



## МУТАЦИИ ГЕНОВ И ЛЕКАРСТВЕННАЯ УСТОЙЧИВОСТЬ *M. TUBERCULOSIS* У ПАЦИЕНТОВ, НАХОДЯЩИХСЯ ПОД НАБЛЮДЕНИЕМ В ГОРОДЕ МОСКВЕ

М. А. КРАСНОВА, Е. М. БЕЛИЛОВСКИЙ, С. Е. БОРИСОВ, А. А. ХАХАЛИНА, Ю. Д. МИХАЙЛОВА, Е. Ю. НОСОВА

ГБУЗ «Московский городской научно-практический центр борьбы с туберкулезом Департамента здравоохранения города Москвы», Москва, РФ

Ретроспективно изучены результаты микробиологических и молекулярно-генетических исследований 685 культур микобактерий туберкулеза (МБТ), полученных от 685 взрослых больных туберкулезом, состоявших на диспансерном учете в г. Москве в 2014 г.

В исследовании определены: фенотипическая лекарственная устойчивость (ФЛУ) МБТ к рифампицину, изониазиду, фторхинолонам, канамицину, амикацину и капреомицину в группах пациентов, различающихся по истории лечения; частота ФЛУ к этим противотуберкулезным препаратам (ПТП) среди штаммов с мутациями – маркерами лекарственной устойчивости; частота различных мутаций при наличии ФЛУ возбудителя у пациентов различных групп; связь ФЛУ или наличия той или иной мутации с различными характеристиками пациентов и историей их лечения.

Статистически значимо определено, что наибольшее влияние на распространение устойчивости МБТ к ПТП оказывает история предыдущего лечения пациента: у больных, взятых на повторное лечение, не только чаще проявляется ФЛУ, но и значительно более выражено разнообразие мутаций-маркеров ФЛУ к определенному ПТП.

Результаты исследования показали, что детекция генетических мутаций МБТ, ассоциированных с ФЛУ, является надежным инструментом прогнозирования фенотипической устойчивости и должно быть использовано как основной метод отбора ПТП для формирования режима этиотропной терапии.

**Ключевые слова:** туберкулез, эпидемиология лекарственной устойчивости микобактерий туберкулеза, микробиологические исследования, молекулярно-генетические исследования

**Для цитирования:** Краснова М. А., Белиловский Е. М., Борисов С. Е., Хახалина А. А., Михайлова Ю. Д., Носова Е. Ю. Мутации генов и лекарственная устойчивость *M. tuberculosis* у пациентов, находящихся под наблюдением в городе Москве // Туберкулёз и болезни лёгких. – 2019. – Т. 97, № 12. – С. 34-44. <http://doi.org/10.21292/2075-1230-2019-97-12-34-44>

## GENE MUTATION AND DRUG RESISTANCE OF *M. TUBERCULOSIS* IN THE PATIENTS FOLLOWED UP IN THE CITY OF MOSCOW

M. A. KRASNOVA, E. M. BELILOVSKY, S. E. BORISOV, A. A. KHAKHALINA, YU. D. MIKHAYLOVA, E. YU. NOSOVA

Moscow Municipal Scientific Practical Center of Tuberculosis Control, Moscow, Russia

The article describes a retrospective study of the results of microbiological and molecular genetic tests of 685 *M. tuberculosis* cultures isolated from 685 adult tuberculosis patients registered for dispensary follow-up in Moscow in 2014.

The following was identified during the study: phenotypic drug resistance (FDR) of MTB to rifampicin, isoniazid, fluoroquinolones, kanamycin, amikacin, and capreomycin in groups of patients with different treatment history; the frequency of FDR to the above anti-tuberculosis drugs in strains with mutations being drug resistance markers; the frequency of various mutations in case of FDR of mycobacteria in the patients from different groups; the relationship of FDR or the presence of a particular mutation with various characteristics of the patients and their treatment history.

The history of previous treatment was determined as statistical significance to provide the greatest influence on the spread of drug resistant MTB: patients undergoing repeated treatment had FDR more often and also a much more pronounced variety of mutations being markers of FDR to certain anti-tuberculosis drugs.

The results of the study showed that the detection of genetic mutations in MBT associated with FDR was a reliable tool for predicting phenotypic resistance and should be used as the main method for selecting anti-tuberculosis drugs when compiling the etiotropic therapy regimen.

**Key words:** tuberculosis, epidemiology of drug resistance of tuberculous mycobacteria, microbiological tests, molecular genetic tests

**For citations:** Krasnova M.A., Belilovsky E.M., Borisov S.E., Khakhalina A.A., Mikhaylova Yu.D., Nosova E.Yu. Gene mutation and drug resistance of *M. tuberculosis* in the patients followed up in the city of Moscow. *Tuberculosis and Lung Diseases*, 2019, Vol. 97, no. 12, P. 34-44. (In Russ.) <http://doi.org/10.21292/2075-1230-2019-97-12-34-44>

Молекулярно-генетические методы определения устойчивости *M. tuberculosis* (МБТ) к противотуберкулезным препаратам (ПТП) основаны на выявлении определенных мутаций, являющихся маркерами фенотипической лекарственной устойчивости (ФЛУ) [6]. Однако известные в настоящее время мутации могут обуславливать не всю совокупность случаев лекарственной устойчивости к тому или иному ПТП, различаться по частоте среди разных групп пациентов и, наконец, отли-

чаться по т. н. «уровню создаваемой устойчивости» [1, 6, 13].

Понятие «лекарственная устойчивость» МБТ к некоторому ПТП напрямую связано с понятием «критическая концентрация» (КК), которую определяют в рамках экспертного соглашения [например, решения экспертов Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ)] по результатам референтных исследований. Критическую концентрацию ПТП устанавливают *in vitro* как наименьшую кон-

центрацию, подавляющую рост 95% фенотипически «условно чувствительных» штаммов, но одновременно не препятствующую росту 95% фенотипически «условно устойчивых» штаммов [2, 9]. Вывод о наличии или отсутствии лекарственной устойчивости МБТ к ПТП делают на основании роста возбудителя («лекарственная устойчивость») или его отсутствия («лекарственная чувствительность») на среде, содержащей данный препарат в КК.

Реально создаваемая *in vivo* концентрация ПТП зависит от значительного числа различных факторов (всасываемость препарата, индивидуальные особенности метаболизма и пр.), поэтому понятие «лекарственная устойчивость» является *договорным*, т. е. сохраняется низкая, но не нулевая вероятность клинической эффективности ПТП по отношению к штамму МБТ, *in vitro* определенному как «устойчивый» [12].

С другой стороны, можно не просто определить наличие роста МБТ в среде с КК препарата, но и найти его минимальную ингибирующую (подавляющую) концентрацию (МИК), при которой рост возбудителя будет подавлен в 99% случаев. Если значение МИК существенно выше КК, то можно говорить об устойчивости МБТ к ПТП «высокого уровня» («*high-level resistance*»). Если же МИК превышает КК незначительно, то такой случай условно называют «устойчивость низкого уровня» («*low-level resistance*») [6, 13]. В ряде исследований [3, 6] проведены оценка МИК и их сравнение с КК, установленной в нормативных документах, для штаммов МБТ с основными генными мутациями – маркерами устойчивости к ПТП. Можно предположить, что наличие у МБТ мутаций, ассоциированных с лекарственной устойчивостью низкого или высокого уровня, соответствует низкой или высокой *вероятности* ФЛУ.

С практической точки зрения важно установить, в какой степени выявляемые мутации обуславливают ФЛУ, определение которой в настоящее время является золотым стандартом при формировании режима химиотерапии [4, 6]. Следует учитывать, что на эту связь могут оказывать влияние неоднородность микобактериальной популяции и эпигенетические механизмы [14].

