

ПРОГНОЗИРОВАНИЕ ТЯЖЕСТИ ТЕЧЕНИЯ ХИМИОРЕЗИСТЕНТНОГО ТУБЕРКУЛЕЗА ЛЕГКИХ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ГЕНОТИПОВ МБТ

Канд. мед. наук А. В. РОГОЖИН

Харьковская медицинская академия последипломного образования, Украина

Представлены результаты исследования прогнозирования клинического течения химиорезистентного туберкулеза легких в зависимости от генотипов *Mycobacterium tuberculosis* (МБТ) в течение интенсивной фазы лечения с помощью метода VNTR-генотипирования. На основе полученных данных установлена зависимость динамики клинико-лабораторных показателей от генотипа МБТ у больных в процессе лечения.

Ключевые слова: Mycobacterium tuberculosis, химиорезистентный туберкулез легких, VNTR-генотипирование, интенсивная фаза лечения, прогнозирование.

Сегодня туберкулез (ТБ) является актуальной медико-социальной проблемой во всех странах. Согласно статистике ежегодно во мире ТБ заболевают 7–10 млн, а умирают 2 млн человек [1]. Все большее значение приобретает устойчивость *Mycobacterium tuberculosis* (МБТ) к противотуберкулезным препаратам, что приводит к снижению эффективности лечения больных и распространению химиорезистентного туберкулеза (ХРТБ) [2–4]. По результатам первого национального эпидемиологического исследования по ХРТБ в Украине, показатель мультирезистентного туберкулеза среди больных, которым впервые в жизни был установлен диагноз ТБ, составляет 24,3%, среди пациентов с повторными случаями ТБ — 58,2%, что вдвое выше. Удельный вес случаев ТБ с расширенной резистентностью составляет 13,9% от общего количества больных ХРТБ [5].

В ухудшении эпидемической ситуации по ТБ важную роль играют факторы изменения современных социально-экономических и экологических условий, снижения иммунологической реактивности человеческого организма, а также изменения самого возбудителя заболевания [1, 6].

С развитием молекулярной генетики стало возможным проводить генетическое типирование МБТ, что позволяет различать штаммы возбудителя и выяснять их роль в дальнейшем течении заболевания [7, 8].

В настоящее время уже доказано, что высокая степень геномного полиморфизма МБТ обусловлена широким спектром особых генетических элементов — повторяющихся последовательностей нуклеотидов в составе хромосомной ДНК. Это стало основой для разработки методов геномной дактилоскопии (фингерпринтинга), позволяющих дифференцировать генотипы на основе различий их нуклеотидной последовательности [6, 9].

Базовым в генетическом картировании является метод вариабельного числа tandemных повторов

(VNTR), найденных у значительного количества локусов генома МБТ [10]. Данный метод позволяет достаточно эффективно дифференцировать различные виды и генотипы микобактерий, при этом он менее трудоемкий, чем другие. VNTR широко используется во всем мире для решения эпидемиологических задач во фтизиатрической службе [11].

Ранее считалось, что организм, инфицированный МБТ, относительно устойчив к заражению его новыми генотипами, а главной причиной заболевания пациента является эндогенная реактивация. Известно, что в странах с высоким уровнем заболеваемости основная причина ТБ — экзогенная реинфекция [12]. До сих пор остается открытым вопрос: вытесняет ли в случае заболевания вторичный генотип своего предшественника полностью или же возможно одновременное сосуществование в организме больного ТБ разных генотипов МБТ? Ответ на него может способствовать лучшему пониманию механизмов взаимодействия микобактерий с иммунной системой больного, а также эволюционной изменчивости генотипов МБТ в пределах одного организма. Для клиники это может иметь практическое значение при определении лекарственной устойчивости МБТ [13].

Учитывая недостаточность данных о генетической структуре МБТ в Украине, отсутствие четких представлений об изменениях генотипов МБТ в условиях стационарного лечения и особенности клинико-рентгенологической динамики ХРТБ легких, проведение этого исследования является актуальным.

