6	6,8 ± 1,2	2,7 ± 1,1
Рифампіцин	7,1 ± 0,9	5,6 ± 0,7	2,3 ± 1,5	1,0 ± 0,3
Рифабутин	4,4 ± 1,1	3,3 ± 0,7	1,8 ± 0,6	2,7 ± 1,0
Стрептоміцин	34,3 ± 8,1	16,5 ± 2,3	9,2 ± 2,9	18,3 ± 8,6
Етамбутол	13,9 ± 2,1	4,4 ± 0,7	10,0 ± 2,7	5,0 ± 2,0
Етіонамід	16,6 ± 1,8	15,3 ± 1,3	9,0 ± 3,2	3,2 ± 1,3

Таблиця 3

Частота резистентності до антимікробних препаратів швидкорозостаючих НТМБ, (M ± m) %

Препарати	Частота резистентності			
	<i>M. abscessus</i> (n = 9)		<i>M. fortuitum</i> (n = 20)	
	Абс.	%	Абс.	%
Амікацин	1	11,1 ± 10,5	20	100
Амоксилав	5	55,6 ± 16,6	20	100
Доксициклін	4	44,4 ± 16,5	20	100
Іміпенем	6	66,7 ± 15,7	20	100
Кларитроміцин	1	11,1 ± 10,5	9	45,0 ± 11,1
Лінезолід	9	0	4	20,0 ± 8,9
Міноциклін	4	44,4 ± 16,5	17	85,0 ± 8,0
Моксифлоксацин	9	0	20	0
Тігециклін	9	0	4	20,0 ± 8,9
Тобрамицин	4	44,4 ± 16,5	12	60,0 ± 11,0
Триметоприм/ сульфометаксазол	1	11,1 ± 10,5	4	20,0 ± 8,9
Цефепім	5	55,6 ± 16,6	20	100
Цефокситин	4	44,4 ± 16,5	17	85,0 ± 8,0
Цефтриаксон	5	55,6 ± 16,6	20	100
Ципрофлоксацин	3	33,3 ± 15,7	20	100

В даний час широко застосовуються для лікування мікобактеріозів нові синтетичні медикаментозні засоби, що отримали назву фторхінолонів. Механізм антимікробної дії фторхінолонів пов'язаний з пригніченням ДНК-гірази. Внутрішньоклітинна локалізація мікобактерій вимагає застосування хіміотерапевтичних засобів, здатних добре проникати в клітини макроорганізму і досягати високих концентрацій в тканинах. Фторхінолони повністю відповідають цим вимогам.

В результаті проведених нами досліджень було виявлено всього лише 28,8 % штамів *M. avium* стійких до моксифлоксацину і 46,2 % до ципрофлоксацину. Відносно *M. intracellulare* відповідно: 47,1 % і 64,7 % (табл. 1).

Більшість ізолятів *M. kansasii* були чутливі до фторхінолонів: для моксифлоксацину середня МІК склала 1,1 мкг/мл, для ципрофлоксацину — 5,2 мкг/мл. Встановлено, що гарну активність щодо штамів *M. kansasii* проявляли стрептоміцин і рифабутин. Це свідчить про те, що при цій інфекції поряд з ПТП можна застосовувати антибіотики широкого спектру дії і сульфаніламід.

Встановлено чутливість *M. goodii* до доксицикліну (середня МІК 0,8 мкг/мл), лінезоліду (середня МІК 2,6 мкг/мл), моксифлоксацину (середня МІК 0,4 мкг/мл).

Частота резистентності досліджених ізолятів швидкорозостаючих НТМБ до антимікробних препаратів і середня величина МІК антибактеріальних препаратів для швидкорозостаючих НТМБ наведені в табл. 3 і 4. Аналіз результатів представлених в табл. 3 показує, що швидкорозостаючі мікобактерії виявляють дуже високу стійкість до різних АМП.

Більшість ізолятів *M. abscessus* були стійкі навіть до високих концентрацій цефокситину (МІК 61,3 мкг/мл) (табл. 4), іміпенему (МІК 26,9 мкг/мл), цефтриаксону (МІК 31,1 мкг/мл). Помірна чутливість зафіксована для ципрофлоксацину (МІК 2,4 мкг/мл), кларитроміцину (МІК 3,2 мкг/мл), лінезоліду (МІК 4,1 мкг/мл), моксифлоксацину — 2,4 мкг/мл. Амікацин, найбільш доступний препарат, також показав добру ефективність (МІК 9,4 мкг/мл).

