

ПРАВИТЕЛЬСТВО МОСКВЫ
ДЕПАРТАМЕНТ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ ГОРОДА МОСКВЫ

СОГЛАСОВАНО

Главный внештатный специалист
фтизиатр Департамента
здравоохранения г. Москвы


Е.М. Богородская
«21» _____ 2024 г.


РЕКОМЕНДОВАНО

Экспертным советом по науке
Департамента здравоохранения
города Москвы № 5


«02» Апреля 2024 г.


ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ
МЕДЛЕННОРАСТУЩИХ НЕТУБЕРКУЛЕЗНЫХ
МИКОБАКТЕРИЙ К БЕДАКВИЛИНУ

Методические рекомендации № 22

Москва 2024

УДК 616-002.5(035)

ББК 55.4

О-624

Организация-разработчик:

Государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Московский городской научно-практический центр борьбы с туберкулезом Департамента здравоохранения города Москвы»

Составители:

Макарова М.В. – главный научный сотрудник отдела проблем лабораторной диагностики туберкулеза и патоморфологии, д. б. н.

Крылова Л.Ю. – ведущий научный сотрудник отдела проблем лабораторной диагностики туберкулеза и патоморфологии, к. б. н.

Михайлова Ю.Д. – ведущий научный сотрудник отдела проблем лабораторной диагностики туберкулеза и патоморфологии, к. б. н.

Хачатурянц Е.Н. – научный сотрудник отдела проблем лабораторной диагностики туберкулеза и патоморфологии, врач-бактериолог, к. б. н.

Фрейман Г.Е. – заведующий централизованной бактериологической лабораторией, к. м. н.

Носова Е.Ю. – ведущий научный сотрудник отдела проблем лабораторной диагностики туберкулеза и патоморфологии, д. м. н.

Краснова М.А. – ведущий научный сотрудник отдела проблем лабораторной диагностики туберкулеза и патоморфологии, к. м. н.

Сафонова С.Г. – заведующая отделом проблем лабораторной диагностики туберкулеза и патоморфологии, д. б. н.

Литвинов В.И. – научный руководитель ГБУЗ «МНПЦ борьбы с туберкулезом ДЗМ», академик РАН, профессор, д. м. н.

О-624 Определение чувствительности медленнорастущих нетуберкулезных микобактерий к бедаквилину: методические рекомендации / сост.: М.В. Макарова, Л.Ю. Крылова, Ю.Д. Михайлова [и др.]. – М.: ГБУЗ «МНПЦ борьбы с туберкулезом ДЗМ», 2024. – 31 с.

Рецензент:

Черноусова Л.Н., главный научный сотрудник отдела микробиологии ФГБНУ «Центральный научно-исследовательский институт туберкулеза», профессор, д.б.н.;

Земенков Д.В., в.н.с. лаборатории технологий молекулярной диагностики, Центр высокоточного геномного редактирования и генетических технологий для биомедицины, Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук (ИМБ РАН).

Методические рекомендации предназначены для врачей-фтизиатров, пульмонологов, инфекционистов, сотрудников микробиологических лабораторий.

В методических рекомендациях описан разработанный авторами метод определения лекарственной чувствительности медленнорастущих нетуберкулезных микобактерий (*complex* и *M. kansasii*) к новому антибактериальному препарату из группы диарилхинолинов – бедаквилину, который начинают применять для лечения микобактериозов, вызываемых этими видами микобактерий.

Данные методические рекомендации разработаны в рамках выполнения научно-исследовательской работы «Разработка комплекса исследований для ускоренной диагностики и детекции лекарственной чувствительности возбудителя туберкулеза и сочетанных инфекций, в том числе с применением отечественных технологий»

Данный документ является собственностью Департамента здравоохранения города Москвы и не подлежит тиражированию и распространению без соответствующего разрешения

ISBN

©Департамент здравоохранения города Москвы, 2024

©ГБУЗ «МНПЦ борьбы с туберкулёзом ДЗМ», 2024

©Коллектив авторов, 2024

СОДЕРЖАНИЕ

НОРМАТИВНЫЕ ССЫЛКИ	5
ТЕРМИНЫ И ОПРЕДЕЛЕНИЯ	6
ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ	7
ВВЕДЕНИЕ.....	9
ОПИСАНИЕ МЕТОДА.....	15
РЕЗУЛЬТАТЫ ПРИМЕНЕНИЯ РАЗРАБОТАННОЙ МЕТОДИКИ.....	17
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	22
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ	23

НОРМАТИВНЫЕ ССЫЛКИ

В настоящем документе использованы ссылки на следующие нормативные документы (стандарты):

1. ГОСТ Р 52623.4-2015 Технологии выполнения простых медицинских услуг инвазивных вмешательств
2. ГОСТ Р 53079.4-2008 Технологии лабораторные клинические. Обеспечение качества клинических лабораторных исследований. Часть 4. Правила ведения преаналитического этапа
3. ГОСТ Р 51088-97 Наборы реагентов для клинической лабораторной диагностики. Общие технические условия
4. ГОСТ Р 51352-99 Наборы реагентов для клинической лабораторной диагностики. Методы испытаний
5. Приказ МЗ РФ от 29.12.14 № 951 «Об утверждении методических рекомендаций по совершенствованию диагностики и лечения туберкулеза органов дыхания»
6. Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации от 21.03.2003 № 109 «О совершенствовании противотуберкулезных мероприятий в Российской Федерации»

ТЕРМИНЫ И ОПРЕДЕЛЕНИЯ

В настоящем документе применяют следующие термины с соответствующими определениями:

Микобактериоз – заболевание, вызываемое микобактериями

Нетуберкулезные микобактерии – микобактерии, не входящие в *M. tuberculosis complex*

Медленнорастущие нетуберкулезные микобактерии – для появления видимого роста на плотной питательной среде требуется более 7 дней.

Лекарственная устойчивость – устойчивость микобактерий к одному или нескольким противотуберкулезным препаратам.

Множественная лекарственная устойчивость (МЛУ) – одновременная устойчивость *M. tuberculosis* к изониазиду и рифампицину независимо от наличия устойчивости к другим противотуберкулезным препаратам.

Широкая лекарственная устойчивость – одновременная устойчивость *M. tuberculosis* к изониазиду и рифампицину, к любому из фторхинолонов и одному из инъекционных препаратов II ряда (канамицину, амикацину или капреомицину)

Фенотипические методы – культивирование микобактерий на различных питательных средах, их идентификация и определение лекарственной чувствительности в присутствии антибактериальных препаратов.

Молекулярно-генетические методы – выявление ДНК микобактерий в диагностическом материале, определение специфических мутаций, связанных с устойчивостью к определенным антибактериальным препаратам и определение видоспецифических генов для видовой идентификации микобактерий.

ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ

ВОЗ	<i>Всемирная организация здравоохранения</i>
ГБУЗ «МНПЦ борьбы с туберкулезом ДЗМ»	<i>Государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Московский городской научно-практический Центр борьбы с туберкулезом Департамента здравоохранения города Москвы»</i>
ВИЧ	<i>Вирус иммунодефицита человека</i>
НТМБ	<i>Нетуберкулезные микобактерии</i>
ЛЧ	<i>Лекарственная чувствительность</i>
ЛУ	<i>Лекарственная устойчивость</i>
МЛУ	<i>Множественная лекарственная устойчивость</i>
ШЛУ	<i>Широкая лекарственная устойчивость</i>
ПТП	<i>Противотуберкулезные препараты</i>
АБП	<i>Антибактериальные препараты</i>
Л-Й	<i>Левеништейна-Йенсена плотная питательная среда</i>
М-Х	<i>Жидкая питательная среда Мюллера – Хинтона</i>
Vactec 960	<i>Автоматизированная система VactecTM MGITTM 960</i>
КК	<i>Критическая концентрация</i>
МИК	<i>Минимальная ингибирующая концентрация</i>
МИК ₅₀	<i>Минимальная концентрация, ингибирующая рост 50% штаммов</i>
МИК ₉₀	<i>Минимальная концентрация, ингибирующая рост 90% штаммов</i>
МГМ	<i>Молекулярно-генетические методы</i>
АМИ	<i>Амикацин</i>
DOX	<i>Доксициклин</i>
INH	<i>Изониазид</i>
CLA	<i>Кларитромицин</i>

LZD	<i>Линезолид</i>
MXF	<i>Моксифлоксацин</i>
RFB	<i>Рифабутин</i>
RIF	<i>Рифампицин</i>
S	<i>Стрептомицин</i>
SXT	<i>Триметоприм/сульфаметоксазол</i>
CIP	<i>Ципрофлоксацин</i>
EMB	<i>Этамбутол</i>
ETH	<i>Этионамид</i>
DMCO	<i>Диметилсульфоксид</i>

ВВЕДЕНИЕ

Нетуберкулезные микобактерии (НТМБ) и вызываемая ими патология – микобактериоз приобретают все большее практическое значение. За последние десятилетия распространенность инфекций, вызванных НТМБ, увеличилась во всем мире, а в некоторых странах микобактериозы выявляют даже чаще, чем туберкулез [Литвинов В.И. и др., 2008; Griffith D. et al., 2007; Thomson R. et al., 2010; Prevots D., Marras T., 2015; Adjemian J. et al., 2018; Zweijpenning S. et al., 2018; Kumar K., Loebinger M., 2022]. Это (по крайней мере в России), в частности, связано с улучшением их диагностики, которую в большинстве случаев проводят в противотуберкулезных учреждениях [Оттен Т.Ф., Васильев А.В., 2005; Литвинов В.И. и др., 2008, 2014, Смирнова Т.Г., Андреевская С.Н., Ларионова Е.Е., Черноусова Л.Н., Устинова 2018, 2021, Устинова В.В., Смирнова Т.Г., Варламов и др., 2017, Андреевская С.Н., Смирнова Т.Г., Черноусова Л.Н., 2017].

Сегодня известно около 200 видов НТМБ и постоянно обнаруживаются новые. Часто разные виды НТМБ отличаются лишь по небольшим участкам генома, и в клинической практике, при отсутствии различий в фенотипических проявлениях – в первую очередь в лекарственной чувствительности, их объединяют в комплексы [Оттен Т.Ф., Васильев А.В., 2005; Литвинов В.И. и др., 2008, 2014; Heifets L., 2000, 2004; Griffith D. et al., 2007; Koh W. et al., 2017; Turenne C., 2019; Warley C., Winthrop K., 2022].

Нетуберкулезные микобактерии широко распространены в природе – в почве, воде (в т.ч. водопроводной), воздухе (аэрозолях); попадают в растворы для инъекций и т.д. [Оттен Т.Ф., Васильев А.В., 2005; Holland S., 2001; Falkinham J., 2002, 2021; Halstrom S. et al., 2015].

Можно отметить, что наиболее «значимые» сегодня в клинической практике НТМБ, которые часто обнаруживаются в воде и почве, генетически (в разной степени) «сходны» с *M. tuberculosis* [Holland S., 2001; Falkinham J., 2021]. При этом они могут вызывать поражения, подобные таковым при туберкулезе [Литвинов В.И. и др., 2008; Griffith D. et al., 2007; Tortoli E., 2009; Daley C., 2017; To K. et al., 2020; Dahl V. et al., 2022].

Почти 100 видов НТМБ могут вызывать заболевания у человека и животных (с разной частотой) [Оттен Т.Ф., Васильев А.В., 2005; Литвинов В.И. и др., 2008, 2014; Griffith D.et al., 2007; Koh W.et al.,2017; Cowman S.et al., 2019;_Dahl V.et al.,2022].

Среди медленнорастущих НТМБ основными возбудителями микобактериоза в большинстве стран Европы (в т.ч. России) являются микобактерии комплекса *avium-intracellulare* (МАС) и *M. kansasii* [Оттен Т.Ф., Васильев А.В., 2005; Литвинов В.И. и др., 2008, 2014; Prevots D., Marras T., 2014; Kumar K., Loebinger M., 2022].

МАС являются возбудителями микобактериоза с поражением практически любых органов и тканей. Но в первую очередь это легочный микобактериоз (у взрослых), лимфоадениты у детей и диссеминированные (генерализованные – по российской терминологии) поражения у лиц с серьезными нарушениями иммунитета, в первую очередь у ВИЧ-инфицированных на стадии СПИД. Нередким является также микобактериоз внелегочных локализаций (костей и суставов, мочеполовых органов и др.) [Winthrop K. et al,2010; То К. et al., 2020; van Ingen J. et al, 2021]

M. kansasii могут вызывать поражения легких (чаще всего), кожи и мягких тканей, скелетно-мышечных тканей, артриты и теносиновиты, лимфадениты, но основными (как и в ситуации с МАС) являются хронические респираторные инфекции и диссеминированные заболевания у ВИЧ-инфицированных лиц. При этом патология, вызываемая *M. kansasii*, часто малоотличима от туберкулеза. Среди НТМБ *M. kansasii* считаются высоковирулентным видом, их обнаружение в диагностическом материале редко свидетельствует о загрязнении из окружающей среды, контаминации или колонизации организма человека и животных, поэтому любой случай изоляции этого микроорганизма должен быть оценен в плане предстоящего лечения из-за неблагоприятного прогноза заболевания и частого летального исхода [Johnston J.C. et al, 2017; Vakuła Z. et al, 2018].

Лечение микобактериоза – сложная проблема. Специальные препараты для

этой патологии не разрабатывают. В схемах химиотерапии часто используют противотуберкулезные (ПТП) и другие антибактериальные препараты (АБП), к которым в большинстве случаев НТМБ бывают «естественно» устойчивыми [Philly J., Griffith D., 2019; Daley C. et al, 2020; Flume P.A. et al, 2020; Pennington K. et al, 2021]. Также к ним может развиваться приобретенная устойчивость, в частности в процессе контакта с АБП, применявшимися для лечения других заболеваний (например, в случаях, когда заражение или контаминация НТМБ не были распознаны) [Богородская Е.М. и др., 2021; Heifets L., 2000, 2004; Griffith D. et al., 2007; Brown-Elliott B. et al., 2012; 2019; van Ingen J. et al, 2012, 2014].

Разные виды НТМБ обладают различным спектром чувствительности/устойчивости к АБП. Так, МАС устойчивы к большинству ПТП, которые традиционно используют для лечения микобактериоза. Наиболее эффективными при лечении заболеваний, вызываемых этими НТМБ, являются (но далеко не всегда) аминогликозиды, кларитромицин, азитромицин, линезолид, реже другие препараты [Griffith D. et al., 2007; Cavusoglu C. et al., 2007; Venugopal D. et al, 2007; Daley C., 2017; To K. et al., 2020].

