

УДК 615.28-015.8: 579.873.1: 57.083.133

ИЗУЧЕНИЕ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS К ДЕЛАМАНИДУ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ АВТОМАТИЗИРОВАННОЙ СИСТЕМЫ BACTEC™ MGIT™ 960

Ю.Д. Михайлова¹, М.В. Макарова¹, Л.Ю. Крылова¹, Е.Ю. Носова¹, С.А. Жиркова¹, А.И. Уштанит², Д.В. Зименков²

¹ ГБУЗ города Москвы «Московский городской научно-практический центр борьбы с туберкулезом Департамента здравоохранения города Москвы», г. Москва

² Центр высокоточного геномного редактирования и генетических технологий для биомедицины ФГБУН «Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта» РАН, г. Москва

Цель исследования. Изучение чувствительности клинических штаммов комплекса *M. tuberculosis* к деламаниду с помощью автоматизированной системы Bactec MGIT.

Материалы и методы. Изучено 79 клинических штаммов *M. tuberculosis*, выделенных у 78 больных туберкулезом и получавших лечение в 2017–2023 гг.; 39 штаммов с сохраненной лекарственной чувствительностью и 40 – с различными вариантами лекарственной устойчивости к противотуберкулезным препаратам. Определяли минимальные ингибирующие концентрации (МИК) деламанида в жидкой питательной среде Миддлбрука 7H9 с помощью системы Bactec MGIT, результаты чувствительности оценивали с применением критической концентрации 0,06 мкг/мл, рекомендованной ВОЗ. Для выявления мутаций, связанных с фенотипической устойчивостью к деламаниду у штаммов *M. tuberculosis*, применяли полногеномное секвенирование.

Результаты. Выявлена высокая активность деламанида в отношении клинических штаммов *M. tuberculosis*, не подвергавшихся воздействию этим препаратом: значения МИК варьировали от 0,004 до 0,03 мкг/мл для 97,4% (76/78) изученных штаммов, что соответствовало чувствительности к препарату. Первичная устойчивость к деламаниду обнаружена у двух штаммов *M. tuberculosis* (2,6%; 2/78), выделенных от впервые выявленных больных туберкулезом органов дыхания; приобретенная – у одного штамма (2,6%; 1/39), выделенного от больного с хронической формой заболевания в процессе лечения лекарственно-устойчивого туберкулеза. Обнаружены генетические детерминанты устойчивости у трех клинических штаммов *M. tuberculosis* (мутации N91T и W88* в гене *ddn* и мутация Q299* в гене *fgd1*) с МИК, превышающими критическую концентрацию.

Ключевые слова: *M. tuberculosis*, деламанид, лекарственная устойчивость, лечение туберкулеза, минимальная ингибирующая концентрация

Для цитирования: Михайлова Ю.Д., Макарова М.В., Крылова Л.Ю., Носова Е.Ю., Жиркова С.А., Уштанит А.И., Зименков Д.В. Изучение чувствительности *Mycobacterium tuberculosis* к деламаниду с использованием автоматизированной системы BACTEC™ MGIT™ 960 // Туберкулёз и социально значимые заболевания. – 2024. – Т. 12, № 4. – С. 25-35.

<https://doi.org/10.54921/2413-0346-2024-12-4-25-35>

STUDY OF DRUG SUSCEPTIBILITY OF MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS TO DELAMANID USING BACTEC™ MGIT™ 960 AUTOMATED SYSTEM

Y.D. Mikhailova¹, M.V. Makarova¹, L.Y. Krylova¹, E.Y. Nosova¹, S.A. Zhirkova¹, A.I. Ushtanit², D.V. Zimenkov²

¹ Moscow Research and Clinical Center for Tuberculosis Control of the Moscow City Health Department, Moscow, Russia

² Center for High-Precision Genomic Editing and Genetic Technologies for Biomedicine, Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

Aim. To study the susceptibility of clinical strains of *M. tuberculosis* complex (MTB) to delamanid using the automated Bactec MGIT system.

Material and methods. We studied 79 *M. tuberculosis* isolates from 78 TB patients treated in 2017–2023. 39 MTB strains were susceptible and 40 had different drug resistance profiles to anti-tubercular drugs. Minimum inhibitory concentrations (MIC) of delamanid in Middlebrook 7H9 liquid medium were determined using the Bactec MGIT system, the susceptibility results were assessed using the critical concentration of 0.06 µg/ml recommended by WHO. Whole genome sequencing was used to identify mutations associated with phenotypic resistance to delamanid in MTB strains.

Results. Delamanid demonstrated high activity against drug-naïve MTB strains. MIC values ranged from 0.004 to 0.03 µg/ml for 97.4% (76/78) of studied susceptible MTB strains. Two MTB strains isolated from newly diagnosed patients with pulmonary TB had primary resistance to delamanid (2.6%; 2/78), and acquired resistance was detected in one MTB strain (2.6%; 1/39) during delamanid-based therapy for drug-resistant TB. Genetic determinants of resistance were detected in three clinical MTB strains (N91T and W88* mutations in the *ddn* gene and Q299* mutation in the *fgd1* gene) with MICs exceeding the critical concentration.

Key words: *M. tuberculosis*, delamanid, drug resistance, tuberculosis treatment, minimum inhibitory concentration

For citation: Mikhailova Y.D., Makarova M.V., Krylova L.Y., Nosova E.Y., Zhirkova S.A., Ushtanit A.I., Zimenkov D.V. (2024) Study of drug susceptibility of *Mycobacterium tuberculosis* to delamanid using BACTEC™ MGIT™ 960 automated system. *Tuberculosis and socially significant diseases*, Vol. 12, No 4, pp. 25-35. (In Russ.) <https://doi.org/10.54921/2413-0346-2024-12-4-25-35>

Введение

Лекарственная устойчивость представителей комплекса *Mycobacterium tuberculosis* в последние десятилетия казалась почти неразрешимой проблемой – основные и резервные препараты, применяемые для лечения туберкулеза, в ряде случаев утратили свою эффективность. Однако в последнее десятилетие были разработаны новые препараты с высокой антимикобактериальной активностью. Одним из таких препаратов стал деламаид (Dlm, также известный как OPC-67683, Deltyba®), созданный японской компанией Otsuka Pharmaceutical Co. Ltd; он относится к новому классу противотуберкулезных препаратов (ПТП) – дигидронитроимидазолам [19, 23, 29]. Препарат оказывает бактерицидное действие в отношении как размножающихся, так и dormantных форм *M. tuberculosis*; он также активен в отношении патогена при внутриклеточном персистировании [8, 10]. Деламаид первоначально одобрен Европейским агентством по лекарственным средствам (European Medicines Agency, EMA) в 2014 году для лечения легочного туберкулеза с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ) возбудителя у взрослых больных и в том же году рекомендован для лечения туберкулеза Всемирной организацией здравоохранения (ВОЗ) [26]. С тех пор препарат был разрешен к применению во многих странах, включая Российскую Федерацию, где был зарегистрирован в мае 2020 года [1]. Многочисленные исследования показали, что использование Dlm в комбинированном лечении туберкулеза демонстрирует высокую эффективность и безопасность при лечении больных с МЛУ и широкой лекарственной устойчивостью (ШЛУ) *M. tuberculosis* [2, 10, 18].