Его цель — разработка методов прогнозирования клинического течения ХРТБ легких в зависимости от генотипов МБТ в интенсивную фазу (ИФ) лечения с помощью метода VNTR.

Работа выполнена в период с 2012 по 2015 г. на клинической базе кафедры фтизиатрии, пульмонологии и семейной медицины ХМАПО, КУЗ

«Областная туберкулезная больница № 1» (ОТБ №1) и ГУЗ «Областная туберкулезная больница № 3» (ОТБ № 3) г. Харькова. Было обследовано 145 больных ХРТБ легких с первичной резистентностью МБТ к антимикобактериальным препаратам (АМБП), подтвержденной тестом медикаментозной чувствительности (ТМЧ), которые проходили ИФ лечения в ОТБ № 1 и 3. Мужчины составляли 66,2%, женщины – 33,8%, их средний возраст – 42,5±10 лет. Диагноз ХРТБ легких устанавливался на основании данных клинико-лабораторного обследования в соответствии с приказом МЗ Украины от 04.09.2014 г. № 620 [14]. Все пациенты имели распространенный характер поражения легких, деструкцию легочной паренхимы, у большинства были поражены оба легких.

Критериями исключения из исследования были: возраст пациентов моложе 25 и старше 60 лет; отсутствие МБТ в мокроте согласно культуральному методу ее исследования на твердых питательных средах; отсутствие деструкции легочной паренхимы; ограниченные поражения легочной паренхимы (до двух сегментов); сопутствующая патология в стадии обострения: хронические obstructивные заболевания легких, бронхиальная астма, сахарный диабет, онкологические заболевания, вирусные гепатиты, язвенная болезнь желудка, профессиональные заболевания легких, наличие ВИЧ-инфекции, прием глюкокортикостероидов и цитостатиков, употребление алкоголя или наркотиков во время проведения исследования.

Больные были разделены на две группы. У 92 (63,4%) больных были обнаружены генотипы МБТ семейства Beijing, они были отнесены к I группе – Beijing. У 53 (37,5%) пациентов определены генотипы семейств LAM, Haarlem, Africanum и генотипы индивидуальных профилей, они сформировали II группу – не-Beijing.

Все больные в условиях стационара проходили детальное клинико-рентгенологическое обследова-

ние, лабораторные тесты, в случае необходимости в них использовались инструментальные методы исследования. Подробно изучались жалобы, анамнез и физикальные данные пациентов.

Лучевые методы диагностики включали флюорографию, рентгенографию, томографию, а также компьютерную томографию органов грудной полости. При необходимости рентгенограммы получали задние и прицельные, а томограммы – в боковых и задних проекциях. Рентгенологические исследования больным проводились в начале лечения и каждые четыре месяца его ИФ.

Изучение мокроты или промывных вод бронхов у всех больных осуществлялось методами прямой бактериоскопии с окраской по Цилю – Нильсену, посева на твердых питательных средах Левенштейна – Йенсена и жидких питательных средах (ВАСТЕС 960), а также выполнялось молекулярно-генетическое исследование мокроты. При выделении культуры делали ТМЧ МБТ к АМБП методом абсолютных концентраций. По показаниям мокрота исследовалась на неспецифическую флору и грибы.

Материалом для молекулярно-генетического исследования служила культура МБТ, выделенная у больных ХРТБ легких. Культуры МБТ отбирались в бактериологических лабораториях ОТБ № 1 и 3. Микобактерии выращивали на среде Левенштейна – Йенсена. VNTR-типирования проводили по пяти локусам ETR – A, B, C, D, E по методике R. Frothingham – W. A. Meeker-O’Connell на базе Института экспериментальной и клинической ветеринарной медицины (Харьков).

Статистическая обработка результатов исследования выполнялась с помощью программ Excel 2013 и STATISTICA (версия 6.0).