Для оценки *вероятности* клинически значимой ФЛУ при той или иной генной мутации МБТ необходимо обследование репрезентативной выборки пациентов из определенного региона. Доступные авторам публикации по ФЛУ и генотипической лекарственной устойчивости (ГЛУ) основаны на выборках, включающих либо ограниченное число пациентов из одного учреждения, либо ограниченное количество штаммов МБТ.

Цель исследования: определить распространенность в городе Москве различных мутаций генов *M. tuberculosis*, ассоциируемых с наличием лекарственной устойчивости, и оценить взаимосвязь между ФЛУ и ГЛУ *M. tuberculosis* к ключевым

ПТП – рифампицину (R), изониазиду (H), фторхинолонам (Fq), канамицину (Km), амикацину (Am), капреомицину (Cap).

## Материалы и методы

На базе Централизованной бактериологической лаборатории ГБУЗ «Московский городской научно-практический центр борьбы с туберкулезом Департамента здравоохранения города Москвы» ретроспективно изучены результаты микробиологических и молекулярно-генетических исследований 685 культур МБТ, полученных от 685 пациентов (18 лет и старше), состоявших на диспансерном учете у фтизиатра в 2014 г. в г. Москве и о которых в полицейском регистре городской системы мониторинга туберкулеза имелась подробная социально-демографическая и эпидемиологическая информация, а также сведения об истории лечения.

**Фенотипическое (микробиологическое) исследование лекарственной чувствительности *M. tuberculosis*** к ПТП основного (R и H) и резервного (офлоксацин, левофлоксацин, моксифлоксацин, ципрофлоксацин, Km, Am, Cap) рядов проводили с помощью автоматизированной системы ВАСТЕС™ MGIT™ 960 (Becton Dickinson, США) в жидкой питательной среде *Middlebrook 7H9*, с применением КК, рекомендованных ВОЗ в 2008 г. [9]. Устойчивость к ПТП второго ряда определяли у тех штаммов, которые были одновременно фенотипически устойчивы к H и R, или H и этамбутолу, или H и пиразинамиду.

С учетом значительной перекрестной устойчивости МБТ к Fq культуру принято считать «устойчивой к Fq» при ее устойчивости к офлоксацину [7]. Исследовали ФЛУ к четырем фторхинолонам: офлоксацину, левофлоксацину, моксифлоксацину и ципрофлоксацину у 384 пациентов. Результат исследования лекарственной чувствительности к офлоксацину в 90% случаев и более совпал с результатом для остальных фторхинолонов.

**Молекулярно-генетическое исследование** проводили с помощью тест-систем:

1. «ТБ-БИОЧИП» (ООО «БИОЧИП-ИМБ», Россия) – для выявления ДНК *M. tuberculosis complex* и определения 27 мутаций в гене *rpoB* (устойчивость к R), девяти мутаций в гене *katG*, пяти – в гене *inhA* и пяти – в межгенной области *ahpC/oxvR* (устойчивость к H).

2. «ТБ-БИОЧИП-2» (ООО «БИОЧИП-ИМБ», Россия) – для выявления ДНК *M. tuberculosis complex* и определения девяти мутаций в гене *gyrA* (устойчивость к Fq).

3. «GenoType MTBDRsl» (HainLifescience, Германия) – для выявления ДНК *M. tuberculosis complex* и определения лекарственной устойчивости к Fq по анализу шести мутаций в гене *gyrA*, а также к аминогликозидам и Cap по двум мутациям в гене *rrs*.

Среди 685 больных, включенных в исследование, постоянные жители г. Москвы составили 75,7% (517 человек), прибывшие из других субъектов Российской Федерации – 15,8% (108 человек), лица БОМЖ – 1,9% (13 человек), граждане стран ближнего зарубежья – 5,7% (39 человек) и граждане стран дальнего зарубежья – 1,2% (8 человек).

К впервые выявленным пациентам (56,8%, 389 человек) отнесены зарегистрированные в этом качестве в 2014 г., диагностический материал у которых был взят не позже одного месяца после регистрации (по извещению № 089у/туб). В число больных, взятых на повторный курс лечения, вошли как рецидивы туберкулеза (8,3%, 57 человек), так и пациенты, проходившие повторные курсы лечения в рамках I и II групп диспансерного наблюдения (ГДН): 3,5% (24 человека) после неэффективного лечения и 24,2% (166 человек) – остальные случаи повторного лечения. У 7,2% (49 человек) достоверные сведения об истории заболевания отсутствовали, результаты исследования выделенных от них МБТ в данном разделе работы не учитывали.

Взятые в исследование больные из числа постоянных жителей г. Москвы (517 человек) составили почти половину от числа состоявших на учете в 2014 г. бактериовыделителей – постоянных жителей города (1 044 человека) [5], что обеспечило репрезентативность выборки для этой группы населения. Доля взятых в исследование впервые выявленных пациентов из непостоянных жителей города составила около четверти (24,7%) от числа зарегистрированных в 2014 г. больных туберкулезом с бактериовыделением из этой группы населения (всего 473 человека, в том числе 241 житель других субъектов Российской Федерации) [5], но их абсолютное число (117 человек, из которых 69 – жители России) было достаточным, чтобы оценить закономерности распространения мутаций МБТ и среди этих групп населения. Кроме того, в исследование включено 82 непостоянных жителя столицы, ранее получавших противотуберкулезную терапию.

Среди включенных в исследование было 69,9% мужчин, медиана возраста пациентов равнялась 37,7 года с межквартильным размахом 25%-75%, равном 30,0-51,1 года (т. е. возраст в этом диапазоне имели 50% пациентов). Только треть пациентов имела постоянную работу (34,6%, 236 человек), 8,2% (56 человек) были пенсионерами, 4,3% (29 человек) – инвалидами, 3,4% (23 человека) – учащимися средних и высших учебных заведений; не имели постоянной работы 48,9% (334 человек). Ранее в заключении были 47 (8,5%) пациентов, половина из которых (23 человека) была освобождена менее года назад. Сочетание ВИЧ-инфекции и туберкулеза имелось у 10,5% больных (72 человека). В I ГДН состояли 84,5% пациентов, 15,5% (102 человека) принадлежали ко II ГДН.

При статистической обработке данных использовали параметрические и непараметрические методы,

моновариабельный и многофакторный анализ (логистическая регрессия). При этом рассматривали как общепринятый уровень достоверности 95%, так и меньшие (90 и 80%), использованные при анализе некоторых редких мутации.

## Результаты исследования

### 1. Фенотипическая лекарственная устойчивость *M. tuberculosis*

ФЛУ МБТ к ключевым ПТП выявлена с частотой от 25,7% (Саp) до 59,1% (Кm) (табл. 1). Сохранение лекарственной чувствительности МБТ к H и R имело место в целом у 44,7% (306 человек): 242 впервые выявленных (54,4% из 445 человек), 50 пациентов, взятых на повторное лечение (20,8% из 240 человек), и 14 пациентов из 49 с неустановленной историей лечения. Туберкулез с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ) МБТ диагностирован у 20,5% впервые выявленных пациентов из постоянного населения, в том числе у 14,3% – с широкой лекарственной устойчивостью (ШЛУ) МБТ. ФЛУ к R (ФРУ) не сочеталась с ФЛУ к H (ФИУ) лишь у 5 пациентов (1,8% пациентов с ФРУ МБТ). Наиболее высокой доля больных туберкулезом с лекарственной устойчивостью МБТ была среди пациентов с хроническим течением туберкулеза (II ГДУ) – более чем у 80% таких пациентов выделены МБТ с МЛУ.

