

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА И ЛЕКАРСТВЕННАЯ УСТОЙЧИВОСТЬ ПОПУЛЯЦИИ *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* В ГРАЖДАНСКОМ СЕКТОРЕ КЫРГЫЗСКОЙ РЕСПУБЛИКИ

¹Ж. Т. ИСАКОВА, ²И. В. МОКРОУСОВ, ³Н. РАСТОГИ, ⁴А. А. АЛДАШЕВ

GENETIC STRUCTURE AND DRUG RESISTANCE OF *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* POPULATION IN THE CIVIL SECTOR OF THE KYRGYZ REPUBLIC

¹JH. T. ISAKOVA, ²I. V. MOKROUSOV, ³N. RASTOGI, ⁴A. A. ALDASHEV

¹Институт молекулярной биологии и медицины, г. Бишкек, Кыргызская Республика

²НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера, г. Санкт-Петербург

³Институт Пастера Гваделупы, Франция

Провели анализ генетической структуры лекарственно-устойчивых и чувствительных микобактерий туберкулеза (МБТ), циркулирующих в гражданском секторе Кыргызской Республики. Исследовано 103 образца ДНК МБТ, выделенных из мокроты больных с впервые выявленным туберкулезом легких. Генотипирование МБТ проводили с помощью метода сполитипирования, лекарственную устойчивость к рифампицину и изониазиду определяли с использованием набора ТБ-Биочип. Популяция МБТ, циркулирующая в Кыргызской Республике, характеризуется преобладанием штаммов семейства Beijing (59,2%). Остальные штаммы представляли семейства: T ($n = 14$), LAM ($n = 9$), Ural-1 ($n = 3$), Ural-2 ($n = 6$) и другие ($n = 9$). Наличие множественной лекарственной устойчивости статистически значимо ($p = 0,03$) чаще выявляли у штаммов генетического семейства Beijing, чем у штаммов других генотипов. Таким образом, циркуляция ассоциированных с лекарственной устойчивостью штаммов МБТ Beijing является основным фактором, осложняющим текущую ситуацию с туберкулезом в Кыргызской Республике.

Ключевые слова: молекулярная эпидемиология, *M. tuberculosis*, множественная лекарственная устойчивость, Кыргызстан.

The genetic structure of drug-resistant and drug-susceptible *Mycobacterium tuberculosis* (MBT) circulating in the civil sector of the Kyrgyz Republic was analyzed. One hundred and three MBT DNA samples isolated from the expectoration of patients with new-onset pulmonary tuberculosis were examined. MBT was genotyped by the spoligotyping method; its resistance to rifampicin and isoniazid was determined using a TB-Biochip kit. The TB population circulating in the Kyrgyz Republic was characterized by a predominance of Beijing family strains (59.2%). The other strains represented the following families: T ($n = 14$), LAM ($n = 9$), Ural-1 ($n = 3$), Ural-2 ($n = 6$), and others ($n = 9$). Multidrug-resistant strains were statistically significantly more frequently found in the genetic Beijing family than in other genotypes ($p = 0.03$). Thus, the circulation of drug-resistant Beijing MBT strains is a major factor that complicates the current tuberculosis situation in the Kyrgyz Republic.

Key words: molecular epidemiology, *M. tuberculosis*, multidrug resistance, Kyrgyzstan.

Ситуация по туберкулезу в Кыргызстане остается напряженной, в основном по причине отсутствия действенной помощи больным с трудно-излечимой формой туберкулеза – туберкулезом с множественной лекарственной устойчивостью возбудителя (МЛУ ТБ). По данным Национальной референс-лаборатории Национального центра фтизиатрии, выявление мультирезистентных штаммов микобактерий туберкулеза (МБТ) с первичной лекарственной устойчивостью с 1997 по 2010 г. возросло с 8,8 до 25,8%, а с приобретенной лекарственной устойчивостью – с 30,9 до 57% [4]. Таким образом, Кыргызстан входит в число первых девяти стран в мире с показателями МЛУ ТБ, превышающими 12% среди впервые выявленных больных туберкулезом, и первых шести стран с показателями, превышающими 50% среди ранее леченных больных туберкулезом, расположенных в Европейском регионе ВОЗ [10].

Цель исследования – изучение структуры популяции и распределения генетических детерминант лекарственной устойчивости среди генотипов штаммов МБТ, циркулирующих в гражданском секторе Кыргызской Республики.