Таблиця 4

Середня МІК антимікробних препаратів для швидкорозостаючих НТМБ, (M ± m) %

Препарати	Середня МІК антимікробних препаратів	
	<i>M. abscessus</i> (n = 9)	<i>M. fortuitum</i> (n = 20)
Амікацин	9,4 ± 6,9	2,0 ± 0,6
Амоксилав	30,2 ± 7,2	64,0 ± 0
Доксициклін	8,7 ± 2,4	16,0 ± 0
Іміпенем	26,9 ± 7,8	44,8 ± 11,8
Кларитроміцин	3,2 ± 1,7	17,6 ± 11,9
Лінезолід	4,1 ± 1,7	4,8 ± 1,4
Міноциклін	4,7 ± 1,1	8,0 ± 0
Моксифлоксацин	2,4 ± 0,5	0,4 ± 0,6
Тігециклін	0,8 ± 0,3	1,6 ± 0,7
Тобрамицин	5,7 ± 1,5	12,8 ± 2,0
Триметоприм/ сульфометаксазол	2,8 ± 0,9	2,6 ± 1,8
Цефепім	20,9 ± 4,6	32,0 ± 0
Цефокситин	61,3 ± 17,5	89,6 ± 23,5
Цефтриаксон	31,1 ± 6,9	64,0 ± 0
Ципрофлоксацин	2,4 ± 0,5	0,6 ± 0,2

Високі показники МІК амоксилаву і доксицикліну дозволяють припустити тотальну резистентність до них всіх ізолятів *M. fortuitum*, середня МІК цефокситину варіювала в діапазоні 89,6 мкг/мл, спостерігалася чутливість до амікацину (середня МІК 2,0 мкг/мл) і лінезоліду (середня МІК 4,8 мкг/мл).

Мікобактеріоз відноситься до поліетіологічних захворювань, погано піддається етіотропної терапії. Для спрощення завдання клініциста при оцінці ролі інфекційного агента і виборі варіанту хіміотерапії Bailey J. P. et al. (1982) [21] була запропонована клінічна класифікація НТМБ, заснована на ступені ефективності дії АБП на збудника мікобактеріозу. У нульовий клас увійшли сапрофітні мікобактерії. Потенційно-патогенні мікобактерії розділені на 2 класи. До першого класу віднесено *M. kansasii*, *M. xenopi*, *M. marinum*. Захворювання, які вони викликають, вважаються легковиліковуваними, для їх лікування можна використовувати ПТП. Другий клас включав *M. scrofulaceum* і швидкорозостаючі мікобактерії. Захворювання, які вони викликають, оцінюються як важковиліковуваними, для їх лікування поряд з ПТП рекомендується застосовувати АБП широкого спектру дії. Автор вважає, що така класифікація допоможе лікарю вибрати адекватну терапію відразу після встановлення виду збудника захворювання, не чекаючи результатів визначення медикаментозної чутливості мікобактерій.

Висновки

1. Тест-системи TREK Diagnostic Systems, Thermo Scientific SLOWMYCO для повільнорозостаючих мікобактерій і RAPMYCO для швидкорозостаючих мікобактерій, нокардій і аеробних актиноміцетів дозволяють дуже швидко визначати МС НТМБ. Метод визначення МІК в рідкому поживному середовищі, який ґрунтується на подвійному серійному мікророзведенні препаратів є найбільш перспективним для ФЛС України.

2. Використання гено-фенотипічних методів — метод ПЛР-гібридизації на стрип-смужках (Hain Lifesci-

ence GenoType Mycobacterium CM/AS) з наступним визначенням МС НТМБ методом подвійних серійних мікро-розведень препаратів різних груп дозволяють не тільки провести ідентифікацію видової приналежності НТМБ, але і визначити їх чутливість до АМП та ПТП.

3. Низькі МІК кларитроміцину, лінезоліду, амікацину, моксифлоксацину для повільнозростаючих НТМБ роблять ці препарати найбільш ефективними при лікуванні мікобактеріозів, які викликаються цією групою мікроорганізмів. При лікуванні мікобактеріозів, які викликаються швидкозростаючими НТМБ більш перспективними є амікацин, лінезолід, моксифлоксацин і ципрофлоксацин.

4. Більшість ізолятів *M. avium* були стійкі до триметоприму, доксицикліну, етамбутолу, етіонаміду, ципрофлоксацину. Для лінезоліду середня МІК склала 38,3 мкг/мл, для моксифлоксацину — 3,3 мкг/мл, для кларитроміцину — 13,5 мкг/мл. Вивчення чутливості МАС до рифам-

піцину і його похідних показало, що якщо активність рифампіцину була дуже низькою (лише 13,5 % штамів *M. avium* і 17,6 % штамів *M. intracellulare* були чутливі до нього *in vitro*), то рифабутин можна розглядати як ефективний препарат відносно більшості культур МАС і його можна використовувати в комплексному лікуванні хворих з МАС-інфекцією (71,2 % штамів *M. avium* і 58,8 % штамів *M. intracellulare* були чутливі до нього *in vitro*).