### 2. Устойчивость к изониазиду

**2.1. Фенотипическая устойчивость МБТ к H (ФИУ)** выявлена в целом у 54,5% обследованных (табл. 1). У больных из постоянного населения доля МБТ с ФИУ у впервые выявленных больных (34,8%, 95%-ный ДИ 29,2-40,8%) была статистически значимо меньше ( $p < 0,01$ ), чем у пациентов, взятых на повторное лечение (77,8%, 95%-ный ДИ 71,5-83,3%). Из числа последних ФИУ МБТ чаще выявлена среди больных из контингентов противотуберкулезных учреждений (86,4%, 95%-ный ДИ 78,5-92,2%), чем у больных с рецидивами (64,9%, 95%-ный ДИ 51,1-77,1%). Наибольшая частота ФИУ МБТ отмечена у больных с хроническим течением туберкулеза (II ГДН): 92% (95%-ный ДИ 83,4-97,0%).

### 2.2. Фенотипическая устойчивость к изониазиду при различных генных мутациях МБТ (доля культур с ФИУ при различных мутациях в генах *katG*, *ihnA* и *ahpC*)

Среди исследованных 685 штаммов МБТ у 366 (53,4%) выявлены мутации в кодонах 315 и 335 гена *katG* (S315T и I335V), кодонах 8 и 15 гена *ihnA* (t8a и c15t) и кодонах 9 и 10 гена *ahpC* (g9a и c10t). Все эти мутации традиционно рассматривают как генетические маркеры ФИУ [6, 13], что подтверждено и настоящим исследованием.

При изолированной мутации в кодоне 315 гена *katG* (270 штаммов) частота ФИУ МБТ составила 98,9% (95%-ный ДИ 96,9-99,6%). Шанс обнаружения

**Таблица 1. Фенотипическая лекарственная устойчивость МБТ у пациентов, включенных в исследование (2014 г., г. Москва)****Table 1. Phenotypic drug resistance of *M. tuberculosis* in the patients enrolled into the study (2014, Moscow)**

ПТП	Пациенты, включенные в исследование							
	Все пациенты (n = 685)		из них, постоянные жители (n = 480)					
			Впервые выявленные больные (n = 273)		Пациенты, взятые на повторное лечение* (n = 207)			
	всего				из них из III ГДН (хроническое течение туберкулеза) (n = 75)			
абс.	% (95% ДИ)	абс.	% (95% ДИ)	абс.	% (95% ДИ)	абс.	% (95% ДИ)	
Изониазид	373	54,5 (50,6-58,2)	95	34,8 (29,2-40,8)	161	77,8 (71,5-83,3)	69	92,0 (83,4-97,0)
Рифампицин	280	40,9 (37,2-44,7)	58	21,3 (16,6-26,6)	138	66,7 (59,8-73,1)	64	85,3 (75,3-92,4)
МЛУ МБТ	275	40,2 (36,5-43,9)	56	20,5 (15,9-25,8)	136	65,7 (58,8-72,1)	63	84,0 (73,7-91,5)
Фторхинолоны**	144	44,6 (39,1-50,2)	13	18,1 (10,0-28,9)	95	62,1 (53,9-69,8)	53	76,8 (65,1-86,1)
Аминацин**	96	29,8 (24,9-35,2)	13	18,1 (10,0-28,9)	56	36,8 (29,2-45,0)	22	32,4 (21,5-44,8)
Нанамицин**	191	59,1 (53,5-64,5)	28	38,9 (27,6-51,1)	106	69,3 (61,3-76,5)	46	66,7 (54,3-77,6)
Напреомицин**	83	25,7 (21,1-30,9)	8	11,1 (4,9-20,7)	50	32,7 (25,3-40,7)	24	34,8 (23,7-47,2)
ШЛУ МБТ	104	15,2 (12,6-18,1)	8	2,9 (1,3-5,7)	71	34,3 (27,9-41,2)	39	52,0 (40,2-63,7)
ШЛУ МБТ среди МЛУ МБТ	104	37,8 (32,1-43,8) (n = 275)	8	14,3 (6,4-26,2) (n = 56)	71	52,2 (43,5-60,8) (n = 136)	39	61,9 (48,8-73,9) (n = 63)

**Примечание:** \* – включая рецидивы, но не включая пациентов с неуточненной историей лечения, взятых на повторный курс химиотерапии; \*\* – согласно методике исследования проводили у больных с устойчивостью МБТ к изониазиду в сочетании с рифампицином, этамбутолом или с пиразинамидом

ФИУ при наличии данной мутации крайне высок и равен 97,9 (95%-ный ДИ 29,4-325,7). ФИУ также имели все 13 штаммов МБТ с единственной мутацией в 15-м кодоне *ihnA* ( $p < 0,01$ ). Изолированные мутации 8-го кодона гена *ihnA*, 9-го или 10-го кодона гена *ahpC* были редкостью (по 1-2 штаммам). ФИУ выявлена у всех этих культур, но ее связь с наличием данных мутаций статистически недостоверна ( $p > 0,2$ ).

У 21,2%, (79 штаммов) штаммов с ФИУ имело место сочетание мутации в кодоне 315 гена *katG* и некоторых из вышеуказанных мутаций. Оценить, какая мутация сыграла определяющую роль в возникновении ФИУ МБТ в этих случаях, невозможно.

### 2.3. Генотипическая структура штаммов МБТ с ФЛУ к изониазиду (частота мутаций при наличии ФИУ у различных групп больных)

В целом та или иная мутация из числа маркеров устойчивости к И была выявлена у 96,8% культур МБТ с ФИУ (табл. 2). Наиболее распространена мутация в 315-м кодоне гена *katG*, выявленная у 92,5% из 373 штаммов МБТ с ФИУ, в том числе в 71,3% она была единственной, а в 21,2% – сочеталась с иными мутациями. Однако у 4 штаммов с данной мутацией чувствительность к И была сохранена. Значительно реже среди МБТ с ФИУ встречались мутации в 15-м кодоне гена *ihnA* – в 20,1% (95%-ный ДИ 16,2-24,6%), в том числе в 3,2% изолированно, а в остальных случаях – в со-

**Таблица 2. Доля различных мутаций генов *katG*, *ihnA* и *ahpC* и их сочетаний среди больных туберкулезом с ФИУ МБТ. Москва, 2014 г.****Table 2. The portion of different mutations of *katG*, *ihnA* and *ahpC* genes and their combination in tuberculosis patients with phenotypic drug resistance of *M. tuberculosis*. Moscow, 2014**

Группа пациентов	Всего пациентов	Мутаций не найдено	Гены, в которых выявлены мутации											
			<i>katG</i> 315								другие			
			Всего	<i>katG</i> 315, только	<i>katG</i> 315, <i>ihnA</i> 15	<i>katG</i> 315, <i>katG</i> 335	<i>katG</i> 315, <i>ihnA</i> 8	<i>katG</i> 315, <i>ahpC</i> 9	<i>katG</i> 315, <i>ahpC</i> 10	<i>katG</i> 315, <i>katG</i> 335, <i>ihnA</i> 15	<i>ihnA</i> 15	<i>ahpC</i> 10	<i>katG</i> 335	<i>ahpC</i> 9
Всего	373 100%	12 3,2	345 92,5	266 71,3	62 16,6	10 2,7%	4 1,1	1 0,3	1 0,3	1 0,3	12 3,2	2 0,5	1 0,3	1 0,3
Впервые выявленные	144 100%	9 6,3	124 86,1	103 71,5	16 11,1	4 2,8	–	–	1 0,7	–	10 6,9	1 0,7	–	–
Повторные	194 100%	1 0,5	188 96,9	141 72,7	39 20,1	3 1,5	3 1,5	1 0,5	–	1 0,5	3 1,5	–	1 0,5	1 0,5

четании с другими мутациями. Мутация в 335-м кодоне гена *katG* выявлена только у 3,0% (95%-ный ДИ 1,6-5,4%) культур, все они сочетались с мутацией в 315-м кодоне гена *katG*. Мутации в 8-м кодоне гена *ihnA*, или 9-м, или 10-м кодонах гена *ahpC* отмечены лишь в единичных случаях, причем все, кроме одной, сочетались с мутацией в 315-м кодоне гена *katG*.