Напротив, *M. kansasii* чувствительны к ряду ПТП. Поэтому эффективность лечения микобактериоза, вызванного *M. kansasii*, существенно выше, чем патологии, вызываемой МАС. В настоящее время для лечения патологии, вызванной *M. kansasii*, чаще всего используют кларитромицин, азитромицин, триметоприм/сульфаметоксазол, моксифлоксацин, ципрофлоксацин, амикацин, линезолид. В то же время клинические данные, указывающие на то, в каких ситуациях следует использовать один, а не другой из альтернативных режимов терапии, крайне ограничены [Alcaide F. et al, 2004; DeStefano M. et al, 2018; Huang H.L. et al, 2020].

Методологические основы определения лекарственной чувствительности микобактерий изменялись на протяжении многих лет. Ранее для этих целей использовали плотные питательные среды – яичные и агаровые. Затем широкое применение нашли жидкие среды и методы с использованием радиоактивного (ВАСТЕС 460) или флуоресцентного (ВАСТЕС 960) учета результатов [Литвинов

В.И. и др., 2013, 2014; Heifets L., 2004; Brown-Elliott V. et al., 2012].

Имеется значительное количество исследований, свидетельствующих о большей эффективности – сокращении сроков исследования, простоте выполнения, воспроизводимости, корреляции с данными *in vivo* (и др.) методов определения ЛЧ, в которых использовали жидкие питательные среды, перед плотными средами. По крайней мере, в жидкой среде лекарства подвергаются меньшей инаktivации и адсорбции за счет более коротких сроков инкубации [Heifets L., 2004; Brown-Elliott V. et al., 2012].

Следует особо подчеркнуть, что существующие качественные методы определения ЛЧ *M. tuberculosis* на использовании критической концентрации (КК), которую определяют как минимальную, подавляющую рост 95% «диких» штаммов (предположительно не имевших контакта с данным химиопрепаратом), и на определение ЛЧ НТМБ с использованием КК, разработанных для *M. tuberculosis*, неприемлемы, так как большинство штаммов НТМБ оказывается устойчивыми, что часто вводит в заблуждение клиницистов.

В этой ситуации лучшим решением для оценки степени ЛЧ НТМБ является использование количественного метода серийных разведений в жидкой питательной среде – определения минимальных ингибирующих концентраций (МИК) препаратов с применением жидких питательных сред. [Babady N.E. et al, 2010; Litvinov V. et al, 2018; Li Y. et al, 2022].

Количественный метод определения ЛЧ, в отличие от качественного, позволяет сравнивать полученные значения МИК с данными фармакокинетики, что особенно важно при выборе схем терапии. Каждый антибактериальный препарат начинает оказывать угнетающее влияние на микобактерии только при его определенной концентрации. Если максимальная концентрация препарата, которую удастся создать в крови и которая не вызывает токсических реакций ниже МИК, определенной *in vitro*, то данный препарат не должен использоваться. Также важным показателем является продолжительность поддержания препарата в сыворотке крови выше величины МИК, установленного в отношении данного возбудителя. При этом следует иметь в виду, что даже если *in vitro* бактерицидная

доза выше той, которую удастся достигнуть *in vivo*, некоторые препараты, например, рифампицин и этамбутол, клоfazимин и амикацин, кларитромицин и рифабутин обладают синергическим действием [Heifets L., 2004; van Igen J. et al., 2012; Brown-Elliott B. et al., 2012].

Бедаквилин (*Bedaquiline, Bdq*) относится к группе диарилхинолинов – новому классу противотуберкулезных соединений. Механизм действия этого препарата направлен на специфическое ингибирование протонной помпы АТФ-синтазы, приводящее к нарушению выработки энергии, что в итоге приводит к гибели микобактериальной клетки [Andries K. et al, 2005; Huitric E. et al, 2010; Hards K. et al, 2015].

Эффективность бедаквилаина в отношении ингибирования размножения *M. tuberculosis* продемонстрирована *in vitro* [Перетокина И.В. и др., 2021; Diacon A. et al, 2014]. Этот препарат сегодня является основным в комплексном лечении туберкулеза, главным образом с множественной (МЛУ) и широкой лекарственной устойчивостью (ШЛУ) [Борисов и др., 2015, 2019; WHO, 2013; Mirzayev F. et al, 2021]. Имеются также отдельные попытки его использования при химиотерапии микобактериозов, в первую очередь вызванных *M. avium* и *M. abscessus* [Vesenbeckh S. et al, 2017; Ruth M. et al, 2019].

Нельзя исключить, что некоторые штаммы микобактерий имеют первичную устойчивость к Bdq в результате мутаций, возникающих «спонтанно» как под действием факторов внешней среды для микобактерий, так и в макроорганизме. Было установлено, что развитие приобретенной лекарственной устойчивости к Bdq у *Mycobacterium tuberculosis* связано с мутациями в генах *atpE*, *Rv0678* и *perQ* [Andries K. et al, 2014; Almeida D. et al, 2016]. Кроме того, D. Alexander и соавт. (2016) обнаружили, что мутации в генах *mmpT5* и *atpE* были связаны с устойчивостью к Bdq у штаммов *M. intracellulare*. Понятно, что в процессе применения препарата будет увеличиваться число устойчивых к нему штаммов микобактерий. Следовательно, при использовании Bdq (как и любого другого препарата) необходимо иметь эффективные методы оценки лекарственной чувствительности/устойчивости возбудителя к данному

препарату.

Прежде чем использовать Bdq для химиотерапии микобактериоза, изучали чувствительность к нему НТМБ [Brown-Elliott B. et al, 2019; Kim D. et al, 2019; Martin A. et al, 2019; Litvinov V. et al, 2021]. Однако следует иметь в виду, что имеющихся в литературе данных для полноценного понимания данной проблемы недостаточно. Кроме того, в разных регионах мира ЛЧ одного и того же вида возбудителя может существенно отличаться. Также необходимо подчеркнуть, что стандартизированные методы определения ЛЧ НТМБ к бедаквину отсутствуют.

ОПИСАНИЕ МЕТОДА

Культуры медленно растущих НТМБ, подлежащих определению ЛЧ к бедаквилину, получают из респираторного и другого материала пациентов с подозрением на туберкулез и микобактериоз. Выделение проводят общепринятыми культуральными методами на жидких и плотных питательных средах. Идентификацию изолятов кислотоустойчивых микобактерий проводят микробиологическими (культуральные и биохимические тесты) и молекулярно-генетическими методами.

Тестированию на чувствительность к бедаквилину подлежат культуры НТМБ, имеющие клиническую значимость – неоднократно выделенные из диагностического материала пациента с наличием у него клинико-рентгенологических признаков.

Определение минимальных ингибирующих концентраций Bdq в отношении изолятов *M. avium*, *M. intracellulerae*, *M. kansasii* и других медленно растущих НТМБ проводят методом двукратных серийных микроразведений в жидкой питательной среде Мюллера-Хинтона (М-Х) в 96-луночном полистироловом планшете. Для исследований используют порошкообразную субстанцию бедаквилина фумарата (Janssen Pharmaceutica NV, Бельгия), содержащую 82,72% активного вещества.