5. Великий розкид результатів дії ПТП на НТМБ можна пояснити, з мікробіологічної точки зору, гетерогенністю культур мікобактерій та особливостями застосованого методу дослідження. Метод дослідження також може впливати на результати МС НТМБ. Щільність мікробної суспензії, число колонієутворюючих одиниць і період інкубації впливають на результат експерименту як в сторону збільшення, так і в бік зменшення МІК.

ЛІТЕРАТУРА

- Otten TF, Vasiliyev AV. Микобактериоз. СПб: Медицинская пресса. 2005:224.
- Модель ЛМ. Биология туберкулезных микобактерий и иммунология туберкулеза. М: Медгиз. 1958:314.
- Hugo DI, et al. Uptake of selected antibacterial agents in *Mycobacterium avium*. Zbl. Bakt. Mikrobiol. Hyg. 1987;265A(3-4):385-392.
- Kasik JE. The nature of mycobacterial penicillinase. Amer. Rev. resp. Dis. 1965;91:117-118. DOI: 10.1164/arrd.1965.91.1.117
- Levy-Frebault V, et al. Identification of *Mycobacterium fortuitum* and *Mycobacterium chelonae*. J. Clin. Microbiol. 1983;17(5):744-752. DOI: 10.1128/jcm.17.5.744-752.1983
- Zhang I, Steingrube VA, Wallace RJ. Beta-lactamase inhibitors and the inducibility of the beta-lactamase of *Mycobacterium tuberculosis*. Amer. Rev. Resp. Dis. 1992;145 (3):657-600. DOI: 10.1164/ajrccm/145.3.657
- Udou T, Mizuguchi Y, Wallace RJ. Patterns and distribution of aminoglycoside-acetylating enzymes in rapidly growing mycobacteria. Amer. Rev. Resp. Dis. 1987;136(2):338-343. DOI: 10.1164/ajrccm/136.2.338
- Toida I. Isoniazid-hydrolyzing enzyme of mycobacteria. Amer. Rev. Resp. Dis. 1962;85(5): 720-726.
- Tsukamura M, Miyachi T. Correlations among Naturally Occurring Resistances to Antituberculosis Drugs in *Mycobacterium avium* Complex Strains. Amer. Rev. Resp. Dis. 1989;139(4):1033-1035. <https://doi.org/10.1164/ajrccm/139.4.1033>
- Katoch VM. Infections due to nontuberculous mycobacteria (NTM). Indian J. Med. Res. 2004;120:290-304.
- Биргер МО, и др. Справочник по микробиологическим и вирусологическим методам исследования. М: Медицина. 1982:462.
- Gail LW, et al. Susceptibility Testing of *Mycobacteria*, *Nocardia* and other aerobic Actinomycetes; approved Standard — 2nd Edition. M24 — A2 Wayne, PA. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2011:76. ISBN-10: 1-56238-746-4.
- Андреевская СН, и соавт. Лекарственная чувствительность медленно-растущих нетуберкулезных микобактерий. Туберкулез и болезни легких. 2016;94(4):43-50.
- Maesaki S, et al. The comparison of drug susceptibility of antituberculous agents against *colonizid M. intracellulare* and infectious *M. intracellulare*. Kekkaku. 1991;66(7):503-505.
- Tomioka H, Sato K, Saito H. In vitro susceptibilities of *Mycobacterium avium* and *Mycobacterium intracellulare* to various drugs. Kekkaku. 1991;66(7):489-492.
- Tsukamura M. Evaluation of clinical efficacy of isoniazid and ethambutol in the treatment of nontuberculous mycobacteriosis based in vitro susceptibility testing. Kekkaku. 1989;64(8): 511-518.
- Schaefer WB, Davis CL, Cohn MJ. Pathogenicity of transparent, opaque, and rough variants of *Mycobacterium avium* in chickens and mice. Amer. Rev. resp. Dis. 1970;102(4):499-506. DOI: 10.1164/arrd.1970.102.4.499
- Tsukamura M. Determination of the susceptibilities to antituberculosis agents in *Mycobacterium avium* — *Mycobacterium intracellulare* complex. Kekkaku. 1990;65(7): 471-475.
- Trimble KA, Sanders WE, Clark RB. Comparison of susceptibility tests for rapidly growing mycobacterial. Abstr. Ann. Meet. Amer. Soc. Microbiol. Washington, D. C. 1986:391.
- Tsukamura M, Jamori S. In vitro susceptibility of *Mycobacterium avium* complex to isoniazid and ethionamide. Kekkaku. 1990;65(3):243-247.
- Bailey JP, et al. *Mycobacterium marinum* infection. JAMA. 1982;247(9):1314. DOI:10.1001/jama.1982.03320340068039