Мутация в кодоне 315 гена *katG* статистически значимо чаще ( $p < 0,01$ ) встречалась у МБТ, выделенных от повторно лечившихся (96,9%, 95%-ный ДИ 93,4-98,9%), чем от впервые выявленных больных (86,1%, 95%-ный ДИ 79,4-91,3%). Другие мутации с историей лечения достоверной связи не имели. Таким образом, у повторно леченных больных в г. Москве ФИУ МБТ практически полностью определяется мутацией в 315-м кодоне *katG*. Но при этом у 24,2% таких пациентов в ДНК МБТ имеет место более одной мутации, также связанной с ФИУ, и лишь у 10,8% впервые выявленных больных ( $p < 0,01$ ).

#### 2.4. Связь ФИУ с различными характеристиками пациентов

При *моновариабельном анализе* (для каждого фактора по отдельности) достоверную связь ( $p < 0,05$ ) с ФИУ МБТ имеют: факт предыдущего лечения (ОШ = 6,2), пребывание ранее в местах лишения свободы (все 15 пациентов с таким анамнезом имели ФИУ), возраст пациента в диапазоне 45-70 лет (ОШ = 1,6).

*Многофакторный анализ* (здесь и далее – логистическая регрессия) показал, что с ФИУ МБТ связаны факт лечения в прошлом (ОШ = 5,9) и принадлежность пациента к непостоянным жителям г. Москвы (ОШ = 1,6). С 90%-ной достоверностью ФИУ связана с возрастом 45-70 лет, а с 80%-ной достоверностью – с наличием ВИЧ-инфекции и мужским полом.

#### 2.5. Связь мутаций генов *katG* и *ihnA* (маркеров ФИУ МБТ) с различными характеристиками пациентов

При помощи логистической регрессии установлено, что мутации в кодоне 315 гена *katG* и кодоне 15 гена *ihnA* имели достоверную связь с фактом предыдущего лечения (ОШ = 6,9 (95%-ный ДИ 4,5-10,5) и ОШ = 3,0 (95%-ный ДИ 1,7-5,4) соответственно). Кроме того, мутации в кодоне 315 гена *katG* были связаны с мужским полом (ОШ = 1,7; 95%-ный ДИ 1,1-2,7) и со статистической достоверностью 80% – с наличием ВИЧ-инфекции и возрастом 45-70 лет. Различий в распространении указанных мутаций у постоянных жителей и прибывших из других субъектов Российской Федерации или из других стран не выявлено.

### 3. Устойчивость к рифампицину

**3.1. ФЛУ МБТ к рифампицину (ФРУ)** выявлена у 40,9% обследованных пациентов, включая постоянных жителей, мигрирующее население и лиц БОМЖ. У впервые выявленных больных из

постоянного населения доля ФРУ МБТ равна 21,3% (95%-ный ДИ 16,6-26,6%), что статистически значимо меньше ( $p < 0,01$ ), чем у пациентов, взятых на повторное лечение (66,7%, 95%-ный ДИ 59,8-73,1%). Из числа последних ФРУ МБТ достоверно чаще отмечена у больных из контингентов противотуберкулезных учреждений (80,9%, 95%-ный ДИ 72,3-87,8%), чем у больных с рецидивами (45,6%, 95%-ный ДИ 32,4-59,3%). Наибольшая частота ФРУ МБТ отмечена у больных с хроническим течением туберкулеза (II ГДН), 85,3% (95%-ный ДИ 75,3-92,4%).

#### 3.2. Вероятность ФЛУ к рифампицину при различных генных мутациях МБТ

Среди 685 штаммов МБТ, выделенных от взятых в исследование пациентов, у 298 (43,5%) были выявлены мутации в кодонах 531, 526, 516, 511, 513 и 533 гена *rpoB* (S531L, H526R, H526N, H526D, H526L, H526P, H526Y, H516G, H516Y, H516V, L511R, L511P, N513K и L533P), традиционно рассматриваемые в качестве генетических маркеров ФРУ [6, 13].

Результаты исследования подтвердили высокую частоту ФРУ при наличии мутаций гена *rpoB*. При изолированной мутации гена *rpoB* в кодоне 531 (234 штамма) частота ФРУ МБТ составила 99,6% (95%-ный ДИ 97,6-99,9%). Шанс наличия ФРУ при данной мутации чрезвычайно высок и равен 2 347 (95%-ный ДИ 321-17 188). Почти 80% культур МБТ с мутациями в 526-м и 516-м кодонах гена *rpoB* имели ФРУ: 77,6% (95%-ный ДИ 57,7-91,4%) и 79,0% (95%-ный ДИ 54,4-93,9%) соответственно. Шанс наличия ФРУ МБТ как минимум при одной из указанных мутаций равен 6,0 (95%-ный ДИ 2,9-12,3). При изолированной мутации в кодоне 511 (культуры МБТ от 7 пациентов) отмечено только 2 случая ФРУ (28,6%, 95%-ный ДИ 3,7-71,0%), т. е. наличие ФРУ МБТ при данной мутации недостоверно ( $p > 0,2$ ). Мутации в кодонах 513, 515 и 533 были единичны, что не позволило оценить их связь с ФРУ.

#### 3.3. Генотипическая структура штаммов МБТ с ФЛУ к рифампицину

У 98,9% культур с ФРУ МБТ была выявлена та или иная мутация из традиционно рассматриваемых в качестве маркеров устойчивости к данному ПТП (табл. 3). Мутация в 531-м кодоне гена *rpoB* была наиболее распространена: она выявлена в 83,2% (95%-ный ДИ 78,3-87,4%) из 280 штаммов МБТ с ФРУ, в том числе в 82,9% она была единственной и лишь в 1 случае сочеталась с мутацией в 516-м кодоне. Значительно реже у МБТ с ФРУ встречались мутации в кодонах 526 (7,9%), 516 (7,5%) и 511 (3,2%). Шанс, что мутация имеется в 526-м или в 516-м кодоне, в 6,5 (95%-ный ДИ 2,5-19,5) и в 5,7 (95%-ный ДИ 2,3-15,4) раза выше для МБТ с ФРУ, чем для МБТ, чувствительных к R. Мутация в 511-м кодоне также чаще встречается у МБТ с ФРУ, но статистической значимости различий нет ( $p = 0,06$ ).

**Таблица 3.** Доля различных мутаций гена *rpoB* среди МБТ, выделенных от больных туберкулезом с ФРУ МБТ. Москва, 2014 г.

**Table 3.** The portion of different mutations of *rpoB* gene in MTB isolated from tuberculosis patients with FDR of *M. tuberculosis* to rifampicin. Moscow, 2014.