Деламаид – это пролекарство, которое активируется деазафлавин-зависимой нитроредуктазой Ddn, участвующей в окислительно-восстановительном цикле кофермента F420 [10, 15, 20, 25]. Считается, что Dlm обладает двойным действием в отношении делящихся и покоящихся микобактерий. В активно делящихся клетках аддукт NAD и Dlm инактивирует синтез миколовых кислот [15]. В метаболически малоактивных бактериях основным действием препарата является наработка активных форм азота, включая NO, которые воздействуют на электрон-транспортную цепь микобактерий, препятствуя выработке АТФ [12, 14]. Молекулярные основы устойчивости к Dlm связаны с утратой метаболических путей биосинтеза и превращений кофермента F420. Показано, что мутации, приводящие к потере функции в пяти ферментах этого пути (*ddn* (Rv3547), *fgd1* (Rv0407), *fbtA* (Rv3261), *fbtB* (Rv3262) и *fbtC* (Rv1173),

связаны с пониженной чувствительностью возбудителя туберкулеза к новому противотуберкулезному средству [13].

В настоящее время определять чувствительность *M. tuberculosis* к Dlm возможно с применением автоматизированной системы Bactec™ MGIT™ 960 (Bactec MGIT), метода пропорций на агаровой среде Миддлбрука 7H11 и метода последовательных микроразведений в бульоне. Следует отметить, что на данный момент критерии оценки чувствительности для этих методов предварительные и могут быть впоследствии изменены [5, 27, 28]. ВОЗ предложила использовать критические концентрации 0,06 и 0,016 мкг/мл для тестирования чувствительности в системе Bactec MGIT и методом пропорций в агаре соответственно.

Цель исследования

Изучение чувствительности клинических штаммов комплекса *M. tuberculosis* к Dlm в жидкой питательной среде Миддлбрука 7H9 с помощью автоматизированной системы Bactec MGIT.

Материалы и методы

Исследование выполнено в ГБУЗ «МНПЦ борьбы с туберкулезом ДЗМ» в 2023–2024 гг.

Бактериальные штаммы. Всего изучено 79 клинических штаммов *M. tuberculosis*, выделенных у 78 больных как с впервые выявленным заболеванием, так и ранее леченных в 2017–2023 гг.: в 2017 г. – 12 штаммов, 2018 г. – 6 штаммов, 2019 г. – 1 штамм, 2020 г. – 1 штамм, 2021 г. – 9 штаммов, 2022 г. – 24 штамма, 2023 г. – 26 штаммов; штаммы были выделены из мокроты в 74 случаях, бронхиального смыва – в четырех, аспирата – в одном. Культуры, полученные из клинических образцов до 2023 года, были отобраны из лабораторной коллекции после глубокого замораживания, в 2023 году использовали свежесделанные. Принадлежность их к комплексу *M. tuberculosis* была подтверждена молекулярно-генетическими и бактериологическими методами. Все включенные в исследование штаммы были охарактеризованы с помощью тест-системы «ТБ-ТЕСТ» на наличие или отсутствие мутаций, связанных с устойчивостью к изониазиду, рифампицину, этамбутолу, группе фторхинолонов и аминогликозидов/полипептиду в генах *katG/inhA/oxyR*, *rpoB*, *embB*, *gyrA/gyrB*, *rrs/eis* соответственно.

В зависимости от спектра лекарственной чувствительности изученные штаммы были разделены на две группы.

Группа № 1. Лекарственно-чувствительные штаммы (n = 39) с фенотипической чувствительностью к ПТП первого ряда и

генотипической чувствительностью («дикий тип») к изониазиду, рифампицину, этамбутолу, фторхинолонам и аминокгликозидам/полипептиду. Штаммы выделены от больных с впервые выявленным заболеванием.

Группа № 2. Лекарственно-устойчивые штаммы ($n = 39$) с устойчивостью к ПТП первого и второго ряда в разных комбинациях, полученные от больных разных категорий перед началом лечения с включением в режимы химиотерапии DIm:

- **полирезистентные** ($n = 3$) – штаммы, обладающие устойчивостью к любым двум и более препаратам при условии сохранения фенотипической чувствительности к рифампицину;
- **с МЛУ** ($n = 17$) – штаммы, обладающие устойчивостью к изониазиду и рифампицину независимо от наличия устойчивости к другим ПТП, но при отсутствии устойчивости к фторхинолонам, линезолиду и/или бедаквилину;
- **с пре-широкой лекарственной устойчивостью (пре-ШЛУ)** ($n = 16$) – штаммы, обладающие МЛУ в сочетании с устойчивостью к любому препарату из фторхинолонов независимо от наличия устойчивости к другим ПТП, но при отсутствии устойчивости к линезолиду и/или бедаквилину;
- **с ШЛУ** ($n = 3$) – штаммы, обладающие МЛУ в сочетании с устойчивостью к любому фторхинолону, линезолиду и/или бедаквилину независимо от наличия устойчивости к другим ПТП.

Еще один штамм с ШЛУ был выделен от больного с хронической формой туберкулеза через шесть месяцев после начала химиотерапии, включающей DIm.

В качестве контрольного применяли лабораторный штамм *M. tuberculosis H₃₇Rv*, чувствительный к ПТП.

Антибактериальный препарат. Применяли порошкообразную субстанцию DIm (BLD Pharmatech Ltd., Китай), содержащую 95% активного вещества, которую растворяли в химически чистом демитилсульфоксиде (ДМСО). Основные и рабочие растворы готовили согласно инструкции, описанной в руководстве ВОЗ [27], или методике, предложенной K. Stinson и соавт. (2016) [24]. Рабочие растворы готовили из размороженного основного раствора в день постановки эксперимента и использовали однократно. В каждом исследовании DIm тестировали в двукратно убывающих концентрациях, не превышающих критическую (0,06; 0,03; 0,016; 0,008; 0,004; 0,002 мкг/мл), а в случае если значения МИК были выше таковой – то в более высоких концентрациях (0,125; 0,25; 0,5; 1; 2; 4; 8; 16; 32 мкг/мл).

Определение лекарственной чувствительности. Для изучения чувствительности *M. tuberculosis* к DIm проведено исследование по определению минимальных ингибирующих концентраций (МИК) препарата в жидкой питательной среде Миддлбука 7H9 с помощью автоматизированной системы Bactec MGIT производства компании Becton Dickinson (США) с оценкой полученных результатов с применением критической концентрации 0,06 мкг/мл, рекомендованной ВОЗ. МИК

определяли в соответствии с инструкцией производителя по определению чувствительности к ПТП первого ряда. Микобактериальные суспензии готовили из культур, выращенных на плотной яичной питательной среде Левенштейна – Йенсена, возраст которых не превышал 3–4 недель. Суспензию разбавляли до концентрации, соответствующей 0,5 стандарту МакФарланда ($1,5 \times 10^8$ КОЕ/мл) и разведение 1:5 в количестве 0,5 мл использовали для посева в опытные пробирки MGIT со средой, содержащей препарат в тестируемых концентрациях, а разведение 1:500 – в контрольные пробирки без препарата в том же объеме. Предварительно во все пробирки по 0,8 мл добавляли ростовую добавку OADC (oleic acid, albumin, dextrose, catalase). Также в опытные пробирки вносили по 0,1 мл соответствующего раствора препарата, а в контрольные – ДМСО в том же количестве. Пробирки инкубировали в анализаторе до 14 дней. Результаты теста интерпретировали вручную после распечатки протокола исследования. МИК считали наименьшую концентрацию DIm в пробирке, в которой количество ростовых единиц (GU, growth unit) были равны или меньше 100, т.е. культура считалась чувствительной к данной концентрации препарата.