Материалы и методы

Исследованы 103 образца ДНК МБТ, выделенных из мокроты больных с впервые выявленным туберкулезом легких, поступивших на стационарное лечение в Национальный центр фтизиатрии г. Бишкека. Все пациенты не имели ВИЧ-инфекции и являлись бактериовыделителями (по результатам метода микроскопии мазка мокроты). Штаммы с МЛУ (устойчивые к рифампицину и изониазиду) обнаружены с помощью метода биочипов на основе определения мутаций в генах *rpoB*, *katG*, *inhA*, *ahpC* (набор «ТБ-Биочип», ИМБ-Биочип, Москва).

с международной базой данных SITVIT [7] и другими предложенными алгоритмами определения генетических семейств *M. tuberculosis* [8, 16] позволило отнести большинство штаммов к известным типам и семействам (табл. 1). Большинство [62 (59, 22%) из 103] исследованных штаммов имели классический сполготип SIT1, принадлежащий к генетическому семейству Beijing. Остальные образцы представляли генетические семейства T ($n = 14$), LAM ($n = 9$), Ural-1 ($n = 3$), Ural-2 ($n = 6$), другие ($n = 9$). Принадлежность к конкретному генетическому семейству не установлена у 3 изолятов.

Генотип Beijing преобладал во всех регионах страны (рис.), при этом в отдельных регионах его частота доходила до 80% (табл. 2).

Полагают, что первоначальным местом происхождения МБТ генотипа Beijing считается Китай, а именно северо-восточный Китай, где доля этого генотипа устойчиво составляет 90% [12, 15, 18]. Кыргызская Республика, наряду с давними историческими культурно-хозяйственными связями с другими регионами Центральной Азии, также входила в состав Российской империи и Советского Союза в 1876-1991 гг. [1]. Все эти территории характеризуются преобладанием генотипа Beijing [5, 6, 14, 15], и выявление большого количества штаммов Beijing в гражданском секторе (59,6% – данное исследование) и в пенитенциарной системе (75%) [2, 17] в Кыргызстане не является неожиданным.

Отличительными биологическими свойствами штаммов Beijing в странах бывшего СССР

являются их высокая трансмиссивность, вирулентность и ассоциация с МЛУ. При сравнении различных спектров лекарственной устойчивости среди выявленных сполготипов МБТ с МЛУ статистически значимо чаще встречались среди штаммов с генотипом Beijing [17 (22,6%) из 61] по сравнению со штаммами других генотипов [3 из 41 (7,3%)] (табл. 3).

В гене *rpoB*, обуславливающем устойчивость к рифампицину, мутации были обнаружены в 531 (Ser531→Leu) и в 526 кодонах, а в гене *katG*, обуславливающем изониазид-резистентность, мутации выявили в кодоне 315 (Ser→Thr). В 14 образцах из 62 с генотипом Beijing и в 3 образцах из 41 с другим генотипом мутации обнаружили одновременно в *katG/inhA* и *rpoB*, что позволило определить их как мультирезистентные. Штаммы с МЛУ достоверно чаще выявлялись среди МБТ с генотипом Beijing ($p < 0,05$). Это согласуется с результатами нашего предыдущего исследования мутаций в генах *rpoB* и *katG* [3]. Все обнаруженные в данном исследовании мутации в генах *rpoB*, *katG* и *inhA* были также выявлены у штаммов Beijing больных туберкулезом пенитенциарной системы. Показано, что встречаемость Beijing штаммов МБТ среди заключенных в Кыргызстане составляет 75% [2, 17]. В Кыргызстане больные туберкулезом с МЛУ МБТ ежегодно освобождаются из мест лишения свободы, однако большинство из них вовремя или вовсе не встают на диспансерный учет. Эти лица представляют собой постоянный источник туберкулезной инфекции с МЛУ.