Группа пациентов	Всего пациентов	Мутаций не найдено	Гены, в которых выявлены мутации							
			<i>rpoB</i> 531	<i>rpoB</i> 526	<i>rpoB</i> 526, <i>rpoB</i> 511	<i>rpoB</i> 516	<i>rpoB</i> 516, <i>rpoB</i> 511	<i>rpoB</i> 516, <i>rpoB</i> 531	<i>rpoB</i> 513	<i>rpoB</i> 511
Всего	280 100%	3 1,1	232 82,9	21 7,5	1 0,4	13 4,6	7 2,5	1 0,4	1 0,4	1 0,4
Впервые выявленные	84 100%	–	79 94,0	3 3,6	–	1 1,2	1 1,2	–	–	–
Повторные	168 100%	1 0,6	131 78,0	15 8,9	1 0,6	13 7,7	4 2,4	–	1	2 1,2

У культур МБТ с ФРУ, выделенных от впервые выявленных больных, частота мутации в кодоне 531 была выше (92,9%, 95%-ный ДИ 85,3-97,4%), чем у выделенных от ранее лечившихся больных (78,0%, 95%-ный ДИ 70,9-84,0%,  $p < 0,01$ ) (табл. 3). Иные мутации гена *rpoB* существенно чаще встречались у получавших лечение повторно. Так, мутация в 516-м кодоне у МБТ с ФРУ выявлена у них в 10,1% (95%-ный ДИ 6,8-18,7%) случаев, а у впервые выявленных больных – в 3,5% (95%-ный ДИ 0,7-10,0%,  $p = 0,051$ ), мутация в 526-м кодоне – соответственно в 9,5% (95%-ный ДИ 5,5-15%) и 3,5% (95%-ный ДИ 0,7-10,0%,  $p = 0,068$ ). Таким образом, у больных туберкулезом с ФРУ МБТ, взятых на повторное лечение, наблюдается достоверно большее разнообразие мутаций гена *rpoB* МБТ, чем у впервые выявленных больных.

#### 3.4. Связь различных характеристик пациентов с ФЛУ МБТ к рифампицину

При *моновариабельном анализе* с 95%-ной достоверностью установлена связь ФРУ МБТ с наличием предыдущего лечения (ОШ = 7,6, т. е. шанс возникновения ФРУ МБТ у ранее леченных больных в 7,5 раза выше, чем у впервые выявленных пациентов), пребыванием пациента ранее в местах лишения свободы (ОШ = 10,3), возрастом пациента в диапазоне 45-70 лет (ОШ = 1,6).

*Многофакторный анализ* показал, что с ФРУ ассоциирован только факт наличия предыдущего лечения (ОШ = 8,3), очевидно потому, что с ним жестко связан и пенитенциарный анамнез, и определенная возрастная категория.

#### 3.5. Связь отдельных мутаций гена *rpoB*, являющегося маркером ФРУ МБТ, с различными характеристиками пациентов

*Многофакторный анализ* показал, что мутации в кодонах 531, 526 и 516 связаны с фактом наличия предыдущего лечения ( $p < 0,05$ ) при ОШ = 4,6 (95%-ный ДИ 3,1-2,7), 5,9 (95%-ный ДИ 1,9-18,0) и 6,1 (95%-ный ДИ 2,0-19,1) соответственно. Наличие мутации в 531-м кодоне (основной маркер ФРУ МБТ) связано также и с пребыванием ранее

в заключении (ОШ = 5,4, 95%-ный ДИ 1,1-25,0), и с тем, что пациент не является постоянным жителем г. Москвы (ОШ = 1,7, 95%-ный ДИ 1,04-2,6).

#### 4. Устойчивость к фторхинолонам

**4.1. ФЛУ к фторхинолонам** выявлена в целом у 44,6% (95%-ный ДИ 39,1-50,2%) пациентов<sup>1</sup>. У впервые выявленных больных из постоянного населения доля МБТ с ФЛУ к фторхинолонам (ФФУ) равна 18,1% (95%-ный ДИ 10,0-28,9%), что достоверно меньше ( $p < 0,01$ ), чем у пациентов, взятых на повторное лечение (62,1%, 95%-ный ДИ 53,9-69,8%). Из числа последних наибольшая частота ФФУ МБТ отмечена у хронических больных (II ГДН): 76,8% (95%-ный ДИ 65,1-86,1%) против 50,0% (95%-ный ДИ 38,9-61,1%) у остальных пациентов ( $p < 0,01$ ).

#### 4.2. Вероятность ФЛУ к фторхинолонам при различных генных мутациях МБТ

Традиционно рассматриваемые в качестве генетических маркеров ФФУ мутации 94, 90, 91, 88 и 70 гена *gyrA* (D94A 95, D94N 95, D94G 95, D94H S95T, D94Y 95, A90V, A90G, S91P, G88C, G88A, H70R) [6, 13] были выявлены у 42,1% (136 из 323) исследованных штаммов МБТ. При всех этих одиночных мутациях в гене *gyrA* ФФУ имела в 100% случаев, причем для мутаций в кодонах 94, 90 и 91 результат был статистически достоверен ( $p < 0,01$ ). Мутации в кодонах 88 и 70 были обнаружены только у 3 и у 2 пациентов соответственно.

#### 4.3. Генотипическая структура штаммов МБТ с ФЛУ к фторхинолонам

У 94,4% культур с ФФУ МБТ была выявлена хотя бы одна из пяти мутаций гена *gyrA* (табл. 4). Мутации в 94-м кодоне гена *gyrA* были наиболее распространены: они выявлены у 68,8% (95%-ный ДИ 60,5-76,2%) из 144 штаммов МБТ с ФФУ, в том числе в 142 случаях мутации определены только в 94-м кодоне гена *gyrA*, который является основным маркером ФФУ, а в двух случаях – сочеталась также с мутацией в 90-м кодоне данного гена. Значительно реже среди МБТ с ФФУ встречались мутации в 90-м кодоне гена *gyrA* (16,0%; 95%-ный

<sup>1</sup> Здесь и далее, согласно методике, фенотипическая устойчивость к фторхинолонам определялась только для штаммов, имеющих устойчивость к Н и R или пипразинамиду. Доля штаммов, устойчивых к фторхинолонам, определялась по отношению к числу этих исследований.

**Таблица 4.** Доля различных мутаций гена *gyrA* и их сочетаний среди больных с ФФУ МБТ, Москва, 2014 г.Table 4. The portion of different mutations of *gyrA* gene and their combinations in the patients with FDR of *M. tuberculosis* to fluoroquinolones, Moscow, 2014.

Группа пациентов	Всего пациентов	Мутаций не найдено	Гены, в которых выявлены мутации					
			<i>gyrA</i> 94	<i>gyrA</i> 90	<i>gyrA</i> 91	<i>gyrA</i> 88	<i>gyrA</i> 70	Сочетания
Всего	150 100%	8 5,3	99 66,0	23 15,3	12 8,0	3 2,0	2 1,3	3 2,0
Впервые выявленные	30 100%	–	15 50,0	5 16,7	–	–	9 30,0	1 3,3
Повторные	111 100%	1 0,9	76 68,5	16 14,4	11 9,9	3 2,7	2 1,8	2 1,8

ДИ 10,4-23,0%) и в 91-м кодоне (8,3%; 95%-ный ДИ 4,4-14,1%).

У пациентов с ФФУ МБТ мутации в 94-м кодоне гена *gyrA* встречались среди впервые выявленных больных в 75,0% (95%-ный ДИ 50,9-91,3%), а и среди лечащихся повторно – в 68,5% (95%-ный ДИ 59,0-77,0%,  $p > 0,05$ ). Помимо данной мутации, у впервые выявленных больных с ФФУ МБТ присутствовала только мутация в 90-м кодоне данного гена (25,0% культур МБТ). У больных, взятых на повторное лечение, состав культур с ФФУ был значительно разнообразнее: помимо мутаций в 94-м кодоне (68,5%), наблюдали мутации в 90-м (14,4%), в 91-м (9,9%), в 88-м (2,7%) и в 70-м (1,8%) кодонах (табл. 4).