Секвенирование. Штаммы для секвенирования целых геномов рекультивировали на плотной питательной среде Левенштейна-Йенсена в течение примерно 4 недель при 37 °C, а затем термически инактивировали. Геномную ДНК выделяли с помощью набора Gentra Puregene Yeast/Bact. Kit B (QIAGEN, кат. № 158567). Геномные библиотеки ДНК подготавливали с помощью набора Illumina DNA Prep kit, а секвенирование проводили с использованием набора MiniSeq High Output Kit (300 Cycles) на платформе MiniSeq (Illumina, Сан-Диего, Калифорния, США). Данные секвенирования анализировали с применением веб-платформы Galaxy на общедоступном сервере usegalaxy.org. Исходные прочтения обрабатывали с помощью инструмента Trimmomatic. Выравнивание на референсный геном *M. tuberculosis H₃₇Rv* (GenBank accession NC_000962.3) проводили с использованием алгоритма BWA-MEM 2. Выявление мутаций осуществляли с помощью FreeBayes и фильтра из инструментария VCFlib. Аннотацию вариантов проводили с использованием SnpEff, дальнейший биоинформатический анализ полученных SNPs проводили с помощью пользовательских Python-скриптов.

Статистическая обработка результатов проведена с использованием онлайн-программы Medstatistic.ru. Вычисляли показатели вариационного ряда: среднее арифметическое, медиану и модальное значение. Оценку значимости различий количественных показателей осуществляли с помощью t-критерия Стьюдента для несвязанных совокупностей. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$. Также вычисляли МИК₅₀ и МИК₉₀ (МИК, подавляющие рост 50% и 90% исследованных штаммов соответственно) DIm.

Результаты исследования

I. Молекулярно-генетическая характеристика штаммов, включенных в исследование

Исследование с помощью «ТБ-ТЕСТ» 39 фенотипически лекарственно-чувствительных штаммов *M. tuberculosis* не выявило генетических детерминант устойчивости в анализируемых генах к рифампицину, изониазиду, этамбутолу, фторхинолонам и инъекционным препаратам.

Анализ лекарственно-устойчивых штаммов показал, что среди 17 из 39 (43,6%) штаммов с МЛУ у 14 (82,4%) устойчивость к рифампицину и изониазиду была опосредована мутациями S531L в гене *rpoB* и S315T в гене *katG* соответственно. Среди остальных штаммов (21,4%; 3 из 14) были выявлены сочетания замен: D516V (*rpoB*) и S315T (*katG*), D516V (*rpoB*) и S315T (*katG*)/T15 (*inhA*), H526C (*rpoB*) и S315T (*katG*) соответственно. У всех 17 штаммов с МЛУ чувствительность к фторхинолонам подтверждена отсутствием мутаций в генах *gyrA/gyrB*.

Среди 3 из 39 (7,7%) полирезистентных штаммов у двух устойчивость к изониазиду была связана с мутациями S315T (*katG*), у одного – с сочетанием замен S315T (*katG*) и T15 (*inhA*). Чувствительность к рифампицину подтверждена отсутствием замен в гене *rpoB*.

В группе 19 штаммов с пре-ШЛУ (41,0%; 16 из 39;) и ШЛУ (7,7%; 3 из 39;) устойчивость к рифампицину была связана с мутацией S531L (*rpoB*), выявленной в 16 (84,2%) штаммах и с заменами H526Y, H526N и L533P, обнаруженными в 3 (15,8%). Резистентность к изониазиду подтверждена наличием в 15 (78,9%) штаммах мутации S315T (*katG*), в 3 штаммах (15,8%) мутации S315T (*katG*)/T15 (*inhA*) и в одном (5,3%) – S315T (*katG*)/G8 (*inhA*). Устойчивость к фторхинолонам среди всех штаммов с пре-ШЛУ и ШЛУ (48,7%; 19 из 39) подтверждена наличием мутаций в 17 (89,5%) штаммах. В 14 из 19 (73,7%) мутации обнаружены только в гене *gyrA*, из которых D94G выявлена в 6 из 14 штаммов (42,9%), D94Y – в двух (14,3%), A90V – в двух (14,3%) и D94H, D94A, G88C и S91P – в каждом из оставшихся четырех штаммов (28,6%). Мутации одновременно в двух генах *gyrA/gyrB* –

D94A/E540D и D94A/D500H обнаружены в двух из 17 штаммов (11,8%) и в одном из 17 (5,9%) – двойная мутация A90V/D94N в гене *gyrA*.

Среди всех 39 лекарственно-устойчивых штаммов замены в гене *embB*, связанные с устойчивостью к этамбутолу, обнаружены в 29 (74,4%) штаммах: в 9 из 29 (31,0%) – мутация M306V, в 6 (20,7%) – D354A, в 4 (13,8%) – M306I1, в 3 (10,3%) – G406D, в 3 (10,3%) – N296H, в двух (6,9%) – M306I2 и по одной Q497R и Y319D в двух из 29 штаммов (6,9%).

Детерминанты устойчивости к инъекционным препаратам обнаружены в 23 из 39 (59,0%) штаммов: в 9 из 23 (39,1%) – мутация a1401g в гене *rrs* и в 14 (60,9%) – в гене *eis*, где у 5 из 14 (35,7%) штаммов выявлена мутация g37t, еще у пяти (35,7%) – g10a, у трех (21,4%) – c12t и у одного (7,1%) – c14t.

Таким образом, среди отобранных для исследования клинических штаммов комплекса *M. tuberculosis* молекулярно-генетические результаты полностью совпали с фенотипической чувствительностью в группе лекарственно-чувствительных и полирезистентных штаммов. Расхождения выявлены в результатах бактериологического и молекулярно-генетического исследований чувствительности к фторхинолонам среди штаммов с пре-ШЛУ и ШЛУ и связаны с отсутствием в двух резистентных изолятах генетических детерминант устойчивости в генах *gyrA/gyrB*.

II. Выбор разбавителя для приготовления растворов Dlm

Согласно рекомендациям ВОЗ, субстанцию Dlm растворяют в химически чистом ДМСО и полученный концентрированный раствор разбавляют стерильной дистиллированной водой в необходимом объеме [27]. Изначально с растворами, приготовленными с помощью данного растворителя и разбавителя, был проведен эксперимент по определению МИК Dlm в отношении четырех клинических штаммов *M. tuberculosis*, чувствительных к ПТП первого ряда, и контрольного чувствительного штамма *M. tuberculosis* H37Rv (*n* = 5). В ходе приготовления основного раствора при добавлении стерильной дистиллированной воды к растворенной в ДМСО навеске Dlm наблюдали

Таблица 1. МИК деламанида в отношении чувствительных к противотуберкулезным препаратам штаммов *M. tuberculosis* при использовании разных разбавителей

Table 1. Characteristics of delamanide in relation to *M. tuberculosis* strains sensitive to anti-tuberculosis drugs when using different diluents

№ штамма Strain number	Происхождение штамма Origin of the strain	МИК деламанида (мкг/мл) • MIC delamanide (µg/ml)	
		Разбавитель – стерильная дистиллированная вода Diluent – sterile distilled water	Разбавитель – ДМСО Diluent – Dimethyl Sulfoxide
1	клинический • clinical	0,25	0,016
2	клинический • clinical	0,25	0,03
3	клинический • clinical	0,12	0,016
4	клинический • clinical	0,25	0,016
5	контрольный H37Rv • control H37Rv	0,25	0,03

Примечание: МИК – минимальная ингибирующая концентрация, критическая концентрация 0,06 мкг/мл рекомендована ВОЗ для оценки чувствительности *M. tuberculosis* в автоматизированной системе Bactec MGIT.

