

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА И ЛЕКАРСТВЕННАЯ УСТОЙЧИВОСТЬ МИКОБАКТЕРИЙ ТУБЕРКУЛЕЗА У БОЛЬНЫХ ТУБЕРКУЛЕЗОМ И ВИЧ-ИНФЕКЦИЕЙ В ИРКУТСКОЙ ОБЛАСТИ

Е. Ю. ЗОРКАЛЫЦЕВА¹, О. Б. ОГАРКОВ², С. Н. ЖДАНОВА³, С. И. АЛЕКСЕЕВА³

GENETIC CHARACTERISTICS AND DRUG RESISTANCE OF MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS IN PATIENTS WITH TUBERCULOSIS AND HIV INFECTION IN THE IRKUTSK REGION

E. YU. ZORKALTSEVA¹, O. B. OGARKOV², S. N. ZHDANOVA³, S. I. ALEKSEEVA³

¹ГБОУ ДПО «Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования» МЗ РФ

²ФГБУ «Научный Центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» СО РАМН, г. Иркутск

³ГБУЗ «Иркутский областной противотуберкулезный диспансер»

Представлены результаты обследования 322 пациентов-бактериовыделителей (148 больных туберкулезом легких и ВИЧ-инфекцией и 174 больных туберкулезом легких) с помощью культуральных методов и MIRU-VNTR генотипирования по 12 локусам (WHO, 2009) с использованием открытой базы данных MIRU-VNTRplus (Weniger T. et al., 2010). Лекарственная устойчивость микобактерий туберкулеза встречается у госпитализированных больных туберкулезом и туберкулезом в сочетании с ВИЧ-инфекцией одинаково часто (76,4 и 85,1% соответственно). Устойчивость к резервным препаратам у больных туберкулезом и ВИЧ-инфекцией встречается реже, чем у больных туберкулезом. Генотип Beijing определен у 76,3% больных туберкулезом и ВИЧ-инфекцией и у 65,5% больных туберкулезом без сопутствующей патологии. Генотип Beijing MIT17 в 48,8% случаев ассоциируется с множественной лекарственной устойчивостью.

Ключевые слова: туберкулез, ВИЧ-инфекция, лекарственная устойчивость, генотип Beijing.

The paper gives the results of examination in 322 patients excreting bacteria (148 patients with pulmonary tuberculosis and HIV infection and 174 patients with pulmonary tuberculosis) by culture methods and the 12 locus MIRU-VNTR genotyping (WHO, 2009), by using the open database MIRU-VNTRplus (Weniger T. et al., 2010). Drug resistance in Mycobacterium tuberculosis is encountered in inpatients with tuberculosis and in those with tuberculosis concurrent with HIV infection equally frequently (76.4 and 85.1%, respectively). In patients with tuberculosis and HIV infection, resistance to reserve drugs is seen less frequently than in those with tuberculosis. The Beijing genotype was identified in 76.3% of patients with tuberculosis and HIV infection and in 65.5% of tuberculosis patients without comorbidity. The Beijing MIT17 genotype is associated with multidrug resistance in 48.8% of cases.

Key words: tuberculosis, HIV infection, drug resistance, Beijing genotype.

В современных эпидемических условиях туберкулез является основной причиной смерти лиц, больных ВИЧ-инфекцией. Течение ВИЧ-инфекции ускоряет наличие множественной лекарственной устойчивости (МЛУ) к противотуберкулезным препаратам [2]. При отсутствии возможности ранней диагностики и лечения туберкулеза с МЛУ возбудителя эта форма инфекции становится опасной в эпидемическом плане [1]. Установлена повышенная вероятность заражения микобактериями туберкулеза (МБТ) с определенной генетической принадлежностью у больных ВИЧ-инфекцией [7]. Следовательно, характеристика эпидемических штаммов МБТ, циркулирующих на территории региона, важна для выявления роли отдельных генотипов в передаче свойств лекарственной устойчивости. В последние годы все больше внимания привлекает генотип Пекин, который имеет определенные географические параметры распространения [5].

Цель исследования – характеристика лекарственной устойчивости МБТ, выделенных от больных туберкулезом в сочетании с ВИЧ-инфекцией, и их генетической принадлежности для совершен-

ствования подходов к этиологической диагностике и лечению туберкулеза у данной категории больных.