#### 4.4. Связь ФЛУ к фторхинолонам с различными характеристиками пациентов

Моновариабельный анализ показал, что достоверную связь ( $p < 0,05$ ) с наличием ФФУ МБТ имеют: факт предыдущего лечения (ОШ = 6,6 т. е. шанс наличия ФФУ у повторно леченных больных в 6,6 раза выше, чем у впервые выявленных пациентов), пребывание пациента ранее в заключении (ОШ = 8,2), мужской пол (ОШ = 2,0), наличие статуса постоянного жителя города (ОШ = 1,7), возраст пациента в диапазоне 45-70 лет (ОШ = 1,7).

Многочисленный анализ показал, что достоверную связь с ФФУ имеет только наличие предыдущего лечения (ОШ = 7,9). С 90%-ной достоверностью наличие ФФУ связано с наличием постоянной работы, а с 80%-ной – с коинфекцией ВИЧ.

#### 4.5. Связь мутаций гена *gyrA* с различными характеристиками пациентов

Как моновариантный анализ, так и логистическая регрессия показали, что мутации в кодонах 94 и 90 гена *gyrA* достоверно связаны с наличием предыдущего лечения: ОШ равно 12,5 (95%-ный ДИ 6,2-25,0) и 7,2 (95%-ный ДИ 1,9-26,9) соответственно. С наличием у пациента постоянной работы ассоциирована мутация в 94-м кодоне (ОШ = 1,8, 95%-ный ДИ 1,04-3,20), с меньшей вероятностью (80%) – в 90-м кодоне. Кроме того, мутация в 94-м кодоне с достоверностью 80% была ассоциирована с пребыванием ранее в заключении.

## 5. Устойчивость к аминогликозидам и полипептиду

**5.1. ФЛУ МБТ к канамицину (Км), амикацину (Am) и капреомицину (Сар) (ФАУ)** выявлена у 59,1% (95%-ный ДИ 53,5-64,5%), 29,8% (95%-ный ДИ 24,9-35,2%) и 25,7% (95%-ный ДИ 21,1-30,9%) всех обследованных пациентов соответственно<sup>2</sup>. Для всех трех препаратов доля пациентов с ФЛУ МБТ среди впервые выявленных больных была достоверно меньше, чем среди взятых на повторное лечение. У впервые выявленных из постоянного населения доля штаммов МБТ с ФЛУ к Км составила 38,9%, к Am – 18,1% и Сар – 11,1%; среди повторно лечившихся – 69,3; 36,8; 32,7% соответственно ( $p < 0,01$  для всех трех ПТП). В отличие от остальных ПТП, доли штаммов МБТ с ФАУ, выделенных от пациентов с хроническими формами туберкулеза (II ГДН) и от повторно лечащихся больных, состоящих на учете в I ГДН, достоверно не различались.

#### 5.2. Вероятность ФЛУ МБТ к Км, Am и Сар при различных мутациях гена *rrs* (доля культур с ФАУ при различных мутациях в гене *rrs*)

Из 323 пациентов, взятых в исследование, у 24,5% (79 человек) выявлены мутации МБТ в кодонах 1 401 (A1491G) и 1 484 (G1484T) гена *rrs*, считающиеся генетическими маркерами ФАУ [6, 13]. При этих мутациях ФЛУ к Км отмечена у 98,7% (95%-ный ДИ 93,1-99,9%), к Am – у 88,3% (95%-ный ДИ 79,0-94,5%) и к Сар – у 80,8% (95%-ный ДИ 70,3-88,8%). Доля пациентов, имеющих штаммы МБТ с лекарственной устойчивостью одновременно к Км, Am и Сар при мутации гена *rrs* в 1 401-м кодоне, была равна 78,2% (95%-ный ДИ 67,4-86,8%). Штаммы МБТ с мутацией в 1 484-м кодоне гена *rrs* были выделены только у двух пациентов, причем у одного из них – в сочетании с мутацией в кодоне 1 401. Оба пациента имели ФЛУ к Км и Am, один из них – еще и к Сар.

#### 5.3. Генотипическая структура штаммов МБТ с ФАУ (частота мутаций при ФАУ)

Основным маркером ФАУ являлась мутация гена *rrs* в 1 401-м кодоне. Ее доля при ФЛУ к Км составила 40,3% (95%-ный ДИ 33,3-47,6%), к Am – 70,8% (95%-ный ДИ 60,7-79,7%) и к Сар –

<sup>2</sup> Здесь и далее, согласно методике, фенотипическая устойчивость к Км, Am и Сар определялась только для штаммов, имеющих устойчивость к Н и R или пипразинамиду. Доля штаммов, устойчивых к Км, Am и Сар, определялась по отношению к числу этих исследований.

75,9% (95%-ный ДИ 62,3-84,6%) от числа устойчивых штаммов. Однако достаточно велика и доля культур с ФАУ, у которых мутаций в гене *rrs* не выявлено: 58,6% при ФЛУ к Km, 27,1% – к Am и 22,9% – к Cap. Поэтому определение ФАУ к этим ПТП только по мутации гена *rrs* недостаточно чувствительно – отсутствие подобных мутаций далеко не всегда означает, что культура будет чувствительной к аминогликозидам/полипептиду [8].

Различный вклад мутаций гена *rrs* в формирование ФАУ у впервые выявленных больных туберкулезом и пациентов, взятых на повторное лечение, выявлен только для Am: доля мутации в кодоне 1 401 гена *rrs* среди пациентов с ФАУ была больше ( $p < 0,05$ ) у впервые выявленных больных, чем у пациентов, взятых на повторное лечение, – 84,2% (95%-ный ДИ 60,4-96,6%) и 69,7% (95%-ный ДИ 57,2-80,4%) соответственно.

#### 5.4. Связь ФАУ к Km, Am и Cap с различными характеристиками пациентов

При определении связей для отдельных факторов (*моновариабельный анализ*) установлено, что наибольшую статистическую связь с возникновением ФАУ имеют наличие факта предыдущего лечения (ОШ = 2,6-3,1, т.е. шанс возникновения ФАУ у повторных больных примерно в 3 раза выше, чем у впервые выявленных) и пребывание ранее в заключении (ОШ = 3,9-8,0). С достоверностью 90-95% связь с ФАУ имеют пол и возраст пациента (ФАУ чаще встречается у пациентов мужского пола и в возрасте 45-70 лет).

*Многофакторный анализ* показал, что достоверную связь с ФАУ имеет только наличие предыдущего лечения (ОШ = 3,3-3,7).

#### 5.5. Оценка связи мутаций гена *rrs* – маркеров устойчивости к Km, Am и Cap, с различными характеристиками пациентов методом логистической регрессии

Мутация в кодоне 1 401 гена *rrs* была достоверно связана с наличием факта предыдущего лечения: ОШ = 6,6 (95%-ный ДИ 3,3-13,0). Таким образом, для наличия основной мутации, связанной с устойчивостью к Km, Am и Cap, определяющим фактором является история лечения, а именно принадлежность пациента к взятым на повторные курсы лечения.

### Заключение

Изучение ФЛУ МБТ к основным ПТП первого и второго рядов у репрезентативной выборки пациентов позволило оценить распространение штаммов с ФЛУ среди постоянного населения г. Москвы и показало нарастание многообразия ассоциированных с ФЛУ мутаций МБТ у больных, регистрируемых на повторные курсы лечения. Исследование подтвердило достаточно широкое распространение МЛУ МБТ среди пациентов – постоянных жителей г. Москвы (табл. 1), зарегистри-

рованное в 2014 г. у 20,5% впервые выявленных и 65,7% повторных больных. Подтверждена высокая предсказательная ценность данных о наличии ФЛУ к R для решения о наличии МЛУ МБТ (98,2%, 95%-ный ДИ 95,9-99,4%).