Note: MIC is the minimum inhibitory concentration, a critical concentration of 0.06 micrograms/ml is recommended by WHO to assess the sensitivity of *M. tuberculosis* in the automated Bactec MGIT system.

помутнение (образование молочно-белой взвеси). Добиться частичного исчезновения мутности раствора удалось путем интенсивного встряхивания пробирки в течение 15 минут. Далее путем последовательного разведения в стерильной дистиллированной воде с двойным шагом снижения получали необходимые концентрации рабочих растворов.

Исследование по определению МИК Dlm показало, что полученные значения превышали рекомендованную ВОЗ критическую концентрацию и составили 0,25 мкг/мл для четырех штаммов, включая контрольный, и 0,125 мкг/мл для одного штамма. Таким образом, полученные значения МИК указали на устойчивость к Dlm всех изученных лекарственно-чувствительных штаммов *M. tuberculosis*.

Далее определены МИК Dlm в отношении этих же штаммов, но с применением в качестве разбавителя только ДМСО. Получены значения МИК, не превышающие критическую концентрацию, 0,016–0,03 мкг/мл. Обобщенные результаты исследования с применением разных разбавителей представлены в таблице 1.

Таким образом, в рамках проведенного исследования выявлено, что применение стерильной дистиллированной воды для приготовления основного и рабочего растворов непри-

емлемо в связи с выпадением препарата в осадок и получением ложно устойчивых результатов. Поэтому при проведении последующих экспериментов все разведения Dlm готовили с использованием только ДМСО, как рекомендуют *K. Stinson* и другие авторы [9, 24].

III. Определение чувствительности к Dlm клинических штаммов *M. tuberculosis*, выделенных от больных, не принимавших Dlm

Для исследования чувствительности к Dlm было отобрано 78 клинических штаммов *M. tuberculosis*, выделенных от 78 больных туберкулезом органов дыхания (по одной культуре от каждого больного), не получавших лечение Dlm. В эту группу также включены 4 клинических штамма, которые были протестированы в эксперименте II.

Результаты эксперимента III представлены в таблице 2. Как видно из таблицы 2, значения МИК Dlm в отношении 39 лекарственно-чувствительных штаммов *M. tuberculosis* распределились в диапазоне 0,004–0,25 мкг/мл. Для большинства этих штаммов (79,5%; 31 из 39) показатели МИК препарата составили 0,008 и 0,016 мкг/мл (среднее арифметическое = 0,02; медиана и модальное значение = 0,016 мкг/мл).

Таблица 2. Результаты определения МИК Dlm в отношении клинических штаммов *M. tuberculosis* с различным профилем лекарственной устойчивости

Table 2. The results of the determination of MIC Dlm in relation to clinical strains of *M. tuberculosis* with different profiles of drug resistance

МИК Dlm (мкг/мл) MIC Dlm (µg/ml)	Лекарственно-чувствительные абс. (%) Drug-sensitive abs. (%)	Количество штаммов • Number of strains				Всего абс. (%) Total abs. (%)
		Лекарственно-устойчивые • Drug-resistant				
		Полирезистентные Polyresistant абс. (%) • abs.	МЛУ • MDR абс. (%) • abs.	пре-ШЛУ • pre-XDR абс. (%) • abs.	ШЛУ • XDR абс. (%) • abs.	
0,002	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
0,004	2 (2,6)	0 (0)	3 (3,8)	1 (1,3)	0 (0)	6 (7,7)
0,008	12 (15,4)	2 (2,6)	5 (6,4)	4 (5,1)	0 (0)	23 (29,5)
0,016	19 (24,4)	0 (0)	4 (5,1)	8 (10,2)	1 (1,3)	32 (41,0)
0,03	5 (6,4)	1 (1,3)	4 (5,1)	3 (3,8)	2 (2,6)	15 (19,2)
0,06 *	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
0,125	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
0,25	1 (1,3)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1,3)
0,5	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
1	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
2	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
4	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
8	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
16	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
>32	0 (0)	0 (0)	1 (1,3)	0 (0)	0 (0)	1 (1,3)
Всего • Total	39 (50)	3 (3,9)	17 (21,7)	16 (20,4)	3 (3,9)	78 (100)
		39 (50)				

Примечание • Note:
МЛУ – штаммы с множественной лекарственной устойчивостью • MDR – multidrug-resistant strains
пре-ШЛУ – штаммы с пре-широкой лекарственной устойчивостью • pre-XDR – strains with advanced drug resistance
ШЛУ – штаммы с широкой лекарственной устойчивостью • XDR – strains with widespread drug resistance
МИК – минимальная ингибирующая концентрация • MIC – minimum inhibitory concentration
* – значение критической концентрации • * – the value of the critical concentration.

Таблица 3. Показатели активности деламаида в отношении клинических штаммов *M. tuberculosis* с различным профилем лекарственной устойчивости

Table 3. Indicators of delamanide activity in relation to *M. tuberculosis* clinical strains with different drug resistance profiles

Показатели активности деламаида Delamanid activity indicators	МИК (мкг/мл) • MIC (µg/ml)		
	Лекарственно-чувствительные штаммы Drug-sensitive strains (n = 39)	Лекарственно-устойчивые штаммы Drug-resistant strains (n = 39)	Все штаммы All strains (n = 78)
МИК ₅₀ • MIC ₅₀	0,016	0,016	0,016
МИК ₉₀ • MIC ₉₀	0,03	0,03	0,03

Примечание: МИК – минимальная ингибирующая концентрация.

Note: MIC – minimum inhibitory concentration.

При оценке результатов с применением критической концентрации 38 (97,4%) лекарственно-чувствительных штаммов обладали чувствительностью к Dlm, один (2,6%) – устойчивостью.

Рост лекарственно-устойчивых штаммов *M. tuberculosis* подавляли концентрации Dlm от 0,004 до >32,0 мкг/мл, преимущественно 0,008–0,03 мкг/мл (87,2%, 34 из 39 штаммов); среднее арифметическое значение МИК составило 0,84; медиана и модальное значение – 0,016 мкг/мл. При интерпретации полученных значений установлено, что 38 из 39 (97,4%) штаммов обладали чувствительностью к Dlm и только один (2,6%) – устойчивостью.

При оценке результатов определения чувствительности к Dlm среди лекарственно-чувствительных и лекарственно-устойчивых штаммов *M. tuberculosis* статистически значимых различий не выявлено ($p = 0,323$).

Анализ полученных значений МИК также показал (таблица 3), что значения МИК₅₀ и МИК₉₀ были одинаковыми и составили 0,016 и 0,03 мкг/мл соответственно – как для лекарственно-чувствительных, так и для лекарственно-устойчивых штаммов *M. tuberculosis*.

При определении МИК Dlm в отношении клинических штаммов *M. tuberculosis* в качестве контроля использовали чувствительный к ПТП штамм *M. tuberculosis* H₃₇Rv. Полученные значения МИК Dlm для контрольного штамма варьировали в

диапазоне от 0,004 до 0,06 мкг/мл (среднее арифметическое = 0,03, медиана и модальное значение = 0,03 мкг/мл).

IV. Определение чувствительности к Dlm клинического штамма *M. tuberculosis*, выделенного от больного, который принимал Dlm в схеме лечения

Через 6 месяцев после включения Dlm в режим химиотерапии у одного из 39 больных сохранялось бактериовыделение. Выделенный штамм обладал ШЛУ. При определении МИК Dlm в отношении данного изолята ее значение составило > 32 мкг/мл, что указывало на высокий уровень устойчивости к препарату (таблица 4). Отметим, что до начала проведения химиотерапии больной выделял штамм *M. tuberculosis* с ШЛУ, который был чувствителен к Dlm (МИК = 0,03 мкг/мл) и не имел мутаций, ассоциированных с устойчивостью к Dlm.