Делают навеску препарата, которую растворяют в диметилсульфоксиде (ДМСО) с целью получения исходной концентрации Bdq, с учетом активности препарата. Затем методом серийных разведений готовят последовательные двукратные разведения Bdq в ДМСО для внесения в лунки планшета в количестве 5 мкл. При добавлении исследуемой суспензии микобактерий в количестве 200 мкл получают конечные концентрации препарата в лунках от 0,003 до 2,0 мкг/мл. Суспензию исследуемой культуры НТМБ готовят в среде М-Х с OADC (oleic acid-albumin-dextrose-catalase) по 0,5 стандарту Мак Фарланда, разводят в 100 раз и инокулируют в каждую лунку планшета с препаратом и без препарата-контроль. Планшеты заклеивают липкой пленкой и инкубируют при 37°C в течение 7 – 14 дней. Результаты определения ЛЧ НТМБ к Bdq оценивают с

помощью минимальных ингибирующих концентраций – наименьших концентраций препарата, полностью подавляющих видимый рост микроорганизма в лунке при наличии обильного роста в контрольной лунке. Для интерпретации значений МИК, полученных в результате определения ЛЧ к Bdq изолятов *M. avium*, *M. intracellulatae*, *M. kansasii*, следует применять предварительные эпидемиологические пограничные значения ECOFF (epidemiological cut-off values) – значения МИС, характеризующие верхний предел для популяции «дикого» типа, установленные в МНПЦ БТ: для *M. avium* – 0,12 мкг/мл, *M. intracellulatae* – 0,06 мкг/мл, *M. kansasii* – 0,06 мкг/мл.

Для оценки уровня чувствительности к бекваквину медленно растущих НТМБ, циркулирующих в данном (конкретном) регионе, рекомендуется определить собственные ECOFF.

РЕЗУЛЬТАТЫ ПРИМЕНЕНИЯ РАЗРАБОТАННОЙ МЕТОДИКИ

С помощью разработанной методики была изучена ЛЧ 166 культур МАС (124 *M. avium* и 42 *M. intracellulare*) и 76 культур *M. kansasii*, выделенных из респираторного материала, полученного от пациентов с подозрением на туберкулез и/или микобактериоз, находившихся на лечении в МНПЦБТ или проходивших обследование в его филиалах и консультативно-диагностическом центре за период 2018–2022 гг. Культуры были выделены на яичной среде Левенштейна-Йенсена и в бульонной Миддлбрук 7Н9 (М7Н9) с использованием автоматизированной системы ВАСТЕС™ MGIT™ 960. Изоляты НТМБ были идентифицированы микробиологическими (культуральные и биохимические тесты) и молекулярно-генетическими (тест-система GenoType CM/AS – HainLifescience, Германия) методами. Предварительно чувствительность всех изолятов изучили количественным методом серийных микроразведений в бульонной среде М-Х с ОADC с помощью тест-системы Sensititre SloMyco (TREK DIAGNOSTIC Systems Ltd.) к нескольким (6-8) концентрациям 13 антибактериальных препаратов: амикацина (AMI) 1,0-64,0 мкг/мл; доксициклина (DOX) 2,0-16,0; изониазида (INH) 0,25-8,0; кларитромицина (CLA) 0,06-64,0; линезолида (LZD) 1,0-64,0; моксифлоксацина (MXF) 0,12-8,0; рифампицина (RIF) 0,12-8,0; рифабутина (RFB) 0,25-8,0; стрептомицина (S) 0,5-64,0; триметоприм/сульфаметоксазола (SXT) 0,12/2,38-8,0/152,0; ципрофлоксацина (CIP) 0,12-32,0; этамбутола (EMB) 0,5-16,0; этионамида (ETH) 0,3-20,0 мкг/мл. Количество штаммов, устойчивых к антибактериальным препаратам определили с помощью оценочных критериев, предложенных Институтом клинических и лабораторных стандартов США (CLSI) [2011,2018].

Результаты изучения ЛЧ к Vdq изолятов *M. avium* и *M. intracellulare* показаны в таблицах 1 и 2.

Таблица 1 – Диапазон МИК бедаквилина, установленный в отношении изолятов *M. avium* и *M. intracellulare*

Вид НТМБ	Число	МИК (мкг/мл)
----------	-------	--------------

	штаммов	0.003	0.007	0.015	0.03	0.06	0.12	0.25	0.5	1.0
<i>M. avium</i> (n=124)	abs.	12	29	36	21	11	13	1	-	1
	%	9.7	23.4	29.0	16.9	8.9	10.5	0.8	-	0.8
<i>M. intracellulare</i> (n=42)	abs.	5	17	9	6	2	1	1	1	-
	%	11.9	40.5	21.4	14.3	4.8	2.4	2.4	2.4	-

Vdq продемонстрировал высокую антибактериальную активность почти против всех клинических изолятов *M. avium* и *M. intracellulare*, при этом МИК в отношении *M. avium* варьировали от 0,003 до 1,0 мкг/мл; МИК в отношении *M. intracellulare* варьировали от 0,003 до 0,5 мкг/мл. Было обнаружено, что рост значительного числа штаммов *M. avium* – 98 из 124 (79,0%) подавляла концентрация Vdq < 0,03 мкг/мл, а значительного числа штаммов *M. intracellulare* – 37 из 42 (88,1%) < 0,03 мкг/мл.

Таблица 2 – Показатели, характеризующие лекарственную чувствительность к бедаквилину изолятов *M. avium* и *M. intracellulare*

Вид НТМБ	МИК ₅₀	МИК ₉₀	ЕСОFF
<i>M. avium</i>	0,015	0,12	0,12
<i>M. intracellulare</i>	0,007	0,06	0,06

Значения МИС₅₀ и МИС₉₀ Vdq, подавляющие рост 50% и 90% культур микобактерий, составили 0,015 и 0,12 мкг/мл для *M. avium* и 0,007 и 0,06 мкг/мл для *M. intracellulare* (табл. 2). Предварительные значения ЕСОFF для *M. avium* и *M. intracellulare* составили 0,12 и 0,06 мкг/мл соответственно. Среди штаммов *M. avium* и *M. intracellulare*, оцененных с использованием предварительных значений ЕСОFF, 2 и 3 штамма, соответственно, были признаны устойчивыми к Vdq. Штаммы *M. avium*, устойчивые к Vdq (табл. 3), были также устойчивы к CLA (МИК – 64 и 64 мкг/мл) и MXF (МИК – 4 и 8 мкг/мл) и чувствительны к LZD (МИК – 16 и 4 мкг/мл) и АМІ (МИК – 16 и 32 мкг/мл). Все штаммы *M. intracellulare*, устойчивые к Vdq, были также устойчивы к CLA (МИК – 32, 64 и 64 мкг/мл), LZD (МИК – 64, 64 и 32 мкг/мл), 2 штамма были устойчивы к MXF (МИК – 1, 8 и 8 мкг/мл), и 1 был устойчив к АМІ (МИК – 1, 4 и 64 мкг/мл).