Значительная доля МБТ с ФЛУ к H у впервые выявленных больных (34,8%), и особенно у пациентов, проходящих повторные курсы лечения (77,8%), заставляет вернуться к обсуждению монопрофилактики H в группах риска и является аргументом в пользу вывода H из стандартных режимов химиотерапии. ФЛУ МБТ к Fq выявлена у 18,1% впервые выявленных больных и у 62,1% повторно лечившихся больных с МЛУ МБТ. Высокий уровень ФЛУ МБТ к Km (у 38,9% впервые выявленных и 69,3% повторных пациентов с МЛУ МБТ из постоянного населения) соответствует последним рекомендациям ВОЗ [4]. Результаты опровергают представление о полной идентичности ФЛУ к Km и к Am. Частота мутации гена *rrs* в 1 401-м кодоне (один из важнейших маркеров ФАУ) достоверно различалась у штаммов с ФЛУ к Km (40,3%, 95%-ный ДИ 33,3-47,6%) и к Am (70,8%, 95%-ный ДИ 60,7-79,7%). Это указывает на участие в формировании ФАУ также и мутаций других генов [8].

Частота ФЛУ МБТ к R, H и Fq у больных с хроническим течением туберкулеза (II ГДН) ожидаемо высока: 85,3; 92,0; 76,8% соответственно. Туберкулез с МЛУ МБТ имели 84% больных, состоявших во II ГДН, в том числе 52% – с ШЛУ МБТ. Очевидно, что для предотвращения дальнейшего распространения штаммов МБТ с ШЛУ/МЛУ необходимо включить лечение хронических больных в приоритеты противотуберкулезной работы [4].

Примечательно, что доли больных с МБТ, устойчивыми к инъекционным ПТП, во II ГДН и среди повторно лечившихся больных I ГДН достоверно не отличались ( $p > 0,05$ ): 66,7 и 71,4% для Km, 32,4 и 40,5% для Am, 34,8 и 31,0% для Cap. Это может быть следствием либо быстрой селекции МБТ с ФЛУ к этим препаратам уже в ходе первого курса лечения, либо давнего происхождения штаммов с ФЛУ к аминогликозидам, которые селектированы еще до внедрения современных схем использования инъекционных препаратов резервного ряда.

Выявлена различная роль той или иной мутации в формировании ФЛУ к рассматриваемым ПТП, и проведена оценка вероятности наличия ФЛУ к ПТП при наличии определенной мутации. Наибольшую предсказательную ценность для развития ФЛУ МБТ к H имела мутация гена *katG* в 315-м кодоне (98,9%, 95%-ный ДИ 96,9-99,6%), к R – мутация гена *rpoB* в 531-м кодоне (99,6%, 95%-ный ДИ 97,6-99,9%), к Fq – мутация в 94-м кодоне гена *gyrA* (100%), к Km, Am и Cap – мутация гена *rrs* в 1 401-м кодоне (98,7% с 95%-ным ДИ 93,1-99,9%; 88,3% с 95%-ным ДИ 79,0-94,5% и 80,8% с 95%-ным ДИ 70,3-88,8% соответственно).

В данном исследовании определены те мутации, которые в «московской популяции» МБТ обеспечивают высокую и среднюю вероятность возникновения ФЛУ. Понятие «вероятность ФЛУ» напрямую связано с принятыми КК, с помощью которых дают заключение о наличии или отсутствии ФЛУ. «Вероятность ФЛУ» дает с практической точки зрения более точное представление о потенциальной эффективности ПТП при различном генотипе возбудителя, чем понятие о лекарственной устойчивости «низкого» или «высокого» уровня, используемое рядом авторов для оценки результатов определения МИК конкретных ПТП и для сравнения полученных данных с принятой КК [6, 13]. С этой точки зрения если вероятность возникновения ФЛУ МБТ достоверно отличается от 100% (например, при мутациях в кодонах 511, 516 и 526 гена *rpoB* для R), то имеется ощутимая вероятность подавления роста МБТ стандартными дозами данного ПТП. Референтные значения КК, в принципе, должны зависеть от того, какие мутации чаще встречаются в конкретной региональной популяции МБТ [10, 11].

Например, при определении КК рифампицина в группу «условно устойчивых» штаммов МБТ включают в основном культуры с мутацией в кодоне 531 гена *rpoB* (которая, по нашим данным, с учетом сочетаний имеет место в 83,2% случаев), что и определяет значение установленной КК, при которой продолжают

рост не менее 95% устойчивых культур. Если же, гипотетически, при определении КК рифампицина в группу «условно устойчивых» штаммов будут взяты лишь культуры МБТ с мутациями в 516-м и в 526-м кодонах *rpoB* или только с мутациями в 511-м кодоне (без мутаций в 531-м), то значения КК будут более низкими, чем при исследовании культур с мутацией только в 531-м кодоне. Вероятность возникновения ФЛУ при тех или иных мутациях генов МБТ в конкретной популяции следует учитывать при коррекции лечения, при интерпретации результатов молекулярно-генетических исследований и при их сравнении с ФЛУ.

Значительный интерес представляет доказательство того, что наибольшее влияние на распространение устойчивости МБТ к ПТП оказывает предыдущее лечение: у больных, взятых на повторное лечение, не только более часта ФЛУ МБТ, но и значительно более разнообразны мутации – маркеры ФЛУ. Другие характеристики пациентов практически не оказывали влияния как на распространение в популяции МБТ ФЛУ, так и на преобладание той или иной мутации-маркера.

Детекция генетических мутаций МБТ, ассоциированных с ФЛУ, является надежным инструментом прогнозирования фенотипической устойчивости и должна быть использована как основной метод отбора ПТП для формирования режима этиотропной терапии.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии у них конфликта интересов.