V. Выявление мутаций, связанных с устойчивостью к Dlm у клинических штаммов *M. tuberculosis* с фенотипической устойчивостью к препарату

В ходе проведенного бактериологического исследования все три штамма с превышающими критическую концентрацию значениями МИК Dlm были секвенированы. У лекарственно-чувствительного штамма с МИК = 0,25 мкг/мл была выявлена мутация N91T в гене *ddn*. У двух лекарственно-устойчивых штаммов с МИК = >32 мкг/мл (один с МЛУ и один с ШЛУ) мутация W88* обнаружена в гене *ddn* и мутация Q299* – в гене *fgd1* соответственно (таблица 4). Отметим, что культура с МЛУ была

Таблица 4. Детерминанты устойчивости к деламаиду у клинических штаммов *M. tuberculosis* с фенотипической устойчивостью к препарату

Table 4. Determinants of resistance to delamanide in clinical *M. tuberculosis* strains with phenotypic resistance to the drug

№ штамма Strain number	Профиль устойчивости Stability profile	МИК Dlm (мкг/мл) MIC Dlm (µg/ml)	Мутации в гене • Mutations in the gene					
			<i>ddn</i>	<i>fgd1</i>	<i>fbiA</i>	<i>fbiB</i>	<i>fbiC</i>	<i>fbiD</i>
1	Чувствительный • Sensitive	0,25	N91T	wt	wt	wt	wt	wt
2	МЛУ • MDR	>32	W88*	wt	wt	wt	wt	wt
3	ШЛУ • XDR	>32	wt	Q299*	wt	wt	wt	wt

Примечание • Note:

Чувствительный – штамм, чувствительный к ПТП первого ряда • Sensitive – strain that is sensitive to first-line PTP

МЛУ – штаммы с множественной лекарственной устойчивостью • MDR – multidrug-resistant strains

ШЛУ – штаммы с широкой лекарственной устойчивостью • XDR – strains with widespread drug resistance

МИК – минимальная ингибирующая концентрация • MIC – minimum inhibitory concentration

wt – «дикий» тип • wt – the «wild» type.

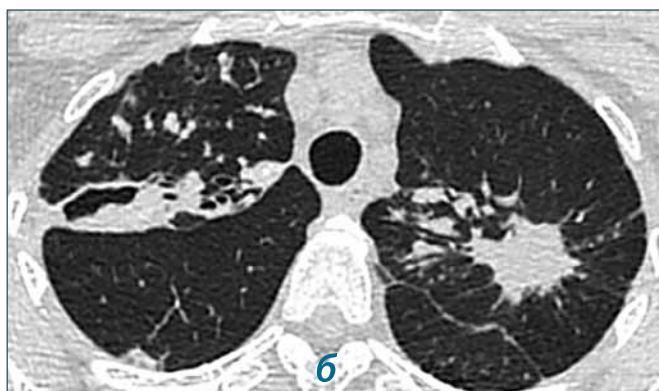


Рисунок 1. Данные компьютерной томографии органов грудной клетки у пациентки Т., 36 лет (легочное окно, аксиальные сканы): а – до начала лечения с включением Dlm, б – перед завершением курса лечения

Figure 1. Computed tomography of the chest organs in patient T., 36 years old (pulmonary window, axial scans): а – before the start of treatment with the inclusion of Dlm, б – before the end of the course of treatment

выделена до применения режима химиотерапии с включением Dlm, а культура с ШЛУ – через шесть месяцев после начала проведения химиотерапии, в составе которой присутствовал изучаемый препарат.

VI. Оценка клинического значения выявленной лекарственной устойчивости к Dlm

В связи с перспективами широкого включения Dlm в современные режимы лечения туберкулеза с МЛУ, пре-ШЛУ и ШЛУ возбудителя проанализировано клиническое значение выявленной устойчивости к препарату (МИК = >32 мкг/мл) у двух пациентов с лекарственно-устойчивым туберкулезом.

Первичная устойчивость к Dlm определена в культуре *M. tuberculosis*, выделенной у пациентки 36 лет с впервые выявленным диссеминированным туберкулезом легких в фазе инфильтрации и распада, инфильтративным туберкулезом гортани, трахеи, правого верхнедолевого и левого верхнезонального бронхов. Режим лечения, сформированный с учетом данных о наличии МЛУ (устойчивости ко всем препаратам первого ряда) и сопутствующей патологии (энцефалопатии смешанного генеза, психоэмоциональных нарушений), кроме Dlm включал бедаквилин, линезолид, моксифлоксацин, протинамид и меропенем в сочетании с клавулановой кислотой (всего 6 препаратов). На фоне лечения достигнуты клиническое улучшение, стойкое прекращение бактериовыделения (конверсия мокроты начиная с 4-й недели лечения), рентгенологическая динамика в виде рассасывания инфильтрации, уплотнения очагов, значительного уменьшения полостей распада (полного закрытия одной из полостей достичь не удалось), клиническое излечение туберкулеза гортани, трахеи и бронхов. Курс лечения завершен как эффективный, его общая длительность составила 20 месяцев. По-видимому, ключевым фактором быстрого абациллирования и излечения распространенного процесса (вопреки первичной устойчивости к Dlm, выявленной *post factum*) стала возможность формирования и реализации полноценного режима химиотерапии из

оставшихся пяти препаратов, включая сочетание сразу трех препаратов группы А с максимальной эффективностью. Следует отметить медленную рентгенологическую динамику с сохранением больших остаточных изменений (см. рис 1).

У пациента 30 лет с развившейся вторичной устойчивостью к Dlm изначально определялись множественные риски неудачи лечения: необратимые изменения легочной ткани (фиброзно-кавернозный туберкулез легких в сочетании с ХОБЛ тяжелого течения), неэффективный курс лечения в анамнезе, ШЛУ возбудителя (к препаратам первого и второго ряда, включая фторхинолоны, все инъекционные препараты и линезолид) и множественная сопутствующая патология, резко ограничивающие возможность формирования адекватного режима химиотерапии, а также проблемы с приверженностью на фоне алкогольной зависимости. Режим лечения включал бедаквилин, циклосерин, Dlm, пиперазид и имипенем+циластатин с клавулановой кислотой (с 6-го месяца химиотерапии дополнительно назначен клофазимин). На этом фоне у пациента сохранялось массивное бактериовыделение, рентгенологически после периода небольшого уменьшения размеров полости отмечена разнонаправленная динамика (рис. 2). Курс химиотерапии признан неэффективным, пациент переведен во II (Б) группу диспансерного наблюдения. Основным фактором формирования вторичной устойчивости к деламаниду и неудовлетворительного результата лечения в целом, по-видимому, стала низкая приверженность к лечению.

