

## ВЛИЯНИЕ ГЕНОТИПИЧЕСКОЙ ИЗМЕНЧИВОСТИ M. TUBERCULOSIS НА ТЕЧЕНИЕ ТУБЕРКУЛЕЗА СО МНОЖЕСТВЕННОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТЬЮ

Проф. В. С. КРУТЬКО<sup>1</sup>, проф. Л. Г. НИКОЛАЕВА<sup>1</sup>, доц. Т. В. МАЙСТАТ<sup>1</sup>,  
проф. А. А. ОПАРИН<sup>1</sup>, канд. мед. наук А. В. РОГОЖИН<sup>1, 2</sup>

<sup>1</sup> Харьковская медицинская академия последипломного образования,  
<sup>2</sup> Харьковский национальный университет имени В. Н. Каразина, Украина

**Представлены результаты оценивания эффективности терапии больных туберкулезом со множественной лекарственной устойчивостью, у которых была выявлена генотипическая изменчивость в процессе лечения. Установлено влияние генотипической изменчивости микобактерий на успешность терапии больных туберкулезом со множественной лекарственной устойчивостью.**

*Ключевые слова:* *Mycobacterium tuberculosis, генотипическая изменчивость, VNTR-генотипирование, лечение.*

Туберкулез (ТБ) является одной из главных причин смертности от инфекционных заболеваний в мировом масштабе [1, 2]. Это инфекционное, социально зависимое заболевание сегодня представляет собой одну из наиболее актуальных проблем практического здравоохранения [3]. В первую очередь это связано с тем, что с конца прошлого века эпидемиологическая ситуация по ТБ во всем мире снова стала стремительно ухудшаться [4]. Кроме обычных разновидностей, быстро распространяется химиорезистентный ТБ (ХРТБ), при котором микобактерии (МБТ) устойчивы к действию многих основных антимикобактериальных препаратов (АМБП): мультирезистентный ТБ (МРТБ) и ТБ с расширенной резистентностью (РРТБ) [4, 5]. По оценкам специалистов ВОЗ, около 500 тыс. жителей планеты инфицированы МБТ, устойчивыми к действию стандартных противотуберкулезных препаратов [6]. При РРТБ, как отмечают фтизиатры [7, 8], МБТ резистентны практически ко всем известным на сегодня препаратам, чем и объясняется высокий уровень смертности пациентов — 85%. Вероятность успешного лечения уменьшается с появлением новых генотипов МБТ с тотальной резистентностью [9, 10].

В современной эпидемиологии ТБ важным компонентом является изучение закономерностей развития эпидемии ТБ, причин и факторов, способствующих распространению генотипов МБТ, обладающих специфическими свойствами [11, 12]. Для этого проводится идентификация генотипов по определенным признакам, что позволяет решать такие вопросы, как их происхождение, установление источника инфекции, вероятные пути и факторы передачи, а также выявлять случаи возникновения и распространения устойчивости к АМБП [13, 14].

Популяция МБТ в Украине генетически однородна и представлена генотипами глобально распространенных генетических групп (ли-

ний), среди которых преобладают Beijing, LAM и Haarlem [15].

ТБ как внутрибольничная инфекция остается недостаточно изученным заболеванием [16]. Вместе с тем, несмотря на очевидную актуальность проблемы, система эпидемиологической диагностики нозокомиальной ТБ-инфекции не регламентирована действующими нормативно-правовыми документами [17]. В связи с этим статистика, отражающая реальное состояние решения проблемы, отсутствует. В результате не представляется возможным дать объективную оценку эффективности программ по предотвращению перекрестного заражения пациентов противотуберкулезных учреждений [18–20].

Цель данного исследования — оценка эффективности терапии больных ТБ с множественной лекарственной устойчивостью, у которых была выявлена генотипическая изменчивость в процессе лечения.

Работа выполнена на клинических базах кафедры фтизиатрии, пульмонологии и семейной медицины Харьковской медицинской академии последипломного образования с 2012 по 2015 гг. В исследование вошли 10 пациентов с ХРТБ легких, у которых в процессе терапии наблюдалась генотипическая изменчивость МБТ. У этих больных была исследована клинико-лабораторная и рентгенологическая динамика ХРТБ легких в течение интенсивной фазы (ИФ) лечения.

Все больные находились в условиях стационара и получали стандартное лечение согласно приказу МЗ Украины от 04.09.2014 № 620. Лабораторные исследования крови, мочи и мокроты выполнялись по общепринятым методикам при поступлении больного в стационар, затем ежемесячно. Рентгенологическое исследование органов грудной клетки проводилось до лечения, на 4-м и 8-м месяцах ИФ лечения.