Таблица 3 – Чувствительность к основным антибактериальным препаратам штаммов *M. avium* и *M. intracellulare*, устойчивых к бекваквину

Вид НТМБ	Антибактериальный препарат				
	BDQ	AMI	CLA	LZD	MXF
<i>M.avium</i>	0,25	16	64	16	4
<i>M.avium</i>	1	32	64	4	8
<i>M.intracellulare</i>	0,12	1	32	64	1
<i>M.intracellulare</i>	0,25	4	64	64	8
<i>M.intracellulare</i>	0,5	64	64	32	8

При изучении ЛЧ к Bdq клинических изолятов *M. kansasii* (табл. 4) установлена высокая активность препарата в отношении почти всех протестированных штаммов, при этом диапазон МИК варьировал от 0,003 до 2,0 мкг/мл. Рост большинства штаммов *M. kansasii* – 56 из 76 (73,7%) подавляла концентрация Bdq \leq 0,015 мкг/мл. В отношении двух штаммов *M. kansasii* были установлены высокие значения МИК – 1,0 и 2,0 мкг/мл.

Таблица 4 – Диапазон МИК бекваквина, установленных в отношении *M. kansasii* (n=76)

Число штаммов	Минимальные ингибирующие концентрации (мкг/мл)						
	0,003	0,006	0,015	0,03	0,06	1,0	2,0
Абс.	6	7	43	13	5	1	1
%	7,9	9,2	56,6	17,1	6,6	1,3	1,3

Показатели MIC₅₀ и MIC₉₀ Bdq для изолятов *M. kansasii* составили 0,015 и 0,03 мкг/мл соответственно, предварительное значение ECOFF – 0,06 мкг/мл. Среди изученных штаммов *M. kansasii*, оцененных с использованием установленного предварительного значения ECOFF, 2 (2,6%) были признаны устойчивыми к Bdq.

Сведения о ЛЧ изученных штаммов *M. kansasii* к другим антибактериальным препаратам, применяющимся для лечения патологии, вызываемой этим видом НТМБ, представлены в таблице 5. Как видно из данных таблицы *M. kansasii* были преимущественно чувствительны (менее 20%

резистентных штаммов): к амикацину (5,3% резистентных штаммов), изониазиду (14,5%), линезолиду (7,9%), моксифлоксацину (1,3%), рифабутину (5,3%), рифампицину (15,8%), этамбутолу (17,1%). К кларитромицину все изученные штаммы оказались чувствительными.

Таблица 5 – Сведения о лекарственной чувствительности *M. kansasii* к антибактериальным препаратам, применяющимся для лечения микобактериозов, вызываемых *M. kansasii* (n=76 больных)

Препарат	Диапазон МИК	МИК ₅₀	МИК ₉₀	Число резистентных штаммов
AMI	1,0-64,0	8,0	32,0	4 (5,3%)
DOX	2,0-16,0	16,0	16,0	42 (55,3%)
INH	0,25-1,0	1,0	8,0	11 (14,5%)*
CLA	0,12-8,0	0,5	4,0	0
LZD	1,0-64,0	4,0	32,0	6 (7,9%)
MXF	0,12-4,0	0,5	4,0	1 (1,3%)
RFB	0,25-8,0	0,25	2,0	4 (5,3%)
RIF	0,12-8,0	0,25	2,0	12 (15,8%)
S	2,0-32,0	16,0	64,0	21 (27,6%)*
SXT	0,25/4,75-8,0-152,0	8,0	8,0	26 (34,2%)
CIP	0,25-16,0	4,0	16,0	23 (30,3%)
EMB	1,0-16,0	4,0	16,0	13 (17,1%)
ETH	0,3-10,0	2,5	20,0	16 (21,1%)*

* – применены оценочные критерии для *M. tuberculosis*

Высокая доля устойчивых штаммов *M. kansasii* (более 25%) была определена к стрептомицину (27,6%), триметоприм/сульфаметоксазолу (34,2%), ципрофлоксацину (30,3%), доксициклину (55,3%).

В таблице 6 сопоставлены данные о лекарственной чувствительности к бедаквилину изученных медленно растущих микобактерий, а также *M. tuberculosis*

Таблица 6 – Сравнительные данные о лекарственной чувствительности к бедаквилину изученных штаммов медленно растущих микобактерий и *M. tuberculosis*

Вид микобактерий	Диапазон МИК	МИК ₅₀	МИК ₉₀	ЕСOFF	Количество резистентных изолятов
------------------	--------------	-------------------	-------------------	-------	----------------------------------

<i>M. kansasii</i> (n=76)	0,003-2,0	0,015	0,03	0,06	2 (2,6%)
<i>M. avium</i> (n=124)	0,003-1,0	0,015	0,12	0,12	2 (1,6%)
<i>M. intracellulare</i> (n=42)	0,003-0,5	0,007	0,06	0,06	3 (7,2%)
<i>M. tuberculosis</i> (n=316)	≤0,03-0,5	≤0,06	0,12	0,25	2 (0,6%)

Данные, представленные в таблице, свидетельствуют о том, что штаммы изученных медленно растущих НТМБ, а также *M. tuberculosis* достоверно не отличались по чувствительности/резистентности к Bdq ($p > 0,05$).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Нетуберкулезные микобактерии в значительном числе случаев устойчивы к большинству антибактериальных препаратов, в том числе противотуберкулезным, применяющимся для лечения вызываемых ими

микобактериозов. При этом следует иметь в виду, что «подходящие» АБП появляются редко – их разработка чрезвычайно сложная и длительная проблема. Из созданных в последнее время ПТП наиболее перспективным является бедаквилин, который относится к группе диарилхинолинов. Этот препарат эффективно ингибирует размножение *in vitro* *M. tuberculosis* и сегодня является основным в комплексном лечении туберкулеза, главным образом, с МЛУ и ШЛУ. Имеются также отдельные попытки оценки его действия *in vitro* на НТМБ и использования при химиотерапии микобактериоза. Сегодня НТМБ, в том числе медленнорастущие, как правило, чувствительны к бедаквилину. Но, разумеется, в процессе использования этого препарата для лечения микобактериоза к нему будет развиваться устойчивость. В связи с этим необходимым является разработка и апробация надежных методов определения ЛЧ к бедаквилину. Именно этой проблеме посвящены данные методические рекомендации.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Андреевская С.Н., Смирнова Т.Г., Черноусова Л.Н. Туберкулез органов дыхания / Руководство для врачей под ред. проф. А.Э. Эргешова, глава 1.1 «Возбудитель туберкулеза, строение, генетика, физиология, лекарственная устойчивость, нетуберкулезные микобактерии». – М.: ООО «Галлея-Принт», 2017. – с. 10-33. ISBN 978-5-9907563-7-3

2. Богородская Е.М., Кудлай Д.А., Литвинов В.И. Проблемы лекарственной устойчивости микобактерий / Под ред. Е.М. Богородской, Д.А. Кудлая, В.И. Литвинова // М.: МНПЦБТ. – 2021. – 504 с.

3. Борисов С.Е., Иванушкина Т.Н., Иванова Д.А., Филиппов А.В., Литвинова Н.В., Родина О.В., Гармаш Ю.Ю., Сафонова С.Г., Богородская Е.М. Эффективность и безопасность включающих бедаквилин шестимесячных режимов химиотерапии у больных туберкулезом органов дыхания // Туберкулез и социально-значимые заболевания. – 2015. – № 3. – С. 30-49.