REFERENCES

- Otten TF, Vasiliyev AV. *Mikobakterioz* (Mycobacteriosis). St. Petersburg: Meditsinskaya Pressa. 2005:224.
- Model LM. *Biologiya tuberculoznykh mycobacteriy i immunologiya tuberculeza* (Biology of mycobacterium tuberculosis and immunology of tuberculosis). M: Medgiz. 1958:314.
- Hugo DI, et al. Uptake of selected antibacterial agents in *Mycobacterium avium*. Zbl. Bakt. Mikrobiol. Hyg. 1987;265A(3-4):385-392.
- Kasik JE. The nature of mycobacterial penicillinase. Amer. Rev. resp. Dis. 1965;91:117-118. DOI: 10.1164/arrd.1965.91.1.117
- Levy-Frebault V, et al. Identification of *Mycobacterium fortuitum* and *Mycobacterium chelonae*. J. Clin. Microbiol. 1983;17(5):744-752. DOI: 10.1128/jcm.17.5.744-752.1983
- Zhang I, Steingrube VA, Wallace RJ. Beta-lactamase inhibitors and the inducibility of the beta-lactamase of *Mycobacterium tuberculosis*. Amer. Rev. Resp. Dis. 1992;145 (3):657-600. DOI: 10.1164/ajrccm/145.3.657
- Udou T, Mizuguchi Y, Wallace RJ. Patterns and distribution of aminoglycoside-acetylating enzymes in rapidly growing mycobacteria. Amer. Rev. Resp. Dis. 1987;136(2):338-343. DOI: 10.1164/ajrccm/136.2.338
- Toida I. Isoniazid-hydrolyzing enzyme of mycobacteria. Amer. Rev. Resp. Dis. 1962;85(5): 720-726.
- Tsukamura M, Miyachi T. Correlations among Naturally Occurring Resistances to Antituberculosis Drugs in *Mycobacterium avium* Complex Strains. Amer. Rev. Resp. Dis. 1989;139(4):1033-1035. <https://doi.org/10.1164/ajrccm/139.4.1033>
- Katoch VM. Infections due to nontuberculous mycobacteria (NTM). Indian J. Med. Res. 2004;120:290-304.
- Birger MO, et al. *Spravochnik po mikrobiologicheskim i virusologicheskim metodam issledovaniy* (Handbook of microbiological and virological research methods). M: Medicina. 1982:462.
- Gail LW, et al. Susceptibility Testing of *Mycobacteria*, *Nocardia* and other aerobic Actinomycetes; approved Standard — 2nd Edition. M24 — A2 Wayne, PA. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2011:76. ISBN-10: 1-56238-746-4.
- Андреевская СН, et al. Drug susceptibility of the slow growing non-tuberculous mycobacteria. Tuberculosis and Lung Diseases. 2016;94(4):43-50.
- Maesaki S, et al. The comparison of drug susceptibility of antituberculous agents against *colonizid M. intracellulare* and infectious *M. intracellulare*. Kekkaku. 1991;66(7): 503-505.
- Tomioka H, Sato K, Saito H. In vitro susceptibilities of *Mycobacterium avium* and *Mycobacterium intracellulare* to various drugs. Kekkaku. 1991;66(7):489-492.
- Tsukamura M. Evaluation of clinical efficacy of isoniazid and ethambutol in the treatment of nontuberculous mycobacteriosis based in vitro susceptibility testing. Kekkaku. 1989;64(8): 511-518.
- Schaefer WB, Davis CL, Cohn MJ. Pathogenicity of transparent, opaque, and rough variants of *Mycobacterium avium* in chickens and mice. Amer. Rev. resp. Dis. 1970; 102(4):499-506. DOI: 10.1164/arrd.1970.102.4.499
- Tsukamura M. Determination of the susceptibilities to antituberculosis agents in *Mycobacterium avium* — *Mycobacterium intracellulare* complex. Kekkaku. 1990;65(7):471-475.
- Trimble KA, Sanders WE, Clark RB. Comparison of susceptibility tests for rapidly growing mycobacterial. Abstr. Ann. Meet. Amer. Soc. Microbiol. Washington, D. C. 1986:391.
- Tsukamura M, Jamori S. In vitro susceptibility of *Mycobacterium avium* complex to isoniazid and ethionamide. Kekkaku. 1990;65(3):243-247.
- Bailey JP, et al. *Mycobacterium marinum* infection. JAMA. 1982;247(9):1314. DOI:10.1001/jama.1982.03320340068039