Таблиця 1

**Динамика интоксикационного синдрома  
у больных с химиорезистентным туберкулезом  
легких и генотипической изменчивостью  
микобактерий**

Степень ИС	Количество больных			
	до начала лечения	2-й месяц	4-й месяц	8-й месяц
I	7	4	4	3
II	2	5	4	3
III	1	1	—	—

Таблиця 2

**Эффективность лечения больных  
с химиорезистентным туберкулезом легких  
и генотипической изменчивостью микобактерий**

Признаки	До начала лечения	1-й месяц	4-й месяц	8-й месяц
Закрытие полостей распада	—	—	3 (30%)	6 (60%)
Прекращение бактериовыделения	—	—	3 (30%)	5 (50%)

Для определения генотипов МБТ культуры, которые были получены в мокроте больных методом посева на питательных средах Левенштейна — Йенсена и Финна, отбирались в пробирки с лизирующим раствором гуанидина тиоционата, что позволяло обеспечить биобезопасность при проведении ПЦР-исследования. Было отобрано по четыре образца культур МБТ: до начала лечения и с интервалами в 1, 4 и 8 мес.

Генотипы МБТ определялись VNTR-методом (Variable number tandem repeat) с помощью наборов праймеров для амплификации пяти точных tandemных повторов по ETR A-, B-, C-, D-, E-локусам. Интерпретация данных генотипирования проводилась по VNTR-профилю, с использованием программы базы данных MIRU-VNTRplus [21], а также по литературным источникам.

Эффективность лечения больных ХРТБ легких с генотипической изменчивостью МБТ оценивали по динамике интоксикационного синдрома (ИС), срокам закрытия полостей распада и прекращению бактериовыделения.

Выраженность ИС определялась степенью тяжести. Первая степень (слабо выраженный ИС) характеризуется повышением температуры тела до 38 °С, умеренной потливостью, слабостью и снижением аппетита; вторая (умеренно выраженный) — повышением температуры тела до 38,5 °С, выраженной потливостью, слабостью, значительным снижением аппетита; третья (выраженный) — высокой температурой тела > 38,5 °С, профузными потами, резкой слабостью, адинамией, анорексией, нарушением сна [22].

До начала лечения у 7 больных наблюдался ИС I степени, у 2 — II степени и у одного больного — III степени. На 2-м месяце лечения количество пациентов с ИС II степени увеличилось до 5. Это произошло за счет трех больных, у которых на этапе диагностики были выявлены генотипы МБТ семейства Haarlem, а через месяц лечения в стационаре установлена смена генотипа — в одном случае на генотип МБТ семейства LAM, в двух других — семейства Beijing. После 8 мес лечения у всех больных с генотипической изменчивостью МБТ наблюдалось снижение степени ИС (табл. 1).

У всех пациентов с генотипической изменчивостью МБТ до начала лечения были деструктивные изменения в легких и наблюдалось массивное бактериовыделение. После 8 мес лечения у 6 (60%) из них произошло закрытие полостей распада, у 5 (50%) — прекратилось бактериовыделение по результатам бактериоскопического метода исследования мокроты (табл. 2). Среди больных, у которых отмечалась отрицательная клинико-рентгенологическая динамика после 8 мес наблюдения, у одного был обнаружен генотип МБТ семейства LAM и у трех — семейства Beijing.

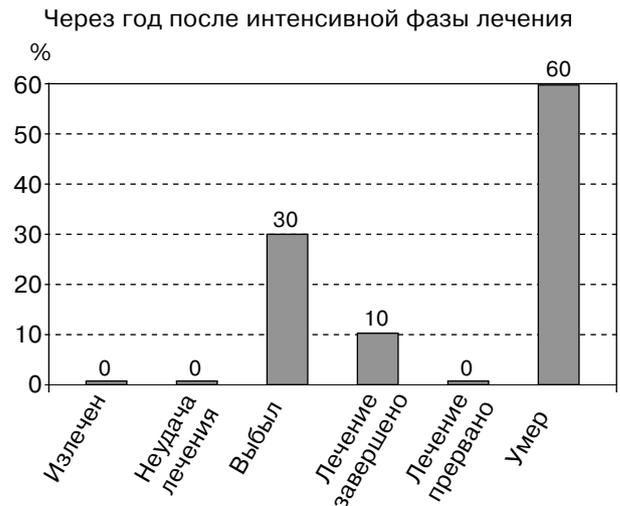
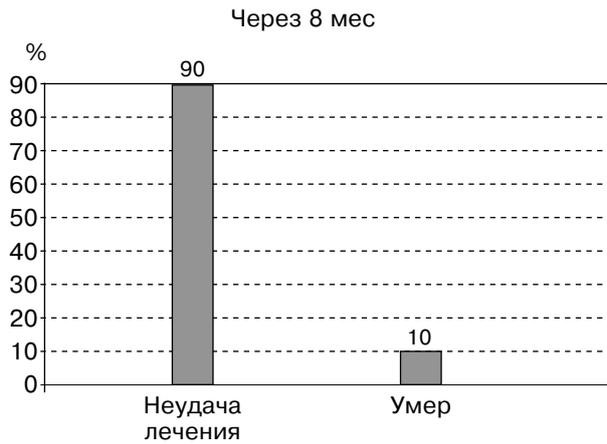
После ИФ лечения у 9 (90%) больных с генотипической изменчивостью МБТ не удалось достичь стойкого прекращения бактериовыделения