Особенности динамики клинического течения ХРТБ легких оценивали по динамике интоксикационного синдрома (ИС), закрытию полостей распада легочной паренхимы и прекращению микобактериовыделения в процессе ИФ лечения.

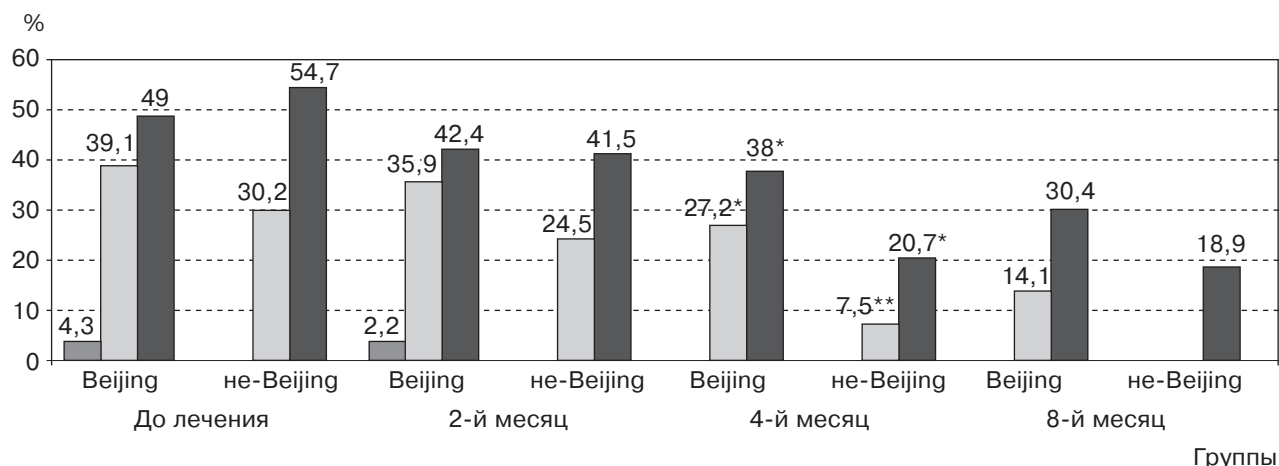


Рис. 1. Динамика интоксикационного синдрома у больных химиорезистентным туберкулезом легких в I и II группах исследования: ■ – ИС I ст., □ – ИС II ст., ▒ – ИС III ст.; достоверно при сравнении двух групп:

* $p < 0,05$; ** $p < 0,001$. То же на рис. 2, 4

Тяжесть ІС була установлена в соответствии с основным критерием – уровнем температуры тела: I степень – слабо выраженная (до 38 °С), II – умеренно выраженная (до 38,5 °С) и III – выраженная (выше 38,5 °С) [15].

В группе Beijing было 45 (49,0%) больных с ІС I степени, 36 (39,1%) – с ІС II степени и 4 (4,3%) – с ІС III степени, в группе не-Beijing соответственно 29 (54,7%) и 16 (30,2%) пациентов, а больных с ІС III степени не оказалось. После двух месяцев лечения наблюдалось уменьшение количества обследованных с ІС, но статистической разницы в группах за этот период не выявлено. На четвертом месяце лечения в I группе больных с ІС I и II степени по сравнению со II группой было больше – 38,0% против 20,7% ($p < 0,05$) и 27,2% против 7,5% соответственно ($p < 0,001$) (рис. 1)

Динамика снижения массивности микобактериовыделения устанавливалась по результатам бактериоскопического метода исследования мокроты на 1, 4 и 8-м месяцах ІФ лечения.

Прекращение микобактериовыделения методом микроскопии мокроты наблюдалось уже на 1-м месяце лечения у 2 (2,2%) больных I группы и у 4 (8,0%) – II группы ($p > 0,05$); на 4-м месяце соответственно – у 8 (9,0%) и у 12 (23,0%) ($p < 0,05$); на 8-м месяце – у 15 (16,0%) и у 18 (34,0%) ($p < 0,05$).