4. Борисов С.Е., Филиппов А.В., Иванова Д.А., Иванушкина Т.Н., Литвинова Н.В., Гармаш Ю.Ю. Эффективность и безопасность основанных на использовании бедаквилина режимов химиотерапии у больных туберкулезом органов дыхания: непосредственные и окончательные результаты // Туберкулез и болезни легких. – 2019. – Т. 97. – № 5. – С. 28-42.

5. Литвинов В.И., Макарова М.В., Краснова М.А. Нетуберкулезные микобактерии. – М.: МНПЦБТ. – 2008. – 256 с.

6. Литвинов В.И., Мороз А.М. Лабораторные исследования при туберкулезе. – М.: МНПЦБТ – 2013. – 343 с. Литвинов В.И., Богородская Е.М., Борисов С.Е. Нетуберкулезные микобактерии, микобактериозы / Под ред. В.И. Литвинова, Е.М. Богородской, С.Е. Борисова // М.: МНПЦБТ. – 2014. – 256 с.

7. Оттен Т.Ф., Васильев А.В. Микобактериоз. - СПб: Медицинская пресса, 2005. – 224 с.

8. Устинова В.В., Смирнова Т.Г., Андреевская С.Н., Андриевская И.Ю., Ларионова Е.Е., Черноусова Л.Н. Секвенирование геномов шести клинических

штаммов нетуберкулезных микобактерий // Туберкулез и болезни лёгких. – 2018. – Т. 96. – № 12. – с. 70-71 DOI 10.21292/2075-1230-2018-96-12-70-71.

9. Устинова В.В., Смирнова Т.Г., Варламов Д.А., Ларионова Е.Е., Андреевская С.Н., Киселева Е.А., Андриевская И.Ю., Черноусова Л.Н. Полногеномное секвенирование клинического штамма *Mycobacterium goodii* / В сборнике: «Молекулярная диагностика 2017» (сб. тр. IX Всероссийской научно-практической конференции с международным участием). – 2017. – Т. 2. – с. 28-31.

10. Устинова В.В., Смирнова Т.Г., Варламов Д.А., Ларионова Е.Е., Андриевская И.Ю., Черноусова Л.Н. Полногеномное секвенирование генома *Mycobacterium heckeshornense* // Бактериология. – 2017. – Т. 2. – №3. – с. 108-109.

11. Перетокина И.В., Крылова Л.Ю., Михайлова Ю.Д., Свириденко М.А., Хахалина А.А., Сафонова С.Г. Изучение взаимосвязи значений минимальных ингибирующих концентраций бедаквила в отношении *Mycobacterium tuberculosis*, выделенных от впервые выявленных больных, с наличием чувствительности/устойчивости к ПТП и их принадлежностью к генетическим семействам // Туберкулез и социально-значимые заболевания. – 2021. – № 4. – с. 17-26.

12. Смирнова Т.Г., Андреевская С.Н., Ларионова Е.Е., Черноусова Л.Н., Устинова В.В. Two-step algorithm for MTB/NTMB differentiating using new tests based on real-time PCR / 52nd Union World Conference on Lung Health AS-WCLH-2021-00312.

13. Смирнова Т.Г. Новые молекулярно-генетические методы для видовой идентификации нетуберкулезных микобактерий в диагностическом материале // Вестник ЦНИИТ. – 2020. – №2. – с. 94-96 DOI: 10.7868/S2587667820060394

14. Adjemian J., Daniel-Wayman S., Ricotta E., Prevots D.R. Epidemiology of Nontuberculous Mycobacteriosis // Semin Respir Crit Care Med. – 2018. – Vol. 39. – №3. – p. 325-335. doi: 10.1055/s-0038-1651491.

15. Alcaide F., Calatayud L., Santín M., Martín R. Comparative in vitro activities of linezolid, telithromycin, clarithromycin, levofloxacin, moxifloxacin, and four conventional antimycobacterial drugs against *Mycobacterium kansasii* // *Antimicrob. Agents. Chemother.* – 2004. – Vol. 48. – №12. – p. 4562-5.
16. Alexander D.C., Vasireddy R., Vasireddy S et al. Emergence of mmpT5 variants during bedaquiline treatment of *Mycobacterium intracellulare* lung disease // *J Clin Microbiol.* – 2017. – Vol. 55. - №2. – p. 574-584. doi: 10.1128/JCM.02087-16.
17. Almeida D., Ioerger T., Tyagi S. et al. Mutations in *pepQ* confer low-level resistance to bedaquiline and clofazimine in *Mycobacterium tuberculosis* // *Antimicrob Agents Chemother.* – 2016. – Vol. 60. – p. 4590–4599. doi: 10.1128/AAC.00753-16.
18. Andries K., Verhasselt P., Guillemont J., Göhlmann H., Neefs J. et al. A diarylquinoline drug active on the ATP synthase of *Mycobacterium tuberculosis* // *Science.* – 2005. – Vol. 307. – № 5707. – p. 223-7. doi: 10.1126/science.1106753.
19. Andries K., Villellas C., Coeck N. et al. Acquired resistance of *Mycobacterium tuberculosis* to bedaquiline // *PLoS One.* – 2014. – № 9: e102135. doi: 10.1371/journal.pone.0102135.
20. Babady N.E., Hall L., Abbenyi A.T., et al. Evaluation of *Mycobacterium avium* complex clarithromycin susceptibility testing using SLOMYCO Sensititre panels and JustOne strips // *J Clin Microbiol.* – 2010. – Vol. 48. – №5. – p. 1749-52.
21. Bakula Z., Kościuch J., Safianowska A., Proboszcz M., Bielecki J., van Ingen J. et al. Clinical, radiological and molecular features of *Mycobacterium kansasii* pulmonary disease // *Respir Med.* – 2018. – Vol. 139. – p. 91-100. doi: 10.1016/j.rmed.2018.05.007.
22. Brown-Elliott B., Nash K., Wallace R. Antimicrobial susceptibility testing, drug resistance mechanisms, and therapy of infections with nontuberculous mycobacteria // *Clin Microbiol Rev.* – 2012. – Vol. 25. – N 3. – p. 545-82. doi: 10.1128/CMR.05030-11.
23. Brown-Elliott B., Philley J., Griffith D., Thakkar F., Wallace R. In vitro susceptibility testing of bedaquiline against *Mycobacterium avium* complex //

Antimicrob Agents Chemother. – 2017. – Vol. 61. – N 2. – e01798-16. doi: 10.1128/AAC.01798-16.

24. Brown-Elliott B., Wallace R. In vitro susceptibility testing of bedaquiline against *Mycobacterium abscessus* complex // Antimicrob Agents Chemother. – 2019. – Vol. 63. – N 2:e01919-18. doi: 10.1128/AAC.01919-18.

25. Brown-Elliott B.A., Woods G.L. antimycobacterial susceptibility testing of nontuberculous *Mycobacteria* // J Clin Microbiol. – 2019. – Vol. 57. – N. 10 :e00834-19. doi: 10.1128/JCM.00834-19.

26. Cavusoglu C., Soyler I., Akinci P. Activities of Linezolid against nontuberculous mycobacteria // New Microbiol. – 2007. – Vol. 30. – N 4. – p. 411-4.

27. CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute. Susceptibility testing of mycobacteria, nocardiae, and other aerobic actinomycetes; approved standard – second edition: document M24-A2. CLSI, Wayne, PA, USA, 2011.

28. CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute. Susceptibility testing of mycobacteria, nocardiae, and other aerobic actinomycetes (3rd ed.), CLSI, Wayne, PA, USA, 2018.

29. Cowman S., van Ingen J., Griffith D.E., Loebinger M.R. Non-tuberculous mycobacterial pulmonary disease // Eur Respir J. – 2019. – Vol. 54. – N. 1:1900250. doi: 10.1183/13993003.00250-2019.

30. Dahl V.N., Møhlave M., Fløe A. et al. Global trends of pulmonary infections with nontuberculous mycobacteria: a systematic review // Int J Infect Dis. – 2022. – Vol. 125. – p. 120-131. doi: 10.1016/j.ijid.2022.10.013.

31. Daley C.L. *Mycobacterium avium* complex disease // Microbiol Spectr. – 2017. – Vol. 5. – N2. doi: 10.1128/microbiolspec.TNMI7-0045-2017.

32. Daley C., Iaccarino J., Lange C., Cambau E., Wallace R. Andrejak C. et al. Treatment of nontuberculous mycobacterial pulmonary disease: an official ATS/ERS/ESCMID/IDSA clinical practice guideline // Eur Respir J. – 2020. – Vol. 56. – N. 1:2000535. doi: 10.1183/13993003.00535-2020.

33. DeStefano M., Shoen C., Cynamon M. Therapy for *Mycobacterium kansasii* Infection: Beyond 2018 // *Front Microbiol.* – 2018. – Vol. 9. – p. 2271. doi: 10.3389/fmicb.2018.02271.
34. Diacon A., Pym A., Grobusch M., de los Rios J., Gotuzzo E., Vasilyeva I. et al. TMC207-C208 Study Group. Multidrug-resistant tuberculosis and culture conversion with bedaquiline // *N Engl J Med.* – 2014. – Vol. 371. – N. 8. – p. 723-32. doi: 10.1056/NEJMoa1313865.
35. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. EUCAST subcommittee on MIC distributions and epidemiological cut-off values (ECOFFs). 2014. – URL: http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Consultation/2017/MIC_and_ECOFF/EUCAST_MIC_and_ECOFF_discussion_document_version_3_20170309.pdf.
36. Falkinham J.O. Nontuberculous mycobacteria in the environment // *Clin Chest Med.* – 2002. – Vol.23. – N.3. – p. 529-51. doi: 10.1016/s0272-5231(02)00014-x
37. Falkinham J.O. Ecology of Nontuberculous Mycobacteria // *Microorganisms.* – 2021. – Vol. 309. – N.11. – p. 2262. doi: 10.3390/microorganisms9112262.
38. Flume P.A., Griffith D.E., Chalmers J.D., et al. development of drugs for nontuberculous mycobacterial disease: clinicians' interpretation of a US Food and Drug Administration Workshop // *Chest.* – 2021. – Vol. 159. – N. 2. – p. 537-543. doi: 10.1016/j.chest.2020.08.2055.
39. Griffith D., Aksamit T., Brown-Elliott B., Catanzaro A., Daley C., Gordin F. et al. ATS Mycobacterial Diseases Subcommittee; American Thoracic Society; Infectious Disease Society of America. An official ATS/IDSA statement: diagnosis, treatment, and prevention of nontuberculous mycobacterial diseases // *Am J Respir Crit Care Med.* – 2007. – Vol. 175. – N 4. – p. 367-416. doi: 10.1164/rccm.200604-571ST.
40. Halstrom S., Price P., Thomson R. Review: Environmental mycobacteria as a cause of human infection // *Int J Mycobacteriol.* – 2015. – Vol. 4. – N 2. – p. 81-91. doi: 10.1016/j.ijmyco.2015.03.002.

41. Hards K., Robson J., Berney M., Shaw L., Bald D., Koul A. et al. Bactericidal mode of action of bedaquiline // *J Antimicrob Chemother.* – 2015. – Vol. 70. – N.7 – p. 2028-37. doi: 10.1093/jac/dkv054.
42. Heifets L. Drug susceptibility in the chemotherapy of mycobacterial infections // Boca Raton Ann Arbor Boston London: CRC Press; 2000.
43. Heifets L. Mycobacterial infections caused by nontuberculous mycobacteria // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 2004. – Vol. 25. – №3. – p. 283-95. doi: 10.1055/s-2004-829501
44. Henkle E., Winthrop KL. Nontuberculous mycobacteria infections in immunosuppressed hosts // *Clin Chest Med.* – 2015. – Vol. 36. – N. 1. – p. 91-9. doi: 10.1016/j.ccm.2014.11.002.
45. Holland S.M. Nontuberculous mycobacteria // *Am J Med Sci.* – 2001. – Vol. 321. – N 1. – p. 49-55. doi: 10.1097/00000441-200101000-00008.
46. Huang H.L., Lu P.L., Lee C.H., Chong I.W. Treatment of pulmonary disease caused by *Mycobacterium kansasii* // *J Formos Med Assoc.* – 2020. – Vol. 119, Suppl 1. – p. S51-S57. doi: 10.1016/j.jfma.2020.05.018.
47. Huitric E., Verhasselt P., Koul A., Andries K., Hoffner S., Andersson D. Rates and mechanisms of resistance development in *Mycobacterium tuberculosis* to a novel diarylquinoline ATP synthase inhibitor // *Antimicrob Agents Chemother.* – 2010. – Vol. 54. – N3. – p. 1022-8. doi: 10.1128/AAC.01611-09.
48. Johnston J.C., Chiang L., Elwood K. *Mycobacterium kansasii* // *Microbiol Spectr.* – 2017. – Vol. 5. – N.1. - doi: 10.1128/microbiolspec.TNMI7-0011-2016.
49. Kim D., Jhun B., Moon S., Kim S., Jeon K., Kwon O. et al. In vitro activity of bedaquiline and delamanid against nontuberculous mycobacteria, including macrolide-resistant clinical isolates // *Antimicrob Agents Chemother.* – 2019. – Vol. 63: e00665-19. doi: 10.1128/AAC.00665-19.
50. Koh W. Nontuberculous Mycobacteria-Overview // *Microbiol Spectr.* – 2017. – Vol. 5. N.1. doi: 10.1128/microbiolspec.TNMI7-0024-2016.
51. Kumar K., Loebinger M.R. Nontuberculous mycobacterial pulmonary disease: clinical epidemiologic features, risk factors, and diagnosis: the nontuberculous

mycobacterial series // *Chest*. – 2022. – Vol. 161. – N 3. – p. 637-646. doi: 10.1016/j.chest.2021.10.003.

52. Li Y., Liu C., Ma A., He W., Qiu Q, Zhao Y., Li Y. Identification and drug susceptibility testing of the subspecies of *Mycobacterium avium* complex clinical isolates in mainland China // *J Glob Antimicrob Resist*. – 2022. – Vol. 31. – p. 90-97. doi: 10.1016/j.jgar.2022.05.027.

53. Litvinov V., Makarova M., Galkina K., Khachaturiants E., Krasnova M., Guntupova L., Safonova S. Drug susceptibility testing of slowly growing non-tuberculous mycobacteria using slomyco test-system // *PLoS One*. – 2018. – Vol. 13. – N. 9:e0203108. doi: 10.1371/journal.pone.0203108.