и один пациент умер. При анализе эффективности терапии через год после окончания ИФ 6 больных умерло и 3 были переведены на паллиативное лечение (рисунок).

В ходе исследования установлено, что генотипическая изменчивость МБТ характеризуется сменой менее вирулентных генотипов МБТ на более вирулентные. У 6 из 10 пациентов, которые вошли в исследование до начала лечения, были выявлены генотипы МБТ индивидуальных профилей (ГИП) и генотипы МБТ Haarlem, которые считаются менее вирулентными [13]. Через месяц лечения у этих больных была установлена смена генотипов МБТ (ГИП и Haarlem) на генотипы МБТ LAM и Beijing, которые обладают большей вирулентностью.

Установлено, что во время смены менее вирулентных генотипов МБТ на генотипы МБТ Beijing появлялись признаки интоксикации (повышение температуры тела, слабость, снижение аппетита). Через год после окончания ИФ лечения 6 (60%) из 10 больных ХРТБ легких умерли.

Генотипическая изменчивость МБТ во внутрибольничных условиях говорит о том, что госпитализация в отделения противотуберкулезных учреждений является своеобразным риском экзогенной ТБ-суперинфекции, что становится причиной неблагоприятного исхода заболевания.



Результаты лечения больных химиорезистентным туберкулезом легких с генотипической изменчивостью микобактерий

Изучение влияния генотипической изменчивости МБТ на течение туберкулеза со множественной лекарственной устойчивостью требует

более масштабных исследований, являясь очень актуальным и перспективным направлением во фтизиатрии.

#### Список литературы

1. Корнага С. І., П'ятючка І. Т., Тхорик Н. В. Мультирезистентність мікобактерій туберкульозу у хворих з рецидивами туберкульозу легень // Інфекційні хвороби. 2014. № 3. С. 87–89.
2. Proposal for Standardization of Optimized Mycobacterial Interspersed Repetitive Unit-Variable-Number Tandem Repeat Typing of Mycobacterium tuberculosis / P. Supply et al. // J. Clin. Microbiol. 2006. № 44. P. 4498–4510. doi: <https://doi.org/10.3410/f.1057967.511026>
3. Савилов Е. Д., Синьков В. В., Огарков О. Б. Эпидемиология туберкулеза на Евро-Азиатском континенте: оценка глобального движения штаммов генотипа «Пекин». Иркутск: РИО ГБОУ ДПО ИГМАПО, 2013. 120 с.
4. World Health Organization. Global Tuberculosis Control report. WHO report. Geneva; Switzerland, 2017. 273 p.
5. Resistance to First – Line Anti – TB Drugs Is Associated with Reduced Nitric Oxide Susceptibility in Mycobacterium tuberculosis / J. Idh et al. // PLoS One. 2012. Vol. 7, № 6. P. 39891.
6. Global TB Control. WHO report. Geneva; Switzerland, 2013. P. 303.
7. Мельник В. М., Приходько А. М., Ареф'єва Л. В. Історія виникнення і розвитку хіміорезистентного туберкульозу // Укр. пульмонологічний журн. 2012. № 2. С. 59–61.
8. Miller T. I. Metabolic abnormalities and viral replication are associated with biomarkers of vascular dysfunction in HIV infected children // HIV Med. 2012. № 5. P. 264–275.
9. Бат'яришина Я. Р., Петренко Т. І., Филлимонов П. Н. Лекарственная устойчивость Mycobacterium tuberculosis к фторхинолонам в Новосибирской области: результаты популяционного исследования // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2013. № 1. С. 56–65.
10. Феценко Ю. І., Мельник В. М. Організація протитуберкульозної допомоги населенню. Сучасні підходи. К.: Здоров'я, 2012. 655 с.
11. Мультирезистентный туберкулез и ко-инфекция ВИЧ/ТБ: особенности эпидемической ситуации в Украине и Беларуси / Л. Д. Тодорико и др. // Туберкулез, легеневі хвороби, ВІЛ-інфекція. 2016. № 3 (26). С. 10–16.
12. Умпелева Т. В., Вязовая А. А., Кравченко М. А. Генотипирование изолятов Mycobacterium tuberculosis группы non-Beijing, циркулирующих в Уральском регионе // Уральский медицинский журн. 2013. № 2. С. 150–154.
13. Matteelli A., Roggi A., Carvalho A. Extensively drug-resistant tuberculosis: epidemiology and management // Clinical Epidemiology. 2014. № 6. P. 111–118.
14. Variable-number tandem repeats typing of Mycobacterium tuberculosis isolates with low copy numbers of IS6110 in Thailand / A. Thong – On et al. // Tuberculosis (Edinb). 2012. Vol. 90, № 1. P. 9–15. doi: <https://doi.org/10.1016/j.tube.2009.10.006>
15. Молекулярно-генетические механизмы туберкулезной инфекции / Ю. И. Бажора и др. Одесса: Одес. мед. ун-т, 2005. 296 с.
16. Туберкулез в Україні. Аналітично-статистичний довідник за 2014–2015 рр.: справ. изд. / голов. ред. О. К. Толстанов. К., 2016. 97 с.
17. Antonenko K. O., Kresyun V. I., Antonenko P. B. Mutations leading to drug-resistant Mycobacterium tuberculosis infection in Ukraine // Central Eur. J. of