Количество больных со скудным и умеренным микобактериовыделением достоверно отличалось как на 4-м, так и на 8-м месяце лечения. У больных со скудным (1+) микобактериовыделением эта разница выглядела следующим образом: 4-й месяц – у 18 (19,6%) пациентов I группы и у 27 (50,9%) – II группы ($p < 0,001$); 8-й месяц – у 22 (23,9%) и 31 (58,5%) ($p < 0,001$) соответственно. В двух группах пациентов с умеренным (2+) микобактериовыделением также выявлена достоверная разница в их количестве: 4-й месяц – у 41 (44,6%) больного I группы и у 13 (24,5%) – II группы

($p < 0,05$); 8-й месяц – у 34 (37,0%) и 4 (7,5%) ($p < 0,001$) соответственно. Количество пациентов с массивным (3+) микобактериовыделением также достоверно отличалось на 4-м месяце ІФ лечения: 27,0% в I группе и 1,9% – во II группе ($p < 0,001$). Следует отметить, что на 8-м месяце лечения во II группе не было пациентов с массивным микобактериовыделением (рис. 2).

Таким образом, прекращение микобактериовыделения и динамика снижения его массивности на фоне антимикобактериальной терапии была более медленной у пациентов из группы Beijing, чем из группы не-Beijing.

Эффективность лечения по закрытию каверн и рентгенологической динамике оценивали на 4 и 8-м месяцах лечения.

Заживление полостей деструкции у пациентов I группы происходило значительно медленнее, чем во II группе, особенно наглядно это видно на 8-м месяце ІФ лечения: 13,0% и 34,0% ($p < 0,01$) соответственно. На 4-м месяце лечения больных с положительной рентгенологической динамикой в I группе было 18 (19,6%), во II – 17 (32,0%) ($p > 0,05$); на 8-м месяце – 29 (31,5%) и 33 (62,3%) соответственно ($p < 0,001$) (рис. 3).

Отрицательная рентгенологическая динамика на 4-м месяце лечения наблюдалась у 16 (17,4%) больных I группы и у 5 (9,4%) – II группы ($p > 0,05$); на 8-м месяце – у 23 (25,0%) и 8 (15,1%) ($p > 0,05$). На 4-м месяце ІФ лечения у 58 (63,0%) больных I группы и 31 (58,5%) – II группы рентгенологической динамики не наблюдалось ($p > 0,05$); на 8-м месяце – у 40 (43,5%) и 12 (22,6%) ($p < 0,05$) соответственно (таблица).

После 8-го месяца лечения у 14 (15,0%) больных ХРТБ легких I группы и у 21 (39,0%) – II группы удалось достичь конверсии посева ($p < 0,001$). У 71 (77,0%) больного группы Beijing и 30 (57,0%) – не-Beijing после ІФ лечения оно оказалось неудачным ($p < 0,05$). Количество умерших в I группе в 2 раза превосходило их показатель