54. Litvinov V., Makarova M., Kudlay D., Nikolenko N., Mikhailova J. Invitro activity of bedaquiline against *Mycobacterium avium* complex // *J ed Microbiol*. – 2021. – Vol. 70. – N10. doi: 10.1099/jmm.0.001439.

55. Martin A., Godino I., Aguilar-Ayala D., Mathys V., Lounis N., Villaobos H. In vitro activity of bedaquiline against slow-growing nontuberculous mycobacteria // *J Med Microbiol*. – 2019. – Vol. 68. – N 8. – p. 1137-1139. doi: 10.1099/jmm. 0.001025.

56. Mirzayev F., Viney K., Linh N., Gonzalez-Angulo L., Gegia M., Jaramillo E., Zignol M., Kasaeva T. World Health Organization recommendations on the treatment of drug-resistant tuberculosis, 2020 update // *Eur Respir J*. – 2021. – Vol.7. – N.6:2003300. doi: 10.1183/13993003.03300-2020.

57. Pang Y., Zheng H., Tan Y., Song Y., Zhao Y. In vitro activity of bedaquiline against nontuberculous mycobacteria in China // *Antimicrob Agents Chemother* 2007. – Vol. 61: e02627-16. doi: 10.1128/AAC.02627-16.

58. Pennington K.M., Vu A., Challener D., Rivera C.G., Shweta F.N.U., Zeuli J.D., Temesgen Z. Approach to the diagnosis and treatment of non-tuberculous mycobacterial disease. *J Clin Tuberc Other Mycobact Dis*. – 2021. – Vol. 24:100244. doi: 10.1016/j.jctube.2021.100244.

59. Philley J., Griffith D. Medical Management of Pulmonary Non-tuberculous Mycobacterial Disease // *Thorac Surg Clin*. – 2019. – Vol. 29. – p. 65-76. doi: 10.1016/j.thorsurg.2018.09.001.

60. Prevots D., Marras T. Epidemiology of human pulmonary infection with nontuberculous mycobacteria: a review // *Clin Chest Med.* – 2015. – Vol. 36. – №1. – p 13-34. doi: 10.1016/j.ccm.2014.10.002.
61. Ruth M., Sangen J., Remmers K., Pennings L., Svensson E., Aarnoutse R. et al. A bedaquiline/clofazimine combination regimen might add activity to the treatment of clinically relevant non-tuberculous mycobacteria // *J Antimicrob Chemother.* – 2019. – Vol. 74. – p. 35-943. doi: 10.1093/jac/dky526.
62. Sharma S.K., Upadhyay V. Epidemiology, diagnosis & treatment of non-tuberculous mycobacterial diseases // *Indian J Med Res.* – 2020. – Vol 152. – №3. – p. 185-226. doi: 10.4103/ijmr.IJMR_902_20.
63. Shinohara T, Morizumi S, Sumitomo K. Varying clinical presentations of nontuberculous mycobacterial disease: Similar to but different from tuberculosis // *J Med Invest.* – 2021. – Vol. 68. – N 3-4. – p. 220-227. doi: 10.2152/jmi.68.220.
64. Thomson R. M. Changing epidemiology of pulmonary nontuberculous mycobacteria infections // *Emerg. Infect. Dis.* – 2010. – Vol. 16 (10). – p. 1576-1583.
65. To K, Cao R, Yegiazaryan A, Owens J, Venketaraman V. General Overview of Nontuberculous Mycobacteria Opportunistic Pathogens: *Mycobacterium avium* and *Mycobacterium abscessus* // *J Clin Med.* – 2020. – Vol. 9 (№ 6). doi: 10.3390/jcm9082541.
66. Tortoli E. Clinical manifestations of nontuberculous mycobacteria infections // *Clin Microbiol Infect.* – 2009. – Vol. 15. – N1. – p. 6-10.
67. Turenne C.Y. Nontuberculous mycobacteria: Insights on taxonomy and evolution // *Infect Genet Evol.* – 2019. – Vol. 72. – p. 159-168. doi: 10.1016/j.meegid.2019.01.017.
68. van Ingen J., Boeree M., van Soolingen D., Mouton J. Resistance mechanisms and drug susceptibility testing of nontuberculous mycobacteria // *Drug Resist Updat.* – 2012. – Vol. 15. № 3. – p. 149-61. doi: 10.1016/j.drug.2012.04.001.
69. van Ingen J., Kuijper E. Drug susceptibility testing of nontuberculous mycobacteria // *Future Microbiol.* – 2014. – Vol. 9. – p. 1095-110. doi: 10.2217/fmb.14.60.

70. van Ingen J., Obradovic M., Hassan M., Leshner B., Hart E., Chatterjee A., Daley C. L. Nontuberculous mycobacterial lung disease caused by *Mycobacterium avium* complex - disease burden, unmet needs, and advances in treatment developments. *Expert Rev Respir Med.* – 2021. – Vol. 15. – № 11. – p. 1387-1401. doi: 10.1080/17476348.2021.1987891. Epub 2021 Oct 18. PMID: 34612115.
71. Varley C.D., Winthrop K.L. Nontuberculous Mycobacteria: Diagnosis and Therapy// *Clin Chest Med.* – 2022. – Vol. 43. – N 1. – p. 89-98. doi: 10.1016/j.ccm.2021.11.007.
72. Venugopal D., Kumar S., Isa M., Bose M. Drug resistance profile of human *Mycobacterium avium* complex strains from Indna // *Indian. J. Med. Microbiol.* – 2007. – Vol. 25, N 2. – pp. 115-20.
73. Vesenbeckh S., Schönfeld N., Krieger D., Bettermann G., Bauer T., Rüssmann H. et al. Bedaquiline as a potential agent in the treatment of *M. intracellulare* and *M. avium* infections // *Eur Respir J.* – 2017. – Vol. 49. – N 3 – 1601969. doi: 10.1183/13993003.01969-2016.
74. Vesenbeckh S., Schönfeld N., Roth A., et al. Bedaquiline as a potential agent in the treatment of *Mycobacterium abscessus* infections // *Eur Respir J.* – 2017. – Vol. 49. – N 5. – p. 1700083. doi: 10.1183/13993003.00083-2017. 3131
75. Wetzstein N., Geil A., Kann G. et al. Disseminated disease due to nontuberculous mycobacteria in HIV positive patients: A retrospective case control study. *PLoS One.* – 2021. – Vol. 16. – N 7. – e0254607. doi: 10.1371/journal.pone.0254607.
76. WHO. The Use of Bedaquiline in the Treatment of Multidrug-Resistant Tuberculosis: Interim Policy Guidance. Geneva: World Health Organization; 2013.
77. Winthrop K., McNelley E., Kendall B. et al. Pulmonary nontuberculous mycobacterial disease prevalence and clinical features: an emerging public health disease. // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 2010. – v.182. – p. 977-982.
78. Zweijpfenning S.M.H., Ingen J.V., Hoefsloot W. Geographic distribution of nontuberculous mycobacteria isolated from clinical specimens: a systematic review. *Semin Respir Crit Care Med.* – 2018. – Vol. 39. – N 3336-342. doi: 10.1055/s-0038-1660864.