- Medicine. 2012. Vol. 5, № 1. P. 30–35. doi: <https://doi.org/10.2478/s11536-009-0114-6>
18. Баласанянц Г. С., Исаева Н. Ю., Гришко А. Н. Изучение генетической принадлежности микобактерий туберкулеза в отдельных территориях Северо-Запада России // Туберкулез и болезни легких. 2011. № 4. С. 47–48.
  19. Баранов А. А. Педиатрия. Национальное руководство: в 2 т. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. Т. 2. 1024 с.
  20. Богородская Е. М. Пути совершенствования организации лечения больных туберкулезом: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.01.16. М., 2009. 45 с.
  21. Allix-Béguec C. Evaluation and user-strategy of MIRU-VNTRplus, a multifunctional database for online analysis of genotyping data and phylogenetic identification of *Mycobacterium tuberculosis* complex isolates // J. Clin. Microbiol. 2008. № 46 (8). P. 2692–2699. doi: <https://doi.org/10.1128/jcm.00540-08>
  22. Потейко П. И. Клинико-лабораторная характеристика интоксикационного синдрома у больных туберкулезом легких и эффективность детоксикационной терапии: дис. ... канд. мед. наук: 14.01.16. М., 1991. 239 с.

### ВПЛИВ ГЕНОТИПОВОЇ МІНЛИВОСТІ *M. TUBERCULOSIS* НА ПЕРЕБІГ ТУБЕРКУЛЬОЗУ ІЗ МНОЖИННОЮ ЛІКАРСЬКОЮ СТІЙКІСТЮ

V. S. KRUTKO, L. G. NIKOLAIEVA, T. V. MAISTAT, O. A. OPARIN, A. V. ROGOZHIN

Подано результати оцінювання ефективності терапії хворих на туберкульоз із множинною лікарською стійкістю, у яких було виявлено генотипову мінливість у процесі лікування. Установлено вплив генотипової мінливості мікобактерій на успішність терапії хворих на туберкульоз із множинною лікарською стійкістю.

*Ключові слова:* *Mycobacterium tuberculosis*, генотипова мінливість, VNTR-генотипування, лікування.

### INFLUENCE OF GENOTYPIC VARIABILITY OF *M. TUBERCULOSIS* ON THE COURSE OF TUBERCULOSIS WITH MULTIPLE DRUG RESISTANCE

V. S. KRUTKO, L. H. NIKOLAIEVA, T. V. MAISTAT, O. A. OPARIN, A. V. ROHOZHYN

The results of the evaluation of the therapy efficiency for the patients with multidrug resistance with the revealed genotypic variability in the treatment process have been presented. The influence of genotypic variability of mycobacteria on the success of therapy in the patients with multiple drug resistance has been established.

*Key words:* *Mycobacterium tuberculosis*, genotypic variability, VNTR-genotyping, treatment.

Поступила 16.10.2019