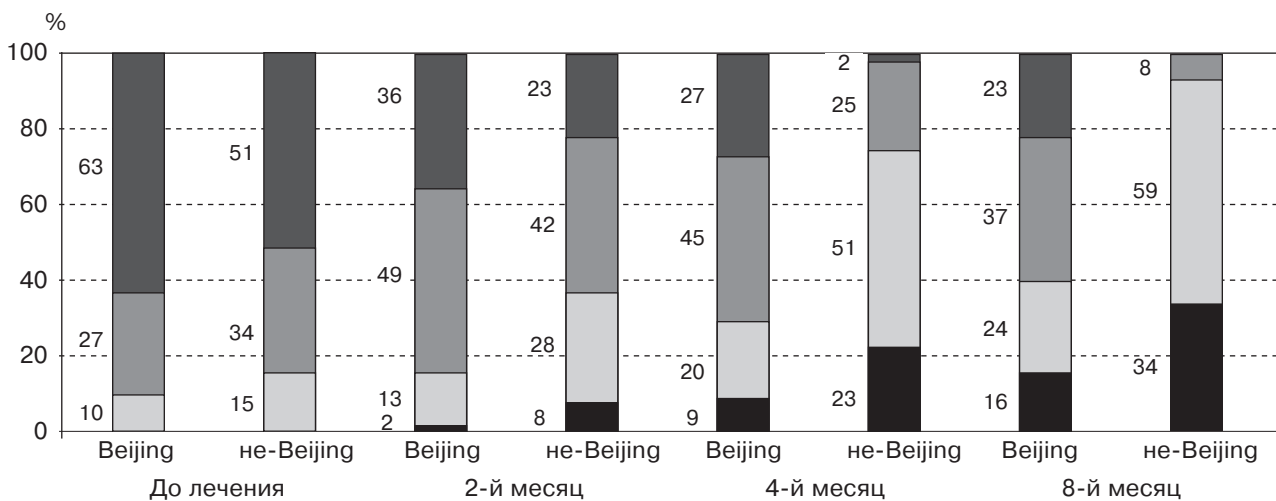


Рис. 2. Динамика прекращения или снижения массивности микобактериовыделения у больных химиорезистентным туберкулезом легких I и II групп исследования: ■ – МБТ–; □ – 1+; ▒ – 2+; ■ – 3+

Рентгенологическая динамика у больных химиорезистентным туберкулезом легких в зависимости от генотипа МБТ

Рентгенологическая динамика	Группы больных	Количество больных		Месяц лечения			
		абс. ч.	%	4-й		8-й	
				абс. ч.	%	абс. ч.	%
Положительная	Beijing	92	100,0	18	19,6%	29	31,5**
	не-Beijing	53	100,0	17	32,0	33	62,3**
	Усього	145	100,0	35	24,1	62	42,7
Отрицательная	Beijing	92	100,0	16	17,4	23	25,0
	не-Beijing	53	100,0	5	9,4	8	15,1
	Усього	145	100,0	21	14,5	31	21,4
Без динамики	Beijing	92	100,0	58	63,0	40	43,5*
	не-Beijing	53	100,0	31	58,5	12	22,6*
	Всего	145	100,0	89	61,4	52	35,9

Примечание. Отличие показателя между группами: * $p < 0,05$; ** $p < 0,001$.

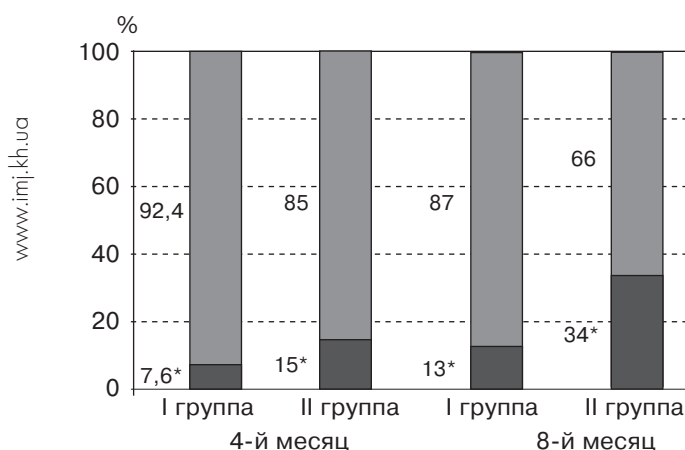


Рис. 3. Динамика заживления полостей распада легочной паренхимы у больных с химиорезистентным туберкулезом легких I и II групп исследования: ■ – дестр–; □ – дестр+; * $p < 0,01$

