



УДК 579.873.21:579.253.2

## Лекарственная устойчивость различных генотипов *Mycobacterium tuberculosis* у больных туберкулёзом в Иркутской области

А. А. Лац<sup>1</sup>, С. Н. Жданова<sup>1</sup>, О. Б. Огарков<sup>1</sup>, С. И. Алексеева<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека СО РАМН, Иркутск

<sup>2</sup>Областной противотуберкулёзный диспансер, Иркутск

**Аннотация.** Среди 140 штаммов *M. tuberculosis* (МБТ), полученных от больных лёгочным туберкулёзом в Иркутской области, проведён поиск взаимосвязей между генотипом МБТ, клиническим течением болезни и антибиотикоустойчивостью штамма. По итогам генотипирования методом MIRU-VNTR и определения делеционного полиморфизма по 207-му региону в геноме микобактерий идентифицированы 88 % изолятов, значительная доля которых отнесена к эпидемически значимому семейству Beijing и ассоциирована с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ). Среди штаммов этого семейства выявлены 11 субтипов, две трети из них составляют наиболее распространённые субпопуляции M2 и M11. Среди Beijing-штаммов отмечен более высокий уровень первичной лекарственной устойчивости, чем среди представителей других генетических семейств.

**Ключевые слова:** микобактерии туберкулёза, генотипы, множественная лекарственная устойчивость, клиническое течение болезни.

### Введение

Иркутская область относится к регионам с неблагоприятной обстановкой по уровню распространённости туберкулёза – согласно данным Роспотребнадзора, болен каждый 300-й житель Приангарья [2]. Росту заболеваемости в определённой степени способствуют снижение эффективности лечения вследствие распространения штаммов микобактерии туберкулёза *M. tuberculosis* (МБТ), обладающих множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ). Так, число больных с МЛУ МБТ в России с 1999 по 2008 гг. выросло вдвое [1; 7]. Последствиями развития лекарственно устойчивых форм туберкулёза являются утяжеление инфекционного процесса, увеличение сроков госпитализации больных, усиление побочных эффектов химиотерапии [5; 6]. Также известно, что доминирующий в России генотип «Пекин» (Beijing) [7] отличается от остальных выраженными патогенными свойствами, проявляющимися в виде повышенной вирулентности, ассоциации с лекарственной устойчивостью и высокой трансмиссивности [11]. Поэтому научный и практический интерес представляет изучение взаимосвязи антибиотикорезистентности и генотипов штаммов МБТ у больных туберкулёзом с разным клиническим течением болезни, что и явилось целью настоящей работы.

### Материалы и методы

Для исследования были отобраны 140 штаммов *M. tuberculosis*, полученных от больных туберкулёзом, постоянных жителей Иркутской области, преимущественно славянской национальности, находившихся на лечении в Иркутском противотуберкулёжном диспансере. Среди когорты больных впервые выявленными являлись 105 пациентов, а 35 человек с хроническим течением болезни и рецидивами.

В ходе исследования было проведено генотипирование выборки клинических штаммов *M. tuberculosis* с использованием двух подходов: методом MIRU-VNTR [8], основанным на ПЦР-амплификации тандемных повторов 12 локусов ДНК микобактерий и путём определения делеционного полиморфизма (*large sequence polymorphisms* – *LSPs*) в геноме микобактерий. Последним методом исследованы различия по 207-му региону (RD 207), делеция в котором однозначно указывает на пекинский генотип *M. tuberculosis* [9]. Для идентификации генетических семейств использовались открытая база данных и пакет программ MIRU-VNTRplus [10]. Субтипы пекинского семейства были определены согласно предложенной Мокроусовым классификации MIRU-VNTR-профилей [11]. Для оценки антибиотикорезистентности штаммов использованы результаты

теста на лекарственную чувствительность методом абсолютных концентраций на противотуберкулёзные препараты (ППП) 1-го и 2-го ряда на плотной среде Левенштейна – Йенсена у больных с бактериовыделением по результатам посева мокроты и с помощью автоматизированной системы на бактериологическом анализаторе ВАСТЕС MGIT 960. Статистическая обработка данных проведена с использованием программы Excel из пакета MS Office 2003.