Обсуждение

Деламанид в настоящее время является действительно новым препаратом в лечении туберкулеза – в клинической практике российских фтизиатров он появился в декабре 2021 года, за рубежом применяется не более 9–10 лет. Тем не менее все чаще в литературе появляются публикации, описывающие случаи выделения у больных туберкулезом возбудителя с устойчивостью к этому препарату [7, 16, 17, 21, 24]. Было обнаружено,

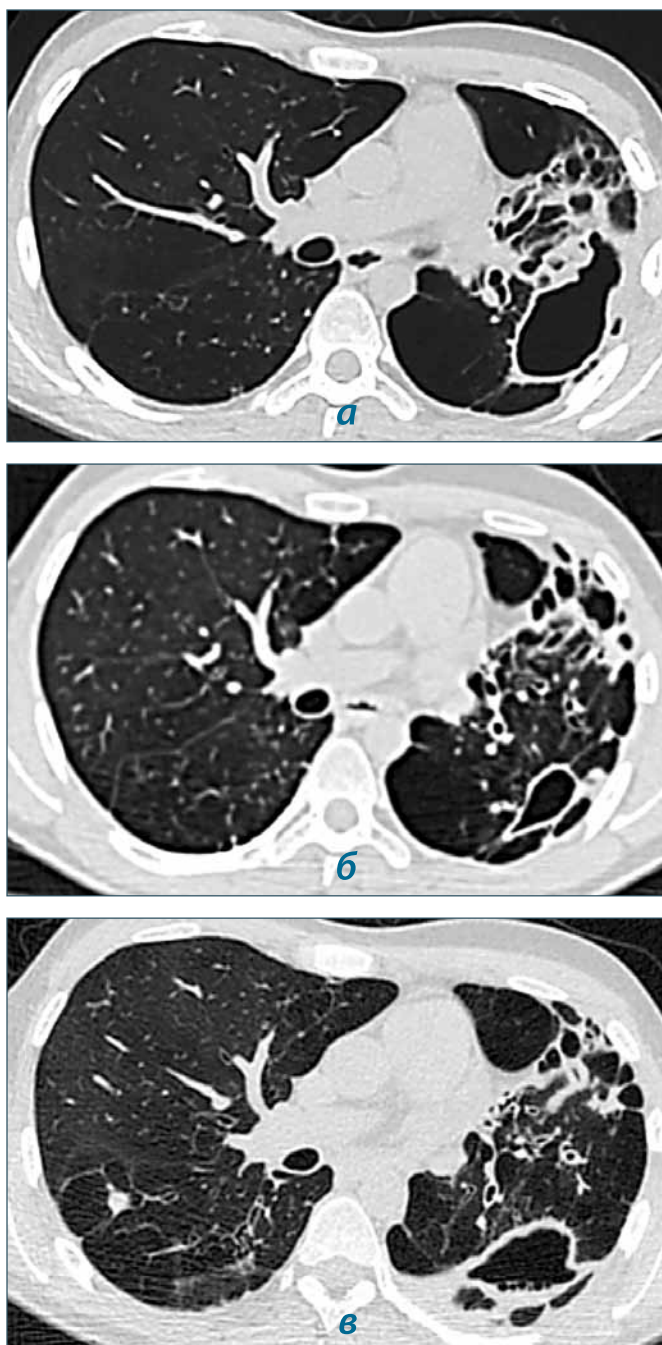


Рисунок 2. Данные компьютерной томографии органов грудной клетки у пациента 3., 30 лет (легочное окно, аксиальные сканы):

а – до начала лечения с включением Dlm,
б – через 2 месяца лечения,
в – через 12 месяцев лечения

Figure 2. Computed tomography data of chest organs in patient Z., 30 years old (pulmonary window, axial scans):
а – before the start of treatment with Dlm,
б – after 2 months of treatment,
в – after 12 months of treatment

что частота спонтанной устойчивости к Dlm аналогична таковой для изониазида и варьирует от $6,44 \times 10^{-6}$ до $4,19 \times 10^{-5}$ для *M. tuberculosis* H₃Rv и от $2,51 \times 10^{-5}$ до $3,95 \times 10^{-5}$ для *M. bovis* BCG [6].

Так, группой исследователей из Китая (He W. и соавт., 2021) проанализированы результаты определения чувствительности к Dlm, полученные методом микроразведений в бульоне с использованием пограничного значения МИК 0,125 мкг/мл [7]. Выделявшие *M. tuberculosis* больные, как впервые выявленные, так и с повторным курсом лечения, никогда ранее не получали этот препарат в режимах химиотерапии. Из 1603 штаммов 11 (0,7%) имели устойчивость к Dlm. Среди 102 штаммов с МЛУ три штамма (2,9%) обладали первичной резистентностью к препарату.

В 2016 году по инициативе Otsuka Pharmaceutical Co. Ltd (Япония) международной группой ученых проведено исследование по изучению чувствительности *M. tuberculosis* к Dlm. Из 460 клинических штаммов, выделенных преимущественно от пациентов с МЛУ возбудителя туберкулеза и никогда не принимавших Dlm, методом пропорций в агаре было обнаружено 2 (0,4%) устойчивых к Dlm штамма (МИК = 1 и >8 мкг/мл) при использовании критической концентрации 0,2 мкг/мл, предложенной авторами [24]. Если использовать значение критической концентрации 0,016 мкг/мл, одобренное ВОЗ в 2018 году, количество устойчивых штаммов достигает 7 (1,5%).

В настоящее время в бактериологических лабораториях фтизиатрической службы широко используют метод определения лекарственной чувствительности в автоматизированной системе Bactec MGIT; при этом стандарты критических концентраций и готовые наборы для анализа чувствительности *M. tuberculosis* к Dlm отсутствуют. Публикации, посвященные изучению чувствительности к Dlm с помощью этой системы, немногочисленны [9, 16, 21]. По мнению C.U. Köser и соавт. (2019), надежных оценочных критериев для тестирования чувствительности к Dlm не существует ни для одного бактериологического метода [11]. В то же время H. Xia и соавт. (2024, Китай) использовали метод определения чувствительности к Dlm в системе Bactec MGIT в качестве референсного для оценки эффективности метода микроразведений в бульоне с применением коммерческих планшетов [30].

E.Schena и соавт. (Италия, Германия, 2016) с помощью автоматизированной системы изучили диапазон МИК Dlm для 139 клинических штаммов *M. tuberculosis*, при этом модальное значение составило 0,016 мкг/мл, а «эпидемиологическая точка отсечения» (epidemiological cut-off, ECOFF) – 0,06 мкг/мл [21]. В ходе исследования также были обнаружены штаммы с устойчивостью к Dlm (2,9%): у одного штамма с ШЛУ и у трех с МЛУ.

Используя систему Bactec MGIT, оснащенную программным обеспечением EpiCenter с модулем TB eXiST, P.M. Keller и соавт. (2015) в отношении чувствительных к ПТП штаммов *M. tuberculosis* определили среднее значение МИК для Dlm в размере 0,013 мг/л (медиана = 0,01 мг/л) и ECOFF в размере 0,04 мг/л [9]. Следует подчеркнуть, что авторы использовали таблетированную форму Dlm, а не чистую субстанцию.

Ученые из Ирландии провели фенотипическое определение чувствительности к Dlm с помощью Bactec MGIT в отношении 113 штаммов с мутациями в генах, связанных с резистентностью к препарату. У четырех (3,5%) штаммов с мутациями в генах *ddn* и *fbiA* была подтверждена первичная устойчивость к Dlm [16].

Настоящее исследование показало, что штаммы *M. tuberculosis* с различным профилем лекарственной устойчивости к ПТП, выделенные от пациентов, которые никогда не принимали Dlm, в 97,4% сохраняли чувствительность к препарату. Первичную резистентность к препарату выявили в 2,6%, у двух штаммов, выделенных от впервые выявленных больных: один из них обладал МЛУ и проявил высокий уровень устойчивости к Dlm (МИК = >32 мкг/мл), у другого чувствительность к ПТП первого ряда была сохранена, а МИК Dlm была ниже (0,25 мкг/мл). Еще у одного пациента с ШЛУ зарегистрирована приобретенная устойчивость возбудителя к Dlm (МИК = >32 мкг/мл) на фоне низкой приверженности к лечению (2,6%). Секвенирование трех указанных штаммов с МИК, превышающей критическую концентрацию, выявило мутации в 2 из 6 генов: *ddn* и *fgd1*.