Материалы и методы

Обследовано 322 пациента-бактериовыделителя, из них 148 больных туберкулезом легких в сочетании с ВИЧ-инфекцией (1-я группа) и 174 больных туберкулезом легких (2-я группа).

Бактериологическое исследование проводили путем выделения чистой культуры на среде Левенштейна – Йенсена с определением чувствительности к противотуберкулезным препаратам (S, H, R, E, K, Ea) методом абсолютных концентраций и определения чувствительности к основным и резервным противотуберкулезным препаратам с использованием автоматизированной системы Bactec MGIT 960 на жидкой питательной среде Middlebrook.

Молекулярно-биологическое исследование штаммов возбудителя туберкулеза, выделенных от обследуемых пациентов, – MIRU-VNTR генотипирование по 12 локусам – проводили согласно рекомендациям Всемирной организации здра-

воохранения (WHO, 2009) Для идентификации генетических семейств использовали открытую базу данных MIRU-VNTRplus [11], затем VNTR номера международного типа были подтверждены согласно онлайн-базе данных SITVIT [6]. Статистическую обработку данных выполняли с помощью редактора электронных таблиц MS Excel 7.0 и пакета статистических программ Statistica для Windows (версия 6.0). Значимость различий между параметрами оценивали с помощью непараметрического теста – критерия χ^2 . Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$ [4].

Результаты и обсуждение

В табл. 1 представлена клиническая структура обследованных пациентов. В 1-й группе преобладали больные инфильтративным и диссеминированным туберкулезом. Клиническая структура пациентов указанной группы имеет статистически значимые отличия от больных 2-й группы за счет значительно большей доли лиц с диссеминированным туберкулезом. Пациенты с изолированным туберкулезом значительно чаще имели фиброзно-кавернозный туберкулез легких. Особенности клинической структуры госпитализированных больных с сочетанной патологией связаны с особенностью течения туберкулеза на поздних стадиях ВИЧ-инфекции. На примере Иркутской области было показано ранее, что 49,0% больных с сочетанной патологией имели 4Б стадию ВИЧ-инфекции, 40,0% – 4В стадию и только 11,0% – 3-ю стадию ВИЧ-инфекции.

Исследование спектра лекарственной устойчивости в сравниваемых группах показало, что только у 26 (14,9%) пациентов 1-й группы и у 35 (23,6%)

пациентов 2-й группы чувствительность к противотуберкулезным препаратам была сохранена. Как видно из табл. 2, среди больных 1-й группы реже встречалась устойчивость к резервным препаратам (циклосерин, капреомицин) и к изониазиду в высоких концентрациях, что указывает, вероятнее, на давность заболевания. Больные 2-й группы в ряде случаев получали не первый курс химиотерапии, и у 41,4% из них сформировался фиброзно-кавернозный туберкулез. При этом сроки лечения (и продолжительность жизни) больных туберкулезом и ВИЧ-инфекцией существенно меньше, вторичная лекарственная устойчивость к группе резервных препаратов и высокой концентрации изониазида не успевает сформироваться.

Таблица 2

Лекарственная устойчивость МБТ у больных туберкулезом и туберкулезом в сочетании с ВИЧ-инфекцией

Препарат	2-я группа n=174		1-я группа n=143		p*
	n	%	n	%	
S (стрептомицин)	113	64,9	104	70,3	p = 0,719
K (канамидин)	42	24,1	26	17,6	p = 0,303
H (изониазид 1 мг/мл)	99	56,9	99	66,9	p = 0,421
H (изониазид 10 мг/мл)	45	25,9	16	10,8	p = 0,007
R (рифампицин)	78	44,8	79	53,3	p = 0,424
Ea (этноамид)	69	39,6	85	57,4	p = 0,074
E (этambutol)	60	34,4	46	31,0	p = 0,720
Cs (циклосерин)	47	27,0	8	5,4	p = 0,0001
Cap (капреомицин)	63	36,2	19	12,8	p = 0,0001

МЛУ выявлена у 72 (48,6%) больных 1-й группы и у 71 (40,8%) – 2-й группы, однако лекарственная устойчивость к высоким концентрациям изониазида в 3 раза реже встречалась у больных 1-й группы (8,8 и 22,4% соответственно, $p = 0,007$). Это позволяет сохранять в схемах лечения изониазид в адекватных терапевтических дозировках для парентерального введения.