Наиболее часто встречающимися оказались субпопуляции Beijing M2 и Beijing M11: 41 (29,3 %) и 25 (17,8 %) соответственно, что отражает общую картину их распространения и роль в эпидемическом процессе в России [2; 4; 11]. Остальные члены этого генетического семейства (29 штаммов) представлены гетерогенной группой подтипов: Beijing M4 – 3 штамма (2,1 %), субтипы M7, M18 и M19 – по 2 (1,4 %), M7, M8, M11,2, M21, M33, M40, M44, M75, M87, M122 – по 1 (0,7 %) (рис. 2). Методом делеционного анализа также были обнаружены 17 (12,1 %) неклассифицированных штаммов Beijing.

**Результаты и обсуждение**

С помощью упомянутых методов генотипирования до уровня генетического семейства и субтипов нами были идентифицированы 87,1 % изолятов (рис. 1). Среди них 101 представитель семейства Beijing (72 %), 8 – Ural (5,7 %), 4 – LAM (2,9 %), 5 – X (3,6 %), 2 – Haarlem (1,4 %), а также по 1 (0,7 %) штамму из семейств Uganda I и S. К группе неклассифицированных штаммов Orphan были отнесены 18 (12,9 %) изолятов.

Антибиотикорезистентность изучена среди больных с впервые выявленным диагнозом туберкулёза и с хроническим его течением. У больных отмечено преобладание (76 %) антибиотикорезистентных форм туберкулёза над чувствительными, большая часть устойчивых штаммов выделена от впервые выявленных больных (51 %), т. е. в исследуемой нами выборке клинических изолятов велика доля возбудителей с первичной лекарственной устойчивостью (рис. 3, табл. 1). Наиболее распространёнными комбинациями при МЛУ были: изониазид + рифампицин + стрептомицин (32 %), изониазид + рифампицин + этамбутол (25 %) и изониазид + рифампицин + канамицин (12 %).

В группе штаммов наиболее часто встречающегося генотипа Beijing M2 были выявлены как устойчивые, так и чувствительные штам-

мы: в 11 случаях они сохранили чувствительность (9 из них (6,4 %) обнаружены у впервые выявленных больных), в остальных 30 имели лекарственную устойчивость. Среди моноустойчивых чаще регистрировалась устойчивость к канамицину (4,3 %), этамбутолу (2,8 %) и парааминосалициловой кислоте (2,8 %), а в единичных случаях к стрептомицину и рифампицину (0,7 %). В 10 случаях (7 %) установлена МЛУ.

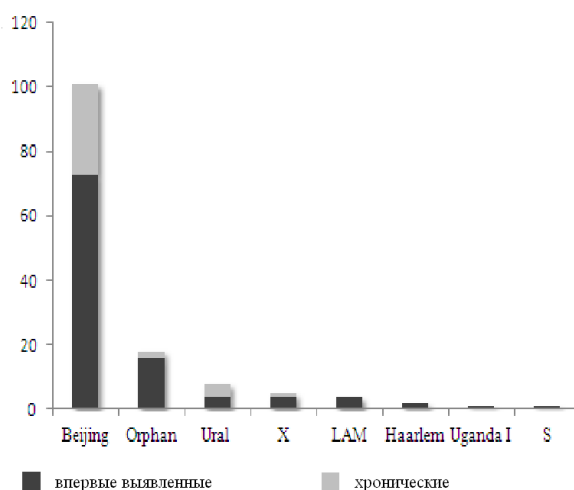


Рис. 1. Генотипы МБТ, выделенные от больных, находящихся на лечении в Иркутском противотуберкулёзном диспансере в 2010–2011 гг.