Следует обратить внимание на факт случайного обнаружения штамма, выделенного от впервые выявленного больного с чувствительностью к ПТП первого ряда в сочетании с фенотипической и генетической устойчивостью к Dlm (МИК = 0,25 мкг/мл, определено трехкратно). В повседневной практике микобактериологических лабораторий обнаружить такие штаммы практически невозможно, так как определение чувствительности к ПТП второго ряда рекомендовано только при наличии устойчивости возбудителя к рифампицину. И если у штаммов с фенотипической чувствительностью к ПТП первого ряда устойчивость к фторхинолонам или инъекционным препаратам можно обнаружить с помощью молекулярно-генетических тестов (например, ТБ-ТЕСТа), то для выявления устойчивости к Dlm подобные тест-наборы отсутствуют. На практике Dlm крайне редко назначают больным с сохраненной чувствительностью к рифампицину (только в особых клинических ситуациях), однако факт обнаружения устойчивости у таких штаммов требует дальнейшего изучения этого вопроса.

Таким образом, можно констатировать, что обнаружение штаммов с устойчивостью (особенно первичной) к новому препарату – деламаниду подчеркивает необходимость быстрого, а главное, достоверного определения чувствительности к этому препарату как перед началом его применения в

схемах лечения, так и в процессе лечения. Это позволит предотвратить селекцию, снизить риск передачи и дальнейшее распространение устойчивых к Dlm *M. tuberculosis*, а также сделает возможным назначать адекватные схемы химиотерапии, в том числе в рамках краткосрочных режимов, и контролировать их эффективность у больных.

Полученные значения МИК согласуются с результатами других исследований [9, 16, 21], но ограниченное количество штаммов не позволило нам установить точное значение ECOFF. В целом применение предложенной ВОЗ критической концентрации 0,06 мкг/мл позволяет классифицировать штаммы на чувствительные и устойчивые к Dlm. Однако для подтверждения данного значения необходимы дальнейшие комплексные исследования в отношении большего числа клинических штаммов *M. tuberculosis* наряду с параллельным тестированием другими бактериологическими методами и выявлением мутаций в генах *ddn*, *fgd1*, *fbiA*, *fbiB*, *fbiC* и *fbiD*, которые, возможно, являются не единственными причинами возникновения устойчивости к Dlm.

Выводы

Установлено, что для приготовления основного раствора Dlm и его последующих разведений необходимо использовать химически чистый диметилсульфоксид (ДМСО).

С помощью автоматизированной системы Bactec MGIT выявлена высокая активность Dlm в отношении как лекарственно-чувствительных, так и лекарственно-устойчивых клинических штаммов *M. tuberculosis*, никогда не подвергавшихся воздействию этим препаратом: значения МИК варьировали от 0,004 до 0,03 мкг/мл для 97,4% изученных штаммов.

Первичная устойчивость *M. tuberculosis* к Dlm обнаружена у двух из 78 штаммов (2,6%), выделенных от впервые выявленных больных туберкулезом органов дыхания.

Выявлена приобретенная устойчивость *M. tuberculosis* к Dlm у одного больного из 39 обследованных с лекарственно-устойчивым туберкулезом (2,6%); через шесть месяцев после начала лечения с включением Dlm отмечено увеличение МИК препарата более чем на десять двойных разведений по сравнению с исходным значением.

Обнаружены генетические детерминанты устойчивости у трех клинических штаммов *M. tuberculosis* (мутации N91T и W88* в гене *ddn* и мутация Q299* в гене *fgd1*) с МИК Dlm, превышающими критическую концентрацию.

Литература

1. Зими́на В.Н., Викторова И.Б. Деламанид – новый противотуберкулезный препарат: применение, ограничения, перспективы // Туберкулез и болезни легких. – 2021. – Т. 99. – № 2. – С. 58-66. <http://doi.org/10.21292/2075-1230-2021-99-2-58-66>
2. Можокина Г.Н., Самойлова А.Г., Васильева И.А., Абрамченко А.В. Деламанид: анализ эффективности и безопасности // Туберкулез и болезни легких. – 2023. – Т. 101. – № 6. – С. 102-110. <https://doi.org/10.58838/2075-1230-2023-101-6-102-110>