При рассмотрении количества противотуберкулезных препаратов, к которым сформировалась устойчивость у больных 1-й и 2-й групп прослеживается аналогичная тенденция – лекарственная устойчивость к большому перечню противотуберкулезных препаратов не успевает сформироваться у больных туберкулезом в сочетании с ВИЧ-инфекцией. При этом лекарственная устойчивость к 3 и к 5 препаратам чаще встречалась у больных туберкулезом в сочетании с ВИЧ-инфекцией, а к 8 препаратам – у больных туберкулезом.

Механизмы формирования лекарственной устойчивости у больных ВИЧ-инфекцией обсуждаются в мировой литературе. В качестве причин ее приобретения названы: синдром мальабсорбции, приводящий к плохому всасыванию противотуберкулезных препаратов, нерегулярность приема препаратов, иммуносупрессия, лечение других

Таблица 1

Клиническая структура обследованных больных

Клинические формы туберкулеза	2-я группа		1-я группа		p*
	n	%	n	%	
Инфильтративный	81	46,6	48	32,4	p = 0,112
Диссеминированный	15	8,6	63	42,6	p < 0,0001
Фиброзно-кавернозный	72	41,4	15	10,1	p < 0,0001
Милиарный	1	0,57	7	4,7	p = 0,049
Казеозная пневмония	3	1,69	2	1,4	p = 0,852
Очаговый	0	0	4	2,7	-
Туберкулез внутригрудных лимфатических узлов	0	0	4	2,7	-
Туберкулема	1	0,57	0	0	-
Туберкулез мозговых оболочек и ЦНС	1	0,57	5	3,4	p = 0,160
Всего	174	100,0	143	100,0	

Примечание: здесь и в табл. 2, 3 * – значимость определена с использованием критерия χ^2 .

инфекций, антиретровирусная терапия [8-10]. Полученные данные свидетельствуют, что у впервые выявленных больных туберкулезом и ВИЧ-инфекцией лекарственная устойчивость МБТ встречается в 2 раза чаще, чем у больных туберкулезом [3]. Вероятно, более высокая частота первичной лекарственной устойчивости в этой группе больных связана с быстрым развитием заболевания после инфицирования вследствие иммуносупрессии, а в современных условиях распространенность лекарственной устойчивости высока. У пациентов без иммуносупрессии, как правило, имеют место вторичные формы туберкулеза, при этом заражение могло произойти много лет назад, когда лекарственная устойчивость встречалась редко. Кроме того, может иметь место и суперинфекция.

С помощью молекулярно-генетических методов (MIRU-VNTR генотипирование) обследовано 59 больных туберкулезом и ВИЧ-инфекцией и 174 больных туберкулезом. Распределение генотипов представлено в табл. 3.

В 1-й и 2-й группе преобладал генотип Beijing (Пекин), однако среди больных сочетанной патологией частота его выше ($p = 0,056$, согласно критерию χ^2). Среди субтипов Пекин наиболее часто регистрировали MIT16 и MIT17. Выяснение взаимосвязи генотипа Пекин с лекарственной устойчивостью позволило установить (табл. 4), что наиболее часто МЛУ встречается среди штаммов с генотипом Beijing MIT17.

Таблица 3

Генотипическая характеристика МБТ, выделенных от больных сравнимых групп

Генотипы	Больные туберкулезом и ВИЧ-инфекцией n = 55		Больные туберкулезом n = 178		p*
	n	%	n	%	
Beijing	45	76,3	114	65,5	0,056
В т.ч. Beijing MIT 17	15	25,4	29	16,7	
Beijing MIT 16	7	11,9	15	8,6	
LAM	6	10,2	10	5,7	0,342
Orphan	7	11,9	29	16,7	0,735
H, T, S, Uganda	1	1,7	9	5,2	0,537
Ural	0	0,0	12	6,9	-
Всего	59	100,0	174	100,0	