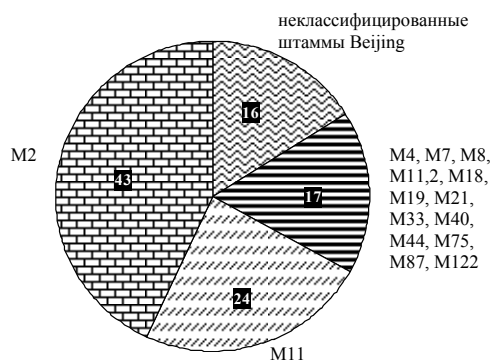


Рис. 2. Соотношение разных субпопуляций генотипа МБТ Beijing

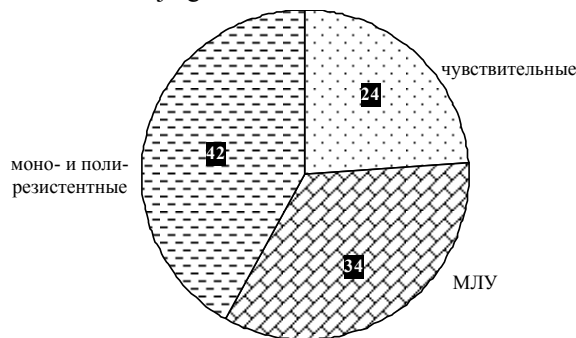


Рис. 3. Распределение чувствительности и антибиотикорезистентности МБТ

Среди второй по численности группы штаммов M11 чувствительность к антибиотикам сохранена лишь в одном случае впервые выявленного туберкулёза. Единичные штаммы обладали моноустойчивостью к изониазиду, рифампицину, парааминосалициловой кислоте (по 0,7 %). В отличие от остальных субпопуляций семейства Beijing доля хронических больных, от которых выделены штаммы с МЛУ, на треть выше, чем впервые выявленных – (6,4 % против 4,3 %).

Таблица 1

Распределение чувствительности и устойчивости к антибиотикам среди различных генотипов *M. tuberculosis*

	чувствительные	моно- и полирезистентные	МЛУ	общее количество
Beijing	20	39	42	101
non-Beijing	13	20	6	39

По результатам анализа по RD 207 к группе неклассифицированных штаммов Beijing были отнесены 17 изолятов. У пациентов с впервые выявленными случаями туберкулёза более трети штаммов (5 %) сохранили чувствительность, часть обладала МЛУ (4,3 %), у остальных (2,8 %) отмечались моно- и полирезистентность.

Для когорты малочисленных представителей подтипов M4, M7, M8, M11,2, M18, M19, M21, M33, M40, M44, M75, M87 за исключением M122 характерна ЛУ вне зависимости от клинического течения болезни, доля МЛУ-штаммов составила 7 % от общей выборки и 20 % от штаммов с МЛУ (10). Также для штаммов с полирезистентностью характерны комбинации стрептомицин + изониазид и стрептомицин + этамбутол.

В совокупности среди штаммов генотипа Beijing чувствительность сохранена в 20 случаях (14,3 %), преимущественно у впервые выявленных больных. Превалирующим оказалось число пациентов с моно/полирезистентностью и МЛУ – 39 (27,8 %) и 42 (30 %) соответственно, большую часть из них также составили впервые выявленные больные. По результатам данного исследования подтверждена важная роль семейства Beijing в распространении устойчивых форм туберкулёза, ассоциированных с МЛУ ( $\chi^2 = 4,760$ ,  $p = 0,029$ ).

В семействах Ural, LAM, X, представленным меньшим количеством, отмечается равномерное распределение штаммов по антибиотикоустойчивости.

Единичные штаммы S и Uganda I, выделенные от впервые выявленных больных, сохраняли чувствительность к антибиотикам, а представитель Haarlem имел устойчивость к изониазиду со стрептомицином.