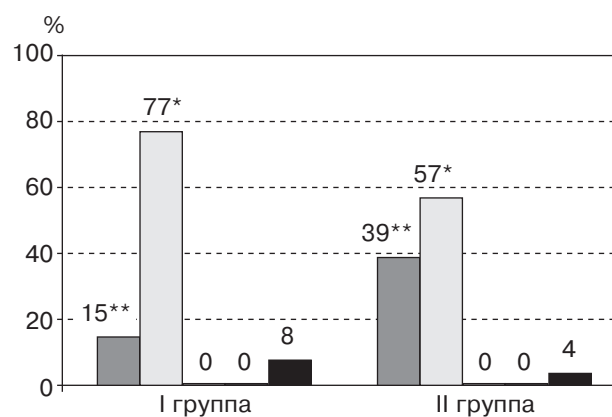


Рис. 4. Результаты лечения больных с химиорезистентным туберкулезом легких I и II групп исследования после 8-го месяца: ■ – конверсия посева; □ – неудача лечения; □ – лечение прервано; ■ – выбыл; ■ – умер

во II группе, а именно – 8,0% и 4,0% ($p < 0,05$) соответственно (рис. 4).

Таким образом, установлена зависимость динамики клинико-лабораторных показателей от генотипа МБТ у больных ХРТБ легких в процессе ИФ лечения. Среди пациентов группы Beijing конверсия посева мокроты наблюдается в 2,5 раза реже, втрое меньше случаев заживления полостей деструкции легочной паренхимы и в 3 раза больше больных с ИС, чем в группе не-Beijing.

Повышение эффективности лечебно-профилактических мероприятий и эпидемиологического надзора за ТБ нуждается в совершенствовании микробиологической диагностики и наблюдении

за популяциями МБТ на основе молекулярно-генетических методов.

Недостаточность сведений о структуре популяций на территориях, о частоте и спектре мутаций, связанных с лекарственной устойчивостью МБТ различных генотипов, наряду с отсутствием данных об их эпидемиологическом и патогенетическом значении обуславливают актуальность системных исследований генетического разнообразия возбудителя ТБ в Украине. Идентификация генотипов МБТ на этапе диагностики и в процессе ИФ лечения имеет большое значение для прогнозирования течения и эффективности лечения пациентов с ХРТБ легких.