Таблица 4

Доля МЛУ в структуре генотипов у обследованных больных туберкулезом и туберкулезом в сочетании с ВИЧ-инфекцией

Генотип	Всего	МЛУ	Доля МЛУ	χ^2 ; p
	n	n	%	
Beijing 17	41	20	48,8	$\chi^2=10,8$ $p = 0,001$
Beijing 16	69	14	20,3	
Другие субтипы Beijing	50	16	32,0	
Другие генотипы («не пекин»)	73	15	20,5	

Заключение

Лекарственная устойчивость МБТ встречается одинаково часто у госпитализированных больных туберкулезом и туберкулезом в сочетании с ВИЧ-инфекцией. Устойчивость к резервным препаратам у больных с сочетанной патологией встречается реже, чем у больных только туберкулезом. Риск заражения штаммами МБТ с генотипом Beijing у больных туберкулезом в сочетании с ВИЧ-инфекцией выше, чем у больных туберкулезом без сопутствующей патологии. Наиболее часто МЛУ встречается среди штаммов с генотипом Beijing MIT17.

ЛИТЕРАТУРА

1. Корнилова З. Х., Лукопина И. В., Алексеева Л. П. Туберкулез в сочетании с ВИЧ-инфекцией // Туб. – 2010. – № 3. – С. 3-7.
2. Найговзина Н. Б., Филатов В. Б., Ерохин В. В. и др. Туберкулез в Российской Федерации // Эпидемиол. и инфекц. болезни. – 2009. – № 3. – С. 4-9.
3. Никифорова Ю. А. Клинико-эпидемиологические проявления туберкулеза органов дыхания у больных ВИЧ-инфекцией в условиях двух сочетанных эпидемий: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. – Иркутск, 2013.
4. Савилов Е. Д., Астафьев В. А., Жданова С. Н. и др. Эпидемиологический анализ: методы статистической обработки материала. – Новосибирск: Наука-Центр, 2011. – 156 с.
5. Савилов Е. Д., Сипыков В. В., Огарков О. Б. Пекинский генотип *M. tuberculosis* // Эпидемиол. и инфекц. болезни. – 2010. – № 4. – С. 50-53.
6. 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, № 4. – P. 755-66.
7. Gagneux S., Deriemer K., Van T. et al. Variable host-pathogen compatibility in *Mycobacterium tuberculosis* // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2006. – Vol. 103. – P. 2869-2873.
8. Gurumurthy P., Ramachandran G., Hemanth Kumar A. K. et al. Decreased bioavailability of rifampin and other antituberculosis drugs in patients with advanced human immunodeficiency virus disease // Antimicrob. Agents Chemother. – 2004. – Vol. 48. – P. 4473-4475.
9. Jenny-Avital E. R. Acquired rifampin resistance in AIDS-related TB // AIDS Clin. Care. – 2002. – Vol. 14. – P. 72-73.
10. Lutfey M., Della-Latta P., Kapur V. et al. Independent origin of monorifampin-resistant *Mycobacterium tuberculosis* in patients with AIDS // Am. J. Respir. Crit. Care Med. – 1996. – Vol. 153. – P. 837-840.
11. Weniger T., Krawczyk J., Supply P. et al. MIRU-VNTRplus: a web tool for polyphasic genotyping of *Mycobacterium tuberculosis* complex bacteria // Nucleic Acids Res. – 2010. – Vol. 38. – P. 326-331. <http://www.miru-vntrplus.org>

ДЛЯ КОРРЕСПОНДЕНЦИИ:

Зоркальцева Елена Юльевна
Иркутская государственная медицинская академия
последипломного образования,
доктор медицинских наук, заведующая кафедрой
туберкулеза.
664049, г. Иркутск, м/р Юбилейный, 100.
E-mail: zorkaltsewa@mail.ru

Поступила 03.02.2014



**«Сурфактант-БЛ» - единственный российский препарат
рекомендованный для патогенетического
лечения всех форм туберкулеза**

БИ  СУРФ

реклама



ЗАО «Компания «Интермедсервис»
г. Москва, ул. Малая Калужская, д.15, стр. 16
тел./факс: +7 (495) 544 40 44, +7 (495) 544 40 41