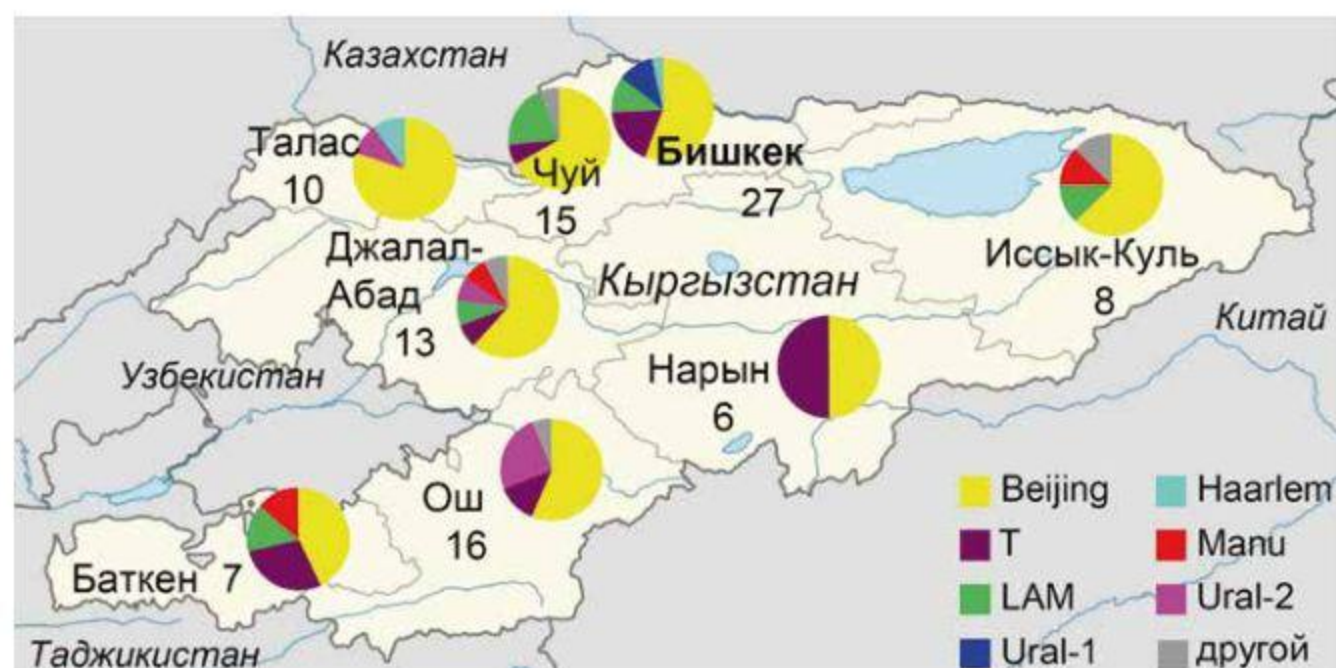


Рис. Частота встречаемости генетических семейств *M. tuberculosis* в восьми областях Кыргызской Республики. Жирным шрифтом выделена столица (г. Бишкек)

Таблица 2

Распределение генотипов *M. tuberculosis* в регионах Кыргызской Республики

Регионы Кыргызстана	Beijing	T	LAM	Ural	Haarlem	Manu2	Другие	Всего*	HGI**
Бишкек	15	5	3	3 (Ural-1)	1	-	-	27	0.69
Чуй	10	1	3	-	-	-	1	15	0.66
Ош	9	2	-	4 (Ural-2)	-	-	1	16	0.65
Джалал-Абад	8	1	1	1 (Ural-2)	-	1	1	13	0.54
Талас	8	-	-	1 (Ural-2)	1	-	-	10	0.20
Иссык-Куль	5	-	1	-	-	1	1	8	0.64
Нарын	3	3	-	-	-	-	-	6	0.80
Баткен	3	2	1	-	-	1	-	7	0.86
Всего	61	14	9	9	2	3	4	102	0.65

Примечание: * HGI – индекс Хантера-Гастона; ** – по одному изоляту отсутствовала информация о регионе происхождения.

Таблица 3

Спектр лекарственной устойчивости микобактерий туберкулеза различных генотипов

Генотип	Гены и аллели						МЛУ	Чувствительный
	rpoB			katG		inhA-15		
	wt	531	526	wt	m			
Beijing (n = 62)	45	13	4	45	17	2 (1*)	14	31
«Не Beijing» (n = 41)	38	1	2	33	8	4 (2*)	3	31
T (n = 14)	13	-	1	11	3	-	1	11
LAM (n = 9)	7	1	1	7	2	2 (1*)	2	6
Ural-1 (n = 3)	3	-	-	1	2	1 (1*)	-	1
Ural-2 (n = 6)	6	-	-	5	1	-	-	5
Другие (n = 9)	-	-	-	9	-	1	-	8
Всего (n = 103)	83	14	6	78	25	6	17	61

Примечание: wt – «дикий» аллель, m – мутация, * – одновременное наличие мутации в katG315 и inhA-15.