Список літератури

1. World Health Organization. Global Tuberculosis Control report. WHO report.— Geneva, Switzerland, 2015.— 273 p.
2. Корнага С. І. Мультирезистентність мікобактерій туберкульозу у хворих з рецидивами туберкульозу легень / С. І. Корнага, І. Т. П'ятночка, Н. В. Тхорик // Інфекційні хвороби.— 2014.— № 3.— С. 87–89.
3. Туберкульоз в Україні. Аналітично-статистичний довідник за 2014–2015 рр.: довідкове вид.; голов. ред. О. К. Толстанов.— К.: [б. и.], 2016.— 97 с.
4. Фещенко Ю. І. Організація протитуберкульозної допомоги населенню. Сучасні підходи / Ю. І. Фещенко, В. М. Мельник.— К.: Здоров'я, 2012.— 655 с.
5. Мультирезистентный туберкулез и ко-инфекция ВИЧ/ТБ: особенности эпидемической ситуации в Украине и Беларуси / Л. Д. Тодорико, В. И. Петренко, С. Б. Вольф [и др.] // Туберкулез, легеневі хвороби, ВІЛ-інфекція.— 2016.— № 3 (26).— С. 10–16.
6. Савилов Е. Д. Эпидемиология туберкулеза на Евро-Азиатском континенте: оценка глобального движения штаммов генотипа «Пекин» / Е. Д. Савилов, В. В. Синьков, О. Б. Огарков.— Иркутск: РИО ГБОУ ДПО ИГМАПО, 2013.— 120 с.
7. Antonenko K. O. Mutations leading to drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* infection in Ukraine / K. O. Antonenko, V. I. Kresyun, P. B. Antonenko // Central Eur. J. of Medicine.— 2012.— Vol. 5, № 1.— P. 30–35.
8. Resistance to First-Line Anti-TB Drugs Is Associated with Reduced Nitric Oxide Susceptibility in *Mycobacterium tuberculosis* / J. Idh, M. Mckonnen, E. Abate [et al.] // PLoS One.— 2012.— Vol. 7, № 6.— P. 391–398.
9. Variable-number tandem repeats typing of *Mycobacterium tuberculosis* isolates with low copy numbers of IS6110 in Thailand / A. Thong-On, N. Smittipat, T. Juthayothin [et al.] // Tuberculosis (Edinb).— 2012.— Vol. 90, № 1.— P. 9–15.
10. Kanduma E. Molecular methods for *Mycobacterium tuberculosis* strain typing: a users guide / E. Kanduma, T. D. McHugh, S. H. Gillespie // J. Appl. Microbiol.— 2012.— Vol. 94, № 5.— P. 781–791.
11. Умпелева Т. В. Генотипирование изолятов *Mycobacterium tuberculosis* группы non-Beijing, циркулирующих в Уральском регионе / Т. В. Умпелева, А. А. Вязовая, М. А. Кравченко // Уральский медицинский журн.— 2013.— № 2.— С. 150–154.
12. Global TB Control. WHO report.— Geneva, Switzerland, 2013.— 303 p.
13. Proposal for Standardization of Optimized *Mycobacterium tuberculosis* Interspersed Repetitive Unit-Variable-Number Tandem Repeat Typing of *Mycobacterium tuberculosis* / P. Supply, C. Allix, S. Lesjean [et al.] // J. Clin. Microbiol.— 2006.— № 44.— P. 4498–4510.
14. Наказ МОЗ України від 4.09.2014 р. № 620 «Уніфікований клінічний протокол первинної, вторинної (спеціалізованої) та третинної (високоспеціалізованої) медичної допомоги дорослим. Туберкульоз».— URL: <http://www.zakon5.rada.gov.ua/rada/show/v0620282-14>
15. Потейко П. И. Клинико-лабораторная характеристика интоксикационного синдрома у больных туберкулезом легких и эффективность детоксикационной терапии: дис. на соискание ученой степени канд. мед. наук / П. И. Потейко.— М., 1991.— 239 с.

ПРОГНОЗУВАННЯ ТЯЖКОСТІ ПЕРЕБІГУ ХІМІОРЕЗИСТЕНТНОГО ТУБЕРКУЛЬОЗУ ЛЕГЕНЬ ЗАЛЕЖНО ВІД ГЕНОТИПІВ МБТ

А. В. РОГОЖИН

Подано результати дослідження прогнозування клінічного перебігу хіміорезистентного туберкульозу легень залежно від генотипів *Mycobacterium tuberculosis* (МБТ) протягом інтенсивної фази лікування за допомогою методу VNTR-генотипування. На основі отриманих даних встановлено залежність динаміки клініко-лабораторних показників від генотипу МБТ у хворих у процесі лікування.

Ключові слова: *Mycobacterium tuberculosis*, хіміорезистентний туберкульоз легень, VNTR-генотипування, інтенсивна фаза лікування, прогнозування.

PREDICTION OF CHEMORESISTANT PULMONARY TUBERCULOSIS SEVERITY DEPENDING ON MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS GENOTYPES

A. V. ROHOZHYN

The article presents the results of predicting the clinical course of chemoresistant pulmonary tuberculosis depending on *Mycobacterium Tuberculosis* (MTB) genotypes during the intensive phase of treatment using VNTR-genotyping. The obtained results showed the dependence of the clinico-laboratory indicators dynamics on MTB genotype in patients during the treatment.

Key words: *Mycobacterium tuberculosis*, chemoresistant pulmonary tuberculosis, VNTR-genotyping, intensive phase of treatment, prediction.

Поступила 29.03.2018