Среди неклассифицированных штаммов Orphan шесть штаммов (4,3 %) сохранили чувствительность, у двух изолятов (1,4 %) отмечена МЛУ, остальные обладали моно- и полирезистентностью.

### Выводы

По результатам данного исследования клинические штаммы, отнесённые к превалирующему семейству Beijing (72,0 %), более часто были ассоциированы с лекарственной устойчивостью, нежели представители других генетических семейств. Эта связь была установлена как среди всей выборки больных ( $\chi^2 = 7,82$ ,  $p = 0,020$ ), так и среди впервые выявленных ( $\chi^2 = 8,24$ ,  $p = 0,016$ ). Вместе с тем внутри семейства Beijing представлены чувствительные формы, ассоциированные с группами M2 и неклассифицированными штаммами.

Выявлено разнообразие генотипов семейства Beijing. Вся когорта малочисленных представителей подтипов M4, M7, M8, M11,2, M18, M19, M21, M33, M40, M44, M75, M87 отличается полирезистентностью и множественной лекарственной устойчивостью.

Таким образом, генотипирование штаммов МБТ обеспечивает выявление эпидемически значимых семейств *M. tuberculosis*, что способствует совершенствованию мониторинга за туберкулезом путём изучения молекулярных особенностей распространения возбудителя туберкулёза.

### Литература

1. Генотипическая характеристика *M. tuberculosis* – возбудителей остро прогрессирующего деструктивного туберкулёза легких / О. В. Воронкова [и др.] // Бюл. сибирской медицины. – 2011. – № 1. – С. 12–18.
2. Пресс-релиз ко дню борьбы с туберкулезом [Электронный ресурс] // УФС по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по Иркут. обл. : сайт. – URL: <http://38.rospotrebnadzor.ru/press/release/54902>
3. Применение делеционного анализа по RD 105 для выявления генотипа Пекин *Mycobacterium tuberculosis* / С. Н. Жданова [и др.] // Бюл. ВСНЦ СО РАМН. – 2011. – № 2 (78). – С. 194–197.
4. Савилов Е. Д. Пекинский генотип *M. tuberculosis* / В. В. Синьков, О. Б. Огарков // Эпидемиология и инфекционные болезни. – 2010. – № 4. – С. 50–53.

5. Современные тенденции эпидемиологической ситуации по туберкулёзу в России / Т. П. Филиппова [и др.] // Сиб. медиц. журн. – 2009. – № 7. – С. 13–16.

6. Характеристика множественной лекарственной устойчивости к противотуберкулёзным препаратам в Республике Беларусь / Е. М. Скрыгина [и др.] // Междунар. Евро-Азиатский конгресс по инфекционным болезням. – Витебск, 2008. – Т. 1. – С. 28–29.

7. Шилова М. В. Туберкулёз в России в 2008 году / М. В. Шилова. – М., 2009. – 144 с.

8. Automated high-throughput genotyping for study of global epidemiology of Mycobacterium tuberculosis based on mycobacterial interspersed repetitive

units / P. Supply [et al.] // J. Clin. Microbiol. – 2001. – Vol. 39, N 10. – P. 3563–3571.

9. Major *Mycobacterium tuberculosis* Lineages Associate with Patient Country of Origin / B. Reed Michael [et al.] // J. Clin. Microbiol. – 2009. – Vol. 47, N 7. – P. 1119–1128.

10. MIRU-VNTRplus a web tool for polyphasic genotyping of Mycobacterium tuberculosis complex bacteria / T. Weniger [et al.] // Nucleic Acids Res. – 2010. – Vol. 38, Suppl. – P. 326–331.

11. Mycobacterium tuberculosis Beijing Genotype in Russia: in Search of Informative Variable-Number Tandem-Repeat Loci / I. Mokrousov [et al.] // J. Clin. Microbiol. – 2008. – Vol. 46, N 11. – P. 3576–3584.