Заключение

Таким образом, циркуляция ассоциированных с лекарственной устойчивостью штаммов МБТ Beijing является фактором, определяющим сложную ситуацию с туберкулезом в Кыргызской Республике и неэффективность противотуберкулезной помощи больным, выделяющим МБТ с МЛУ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бартольд В. В. Избранные произведения по истории кыргызов и Кыргызстана: Составление, доп. коммент. и предисловие О. Караева. Вопросы этнической истории кыргызского народа / Отв. ред. О. Караев, И. Молдобаев. – Фрунзе, 1989.
2. Исакова Ж. Т., Мокроусов И. В., Вылчева В. и др. Генотипирование штаммов *M. tuberculosis*, циркулирующих в местах лишения свободы Кыргызской Республики // Туб. – 2010. – № 9. – С. 39-44.
3. Исакова Ж. Т., Совхозова Н. А., Гончарова З. К. и др. Молекулярно-генетическая характеристика *M. tuberculosis* с множественной лекарственной устойчивостью, выделенные у больных

туберкулезом гражданского сектора и пенитенциарной системы Кыргызской Республики // Респир. мед. – 2009. – № 1. – С. 87-91.

4. Концепция развития противотуберкулезной службы Кыргызской Республики на 2008-2016 гг. Министерства здравоохранения Кыргызской Республики. doc.aids.gov.kg/library/concept_th_2008-2010_ru.doc

5. Черноусова Л. Н., Васильева И. А., Исаева Т. Х. Особенности течения впервые выявленного туберкулеза легких в зависимости от генотипа *M. tuberculosis* // Инф. болезни. – 2011. – № 2. – С. 68-72.

6. Cox H. S., Kubica T., Doshetov D. et al. The Beijing genotype and drug resistant tuberculosis in the Aral Sea region of Central Asia // Respir. Res. – 2005. – Vol. 6. – P. 134.

7. Demay C., Liens B., Burguière T. et al. SITVITWEB – a publicly available international multimarker database for studying *Mycobacterium tuberculosis* genetic diversity and molecular epidemiology // Infect. Genet. Evol. – 2012. – Vol. 12. – P. 755-766.

8. Dubiley S., Kirillov E., Ignatova A. et al. Molecular characteristics of the *Mycobacterium tuberculosis* LAM-RUS family prevalent in Central Russia // J. Clin. Microbiol. – 2007. – Vol. 45. – P. 4036-4038.

9. Gilman J., Myatt M. EpiCalc 2000, version 102. London, UK: Brixton Books; 1998.
10. Global tuberculosis control: WHO report 2011. www.who.int/tb
11. Hunter P., Gaston M. Numerical index of the discriminatory ability of typing systems: an application of Simpson's index of diversity // J. Clin. Microbiol. – 1988. – Vol. 26. – P. 2465-2466.
12. Jiao W. W., Mokrousov I., Sun G. Z. et al. Molecular characteristics of rifampin and isoniazid resistant *Mycobacterium tuberculosis* strains from Beijing, China // Chin. Med. J. – 2007. – Vol. 120. – P. 814-819.
13. Kamerbeek J., Schouls L., Kolk A. et al. Rapid detection and simultaneous strain differentiation of *Mycobacterium tuberculosis* for diagnosis and tuberculosis control // J. Clin. Microbiol. – 1997. – Vol. 35. – P. 907-914.
14. Kubica T., Agzamova R., Wright A. et al. The Beijing genotype is a major cause of drug-resistant tuberculosis in Kazakhstan // Int. J. Tuberc Lung Dis. – 2005. – Vol. 9. – P. 646-653.
15. Mokrousov I. Human migratory history: Through the looking-glass of genetic geography of *Mycobacterium tuberculosis* // In: Causes and Consequences of Human Migration (Eds. M.H. Crawford and B. Campbell). Cambridge University Press, – 2012. – P. 317-341.
16. Mokrousov I. The quiet and controversial: Ural family of *Mycobacterium tuberculosis* // Infect. Genet. Evol. 2012. – Vol. 12. – P. 619-629.
17. Mokrousov I., Valcheva V., Sovhazova N. et al. Penitentiary population of *Mycobacterium tuberculosis* in Kyrgyzstan: exceptionally high prevalence of the Beijing genotype and its Russia-specific subtype // Infect. Genet. Evol. – 2009. – Vol. 9. – P. 1400-1405.
18. van Soolingen D., L. Qian, P. E. W. de Haas et al. Predominance of a single genotype of *M. tuberculosis* in countries of East Asia // J. Clin. Microbiol. – 1995. – Vol. 33 – P. 3234-3238.

ДЛЯ КОРРЕСПОНДЕНЦИИ:

Исакова Жайнагуль Толоновна

Институт молекулярной биологии и медицины,
доктор медицинских наук, старший научный сотрудник.
Кыргызская Республика, г. Бишкек, ул. Тоголок Молдо, д. 3.
Тел./факс: +996-312-663856; +996-312-660387.
E-mail: jainagul@mail.ru

Поступила 29.11.2013