3. Bloemberg G.V., Keller P.M., Stucki D. et al. Acquired resistance to bedaquiline and delamanid in therapy for tuberculosis // *N. Engl. J. Med.* – 2015. – Vol. 373, № 20. – P. 1986-1988. doi: 10.1056/NEJMc1505196
4. Deane B.R., Porkess S. Clinical trial transparency update: an assessment of the disclosure of results of company-sponsored trials associated with new medicines approved in Europe in 2014 // *Curr. Med. Res. Opin.* – 2018. – Vol. 34, № 7. – P. 1239-1243. doi:10.1080/03007995.2017.1415057
5. EUCAST. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 14.0, valid from 2024-01-01 // [Электронный ресурс]. https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Breakpoint_tables/v_14.0_Breakpoint_Tables.pdf
6. Fujiwara M., Kawasaki M., Hariguchi N. et al. Mechanisms of resistance to delamanid, a drug for *Mycobacterium tuberculosis* // *Tuberculosis.* – 2018. – Vol. 108. – P. 186-194. doi: 10.1016/j.tube.2017.12.006.
7. He W., Liu C., Liu D. et al. Prevalence of *Mycobacterium tuberculosis* resistant to bedaquiline and delamanid in China // *J. Glob. Antimicrob. Resist.* – 2021. – Vol. 26. – P. 241-248. doi: 10.1016/j.jgar.2021.06.007
8. Kadura S., King N., Nakhoul M. et al. Systematic review of mutations associated with resistance to the new and repurposed *Mycobacterium tuberculosis* drugs bedaquiline, clofazimine, linezolid, delamanid and pretomanid // *J. Antimicrob. Chemother.* – 2020. – Vol. 75, № 8. – P. 2031-2043. doi: 10.1093/jac/dkaa136
9. Keller P.M., Hömke R., Ritter C. et al. Determination of MIC distribution and epidemiological cutoff values for bedaquiline and delamanid in *Mycobacterium tuberculosis* using the MGIT 960 system equipped with TB eXiST // *Antimicrob. Agents Chemother.* – 2015. – Vol. 59, № 7. – P. 4352-4355. doi: 10.1128/AAC.00614-15
10. Khoshnood S., Taki E., Sadeghifard N. et al. Mechanism of action, resistance, synergism, and clinical implications of delamanid against multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* // *Front Microbiol.* – 2021. – Vol. 12. – P. 717045. doi: 10.3389/fmicb.2021.717045
11. Köser C.U., Maurer F.P., Kranzer K. «Those who cannot remember the past are condemned to repeat it»: Drug-susceptibility testing for bedaquiline and delamanid // *Int. J. Infect. Dis.* – 2019. – Vol. 80S. – P. S32-S35. doi: 10.1016/j.ijid.2019.02.027
12. Kumar D., Negi B., Rawat D.S. The anti-tuberculosis agents under development and the challenges ahead // *Future Med. Chem.* – 2015. – Vol. 7, № 15. – P. 1981-2003. doi: 10.4155/fmc.15.128
13. Liu Y., Shi J., Li L. et al. Spontaneous mutational patterns and novel mutations for delamanid resistance in *Mycobacterium tuberculosis* // *J. Antimicrob. Agents Chemother.* – 2022. – Vol. 66, № 12. – e0053122. doi: 10.1128/aac.00531-22
14. Manjunatha U., Boshoff H.I., Barry C.E. The mechanism of action of PA-824: Novel insights from transcriptional profiling // *Commun. Integr. Biol.* – 2009. – Vol. 2, № 3. – P. 215-218. doi: 10.4161/cib.2.3.7926
15. Matsumoto M., Hashizume H., Tomishige T. et al. OPC-67683, a nitro-dihydro-imidazooxazole derivative with promising action against tuberculosis in vitro and in mice // *PLoS Med.* – 2006. – Vol. 3, № 11. – e466. doi: 10.1371/journal.pmed.0030466
16. Mok S., Roycroft E., Flanagan P.R. et al. Investigation of genomic mutations and their association with phenotypic resistance to new and repurposed drugs in *Mycobacterium tuberculosis* complex clinical isolates // *J. Antimicrob. Chemother.* – 2023. – Vol. 78, № 11. – P. 2637-2644. doi: 10.1093/jac/dkad252
17. Nguyen T.V.A., Anthony R.M., Cao T.T.H. et al. Delamanid resistance: update and clinical management // *Clin. Infect. Dis.* – 2020. – Vol. 71, № 12. – P. 3252-3259. doi:10.1093/cid/ciaa755
18. Rustomjee R., Zumla A. Delamanid expanded access novel treatment of drug resistant tuberculosis // *Infect. Drug Resist.* – 2015. – Vol. 8. – P. 359-366. doi: 10.2147/IDR.S62119
19. Saliu O.Y., Crismale C., Schwander S.K., Wallis R.S. Bactericidal activity of OPC-67683 against drug-tolerant *Mycobacterium tuberculosis* // *J. Antimicrob. Chemother.* – 2007. – Vol. 60, № 5. – P. 994-998. doi: 10.1093/jac/dkm291
20. Sasaki H., Haraguchi Y., Itotani M. et al. Synthesis and antituberculosis activity of a novel series of optically active 6-nitro-2,3-dihydroimidazo [2,1-b]oxazoles // *J. Med. Chem.* – 2006. – Vol. 49, № 26. – P. 7854-7860. doi: 10.1021/jm060957y
21. Schena E., Nedialkova L., Borroni E. et al. Delamanid susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis* using the resazurin microtitre assay and the BACTEC™ MGIT™ 960 system // *J. Antimicrob. Chemother.* – 2016. – Vol. 71, № 6. – P. 1532-1539. doi: 10.1093/jac/dkw044
22. Singh R., Manjunatha U., Boshoff H.I. et al. PA-824 kills nonreplicating *Mycobacterium tuberculosis* by intracellular NO release // *Science.* – 2008. – Vol. 322, № 5906. – P. 1392-1395. doi: 10.1126/science.1164571
23. Sotgiu G., Pontali E., Centis R. et al. Delamanid (OPC-67683) for treatment of multi-drug-resistant tuberculosis // *Expert Rev. Anti. Infect. Ther.* – 2015. – Vol. 13, № 3. – P. 305-315. doi: 10.1586/14787210.2015.1011127
24. Stinson K., Kurepina N., Venter A. et al. MIC of delamanid (OPC-67683) against *Mycobacterium tuberculosis* clinical isolates and a proposed critical concentration // *Antimicrob. Agents Chemother.* – 2016. – Vol. 60, № 6. – P. 3316-3322. doi: 10.1128/AAC.03014-15
25. Stover C.K., Warrenner P., Van Devanter D.R. A small-molecule nitroimidazopyran drug candidate for the treatment of tuberculosis // *Nature.* – 2000. – Vol. 405, № 6789. – P. 962-966. doi: 10.1038/35016103
26. World Health Organization. The use of delamanid in the treatment of multidrug-resistant tuberculosis: interim policy guidance. – Geneva: WHO, 2014. – P. 1-65.

27. World Health Organization. Technical manual for drug susceptibility testing of medicines used in the treatment of tuberculosis. – Geneva: WHO, 2018.
28. World Health Organization. Technical report on critical concentration for drug susceptibility testing of medicines used in treatment of drug-resistant tuberculosis. – Geneva: WHO, 2018.
29. World Health Organization. Global Tuberculosis Report 2020: Executive Summary. – Geneva: WHO, 2020.
30. Xia H., Song Y., Zheng Y. et al. Proficiency testing for drug susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis* complex using commercial broth microdilution plate in China in 2021 // J. Glob. Antimicrob. Resist. – 2024. – Vol. 36. – P. 230-236. doi: 10.1016/j.jgar.2023.11.012

Об авторах

Михайлова Юлия Дмитриевна – ведущий научный сотрудник отдела проблем лабораторной диагностики туберкулеза и патоморфологии ГБУЗ города Москвы «Московский городской научно-практический центр борьбы с туберкулезом Департамента здравоохранения города Москвы», кандидат биологических наук

Адрес: 107014, г. Москва, ул. Стромынка, д. 10, стр. 1

Тел. +7 (495) 603-30-33

e-mail: juliaisaeva81@rambler.ru

Макарова Марина Витальевна – главный научный сотрудник отдела проблем лабораторной диагностики туберкулеза и патоморфологии ГБУЗ города Москвы «Московский городской научно-практический центр борьбы с туберкулезом Департамента здравоохранения города Москвы», доктор биологических наук

Адрес: 107014, г. Москва, ул. Стромынка, д. 10, стр. 1

Тел. +7 (916) 688-98-25

e-mail: makarova75@yandex.ru

Крылова Людмила Юрьевна – ведущий научный сотрудник отдела проблем лабораторной диагностики туберкулеза и патоморфологии ГБУЗ города Москвы «Московский городской научно-практический центр борьбы с туберкулезом Департамента здравоохранения города Москвы», кандидат биологических наук

Адрес: 107014, г. Москва, ул. Стромынка, д. 10, стр. 1

Тел. +7 (499) 268-70-33

e-mail: l1959krylova@yandex.ru

Носова Елена Юрьевна – ведущий научный сотрудник отдела проблем лабораторной диагностики туберкулеза и патоморфологии ГБУЗ города Москвы «Московский городской научно-практический центр борьбы с туберкулезом Департамента здравоохранения города Москвы», доктор медицинских наук

Адрес: 107014, г. Москва, ул. Стромынка, д. 10, стр. 1

Тел. +7 (495) 603-30-33

e-mail: rna68@rambler.ru

Жиркова Светлана Александровна – исполняющая обязанности заведующего туберкулезным легочным отделением филиала по ВАО и СВАО ГБУЗ города Москвы «Московский городской научно-практический центр борьбы с туберкулезом Департамента здравоохранения города Москвы»

Адрес: 105425, г. Москва, Сиреневый б-р, д. 6

Тел. +7 (499) 164-36-25

e-mail: zhirkovasa@zdrav.mos.ru

Уштанич Анастасия Игоревна – старший лаборант Центра высокоточного геномного редактирования и генетических технологий для биомедицины ФГБУН «Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН»

Адрес: 119991, г. Москва, ул. Вавилова, д. 32

Тел. +7 (916) 163-65-91

e-mail: ushtanit@mail.ru

Зименков Данила Вадимович – ведущий научный сотрудник Центра высокоточного геномного редактирования и генетических технологий для биомедицины ФГБУН «Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН», кандидат биологических наук

Адрес: 119991, г. Москва, ул. Вавилова, д. 32

Тел. +7 (916) 546-97-82

e-mail: z@biochip.ru