## Multidrug resistance of different genetic families of *M. tuberculosis* in patients with tuberculosis of the Irkutsk region (Eastern Siberia)

A. A. Lats<sup>1</sup>, S. N. Zhdanova<sup>1</sup>, O. B. Ogarkov<sup>1</sup>, S. I. Alekseeva<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Scientific Centre of the Family Health and Human Reproduction Problems SB RAMS, Irkutsk

<sup>2</sup>Regional antitubercular dispensary, Irkutsk

**Abstract.** We investigated 140 strains of *M. tuberculosis*, isolated from patients with pulmonary tuberculosis in the Irkutsk region. The association of mycobacterial genotype, the clinical course of disease and antibiotic resistance of strains were studied. As a result of MIRU-VNTR-analysis, based on PCR amplification of tandem repeats of 12 mycobacteria DNA loci and by identifying the deletion polymorphism in the genome of Mycobacterium (large sequence polymorphisms - LSPs) in 207 region 88 % of the isolates were identified, a significant proportion of which is classified as epidemiologically significant Beijing family and is associated with multidrug resistance (MDR). 11 subtypes of this family were founded; two thirds of founded subtypes were common M2 and M11 strains of Beijing genotype. The primary drug resistance patterns varied significantly between Beijing and non-Beijing strains. High level of drug resistance was revealed among Beijing strains.

**Keywords:** tuberculosis mycobacteria, genotypes, multi-drug-resistant, the clinical course of disease

Лац Анна Александровна  
Институт эпидемиологии и микробиологии  
НЦ ПЗСРЧ СО РАМН

664025, г. Иркутск, ул. Карла Маркса, 3  
младший научный сотрудник  
тел. (3952)33–34–25  
E-mail: hh0413@yandex.ru

Жданова Светлана Николаевна  
Институт эпидемиологии и микробиологии  
НЦ ПЗСРЧ СО РАМН  
664025, г. Иркутск, ул. Карла Маркса, 3  
кандидат медицинских наук,  
старший научный сотрудник  
тел. (3952)33–34–25  
E-mail: svetnii@mail.ru

Огарков Олег Борисович  
Институт эпидемиологии и микробиологии  
НЦ ПЗСРЧ СО РАМН

664025, г. Иркутск, ул. Карла Маркса, 3  
кандидат медицинских наук, заведующий

Lats Anna Aleksandrovna  
Institute of Epidemiology and Microbiology,  
Scientific Centre of Family Health and Human  
Reproduction Problems SB RAMS  
3 K. Marx St., Irkutsk, 664025  
junior research scientist,  
phone: (3952)33–34–25  
E-mail: hh0413@yandex.ru

Zdanova Svetlana Nikolaevna  
Institute of Epidemiology and Microbiology,  
Scientific Centre of Family Health and Human  
Reproduction Problems SB RAMS  
3 K. Marx St., Irkutsk, 664025  
Ph. D. in Medicine, senior research scientist,  
phone: (3952)33–34–25  
E-mail: svetnii@mail.ru

Ogarkov Oleg Borisovich  
Institute of Epidemiology and Microbiology,  
Scientific Centre of Family Health and Human  
Reproduction Problems SB RAMS  
3 K. Marx St., Irkutsk, 664025  
Ph. D. in Medicine, Head of laboratory

лабораторией эпидемиологически  
и социально-значимых инфекций  
тел. (3952)33-34-25  
E-mail: obogarkov@yandex.ru

phone: (3952)33-34-25  
E-mail: obogarkov@yandex.ru

Алексеева Светлана Ивановна  
Иркутский областной противотуберкулёзный  
диспансер  
664047, г. Иркутск, ул. Терешковой, 59  
врач-фтизиатр  
тел. (3952)38-72-61  
E-mail: SIA372@yandex.ru

Alexeeva Svetlana Ivanovna  
Irkutsk regional antitubercular dispensary  
59 Tereshkova St., Irkutsk, 664047  
tuberculotherapist  
phone: (3952)38-72-61  
E-mail: SIA372@yandex.ru