**Conflict of Interests.** The authors state that they have no conflict of interests.

## ЛИТЕРАТУРА

## REFERENCES

1. Дымова М. А., Альховик О. И., Череди́нченко А. Г., Кожамкулов У. А., Петренко Т. И., Раманкулов Е. М., Филипенко М. Л. Идентификация генотипов *Mycobacterium tuberculosis*, ассоциированных с резистентностью и чувствительностью к лекарственным препаратам // WWW.MEDLINE.RU. – Т. 13. – Микробиология. – 2012. – С. 672-681.
2. Исаева Ю. Д., Крылова Л. Ю., Макарова М. В., Хахалина А. А., Носова Е. Ю., Сафонова С. Г. Определение основных характеристик лекарственной чувствительности *M. tuberculosis* к фторхинолонам и аминогликозидам/капреомицину // Туберкулез и социально значимые заболевания. – 2015. – № 4. – С. 20-28.
3. Макарова М. В., Крылова Л. Ю., Сафонова С. Г., Литвинова Н. В., Носова Е. Ю., Литвинов В. И. Определение лекарственной чувствительности *M. tuberculosis*, выделенных от больных туберкулезом с множественной лекарственной устойчивостью, в тест-системе «Sensititre МусоТВ» // Клиническая лабораторная диагностика: научно-практический журнал. – 2016. – № 5. – С. 308-310.
4. Оперативное информирование: основные изменения в лечении туберкулеза с множественной лекарственной устойчивостью и устойчивостью к рифампицину (МЛУ/РУ-ТБ). Лицензия: СС BY-NC-SA 3 IGO/ – ВОЗ, 2018. [Электронный ресурс] URL: [http://roftb.ru/netcat\\_files/doks2018/2018-08-28-WHO\\_MDRTB\\_ru.pdf](http://roftb.ru/netcat_files/doks2018/2018-08-28-WHO_MDRTB_ru.pdf). (Дата обращения 11.12.2018 г.).
5. Противотуберкулезная работа в городе Москве. Аналитический обзор статистических показателей по туберкулезу за 2014 г. / Под ред. Е. М. Богородской, В. И. Литвинова, М.: МНПЦБТ, 2015. – С. 168.
6. Guidelines for clinical and operational management of drug-resistant tuberculosis / ed. by J.A. Caminero. – Paris, France: International Union against Tuberculosis and Lung Disease, 2013. – 264 p. [Электронный ресурс] URL: [https://www.theunion.org/what-we-do/publications/technical/english/mdr-tbguide\\_6-19-13\\_web.pdf](https://www.theunion.org/what-we-do/publications/technical/english/mdr-tbguide_6-19-13_web.pdf). (Дата обращения 25.11.14 г.).
7. Kam K. M., Yip C. W., Cheung T. L., Tang H. S., Leung O. C., Chan M. Y. Stepwise decrease in Moxifloxacin susceptibility amongst clinical isolates of
1. Dymova M.A., Alkhovik O.I., Cherednichenko A.G., Kozhamkulov U.A., Petrenko T.I., Ramankulov E.M., Filipenko M.L. Identification of *Mycobacterium tuberculosis* genotypes associated with drug resistance and susceptibility. WWW.MEDLINE.RU. vol. 13, *Mikrobiologiya*, 2012, pp. 672-681. (In Russ.)
2. Isaeva Yu.D., Krylova L.Yu., Makarova M.V., Khakhalina A.A., Nosova E.Yu., Safonova S.G. Detection of main characteristics of resistance of *M. tuberculosis* to fluoroquinolones and aminoglycosides/capreomycin. *Tuberkulez i Sotsialno-Znachimye Zabolevaniya*, 2015, no. 4, pp. 20-28. (In Russ.)
3. Makarova M.V., Krylova L.Yu., Safonova S.G., Litvinova N.V., Nosova E.Yu., Litvinov V.I. Drug susceptibility testing of *M. tuberculosis* isolated from the patients with multiple drug resistance using the test-system of Sensititre MycoTB. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika: Nauchno-Prakticheskiy Journal*, 2016, no. 5, pp. 308-310. (In Russ.)
4. Current update: main changes in treatment of tuberculosis with multiple drug resistance and rifampicin resistance (MDR/RR TB). License: CC BY-NC-SA 3 IGO. WHO, 2018. Available: [http://roftb.ru/netcat\\_files/doks2018/2018-08-28-WHO\\_MDRTB\\_ru.pdf](http://roftb.ru/netcat_files/doks2018/2018-08-28-WHO_MDRTB_ru.pdf). (Accessed: 11.12.2018).
5. *Protivotuberkuleznaya rabota v gorode Moskve. Analiticheskiy obzor statisticheskikh pokazateley po tuberkulezu, 2014 g.* [Tuberculosis control in Moscow. Analytical review of tuberculosis statistical rates, 2014]. E.M. Bogorodskaya, V.I. Litvinov, eds., Moscow, MNPTsBT Publ., 2015, pp. 168.
6. Guidelines for clinical and operational management of drug-resistant tuberculosis. Ed. by J.A. Caminero. Paris, France, International Union against Tuberculosis and Lung Disease, 2013. 264 p. Available: [https://www.theunion.org/what-we-do/publications/technical/english/mdr-tbguide\\_6-19-13\\_web.pdf](https://www.theunion.org/what-we-do/publications/technical/english/mdr-tbguide_6-19-13_web.pdf). (Accessed 25.11.14).
7. Kam K.M., Yip C.W., Cheung T.L., Tang H.S., Leung O.C., Chan M.Y. Stepwise decrease in Moxifloxacin susceptibility amongst clinical isolates of

- multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis*: correlation with Ofloxacin susceptibility // *Microb. Drug Resist.* – 2006. – Vol. 12, № 1. – P. 7-11.
8. Nosova E., Zimenkov D., Khakhalina A., Isakova A., Krylova L., Makarova M., Galkina K., Krasnova M., Safonova S., Litvinov V., Gryadunov D., Bogorodskaya E. A Comparison of the Sensititre MycoTB Plate, the BACTEC MGIT 960, and a microarray-based molecular assay for the detection of drug resistance in clinical *Mycobacterium tuberculosis* isolates in Moscow // *PLoS One.* – 2016. – Vol. 11, № 11. – P. e0167093. DOI:10.1371/journal.pone.0167093.
  9. Policy guidance on drug-susceptibility testing (DST) of second-line antituberculosis drugs. WHO/HTM/TB/2008.392. – Geneva, 2008. [Электронный ресурс] URL: [http://www.who.int/tb/publications/2008/who\\_htm\\_tb\\_2008\\_392.pdf](http://www.who.int/tb/publications/2008/who_htm_tb_2008_392.pdf). (Дата обращения 11.05.2018 г.).
  10. Technical report on critical concentrations for drug susceptibility testing of medicines used in the treatment of drug-resistant tuberculosis. WHO/CDS/TB/2018.5. – Geneva, 2018. [Электронный ресурс] URL: <http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/260470/1/WHO-CDS-TB-2018.5-eng.pdf?ua=1> (Дата обращения 11.05.2018 г.).
  11. van Deun A., Aung K. J., Bola V., Lebeke R., Hossain M. A., de Rijk W. B., Rigouts L., Gumusboga A., Torrea G., de Jong B. C. Rifampin drug resistance tests for tuberculosis: challenging the gold standard // *J. Clin. Microbiol.* – 2013. – Vol. 51. – P. 2633-2640.
  12. van Ingen J., Boeree M., van Soolingen D., Mouton J. Resistance mechanisms and drug susceptibility testing of nontuberculous mycobacteria // *Drug Resistance Update.* – 2012. – Vol. 15. – P. 149-161.
  13. Zhang Y., Yew W. W. Mechanisms of drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis* [State of the Art Series. Drug-resistant tuberculosis. Number 1 in the series] // *Int. J. Tuberc. Lung Dis.* – 2009. – Vol. 13. – P. 1320-1330.
  14. Zheng L., Leung E., Lee N., Lui G., To K., Chan R., Ip M. Differential MicroRNA expression in human macrophages with *Mycobacterium tuberculosis* infection of Beijing/W and non-Beijing/W strain types // *PLoS One.* – 2015. – Vol. 10, № 6. – P. e0126018. DOI:10.1371/journal.pone.0126018.
- multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis*: correlation with Ofloxacin susceptibility. *Microb. Drug Resist.*, 2006, vol. 12, no. 1, pp. 7-11.
8. Nosova E., Zimenkov D., Khakhalina A., Isakova A., Krylova L., Makarova M., Galkina K., Krasnova M., Safonova S., Litvinov V., Gryadunov D., Bogorodskaya E. A Comparison of the Sensititre MycoTB Plate, the BACTEC MGIT 960, and a microarray-based molecular assay for the detection of drug resistance in clinical *Mycobacterium tuberculosis* isolates in Moscow. *PLoS One*, 2016, vol. 11, no. 11, pp. e0167093. doi:10.1371/journal.pone.0167093,
  9. Policy guidance on drug-susceptibility testing (DST) of second-line antituberculosis drugs. WHO/HTM/TB/2008.392. Geneva, 2008, Available: [http://www.who.int/tb/publications/2008/who\\_htm\\_tb\\_2008\\_392.pdf](http://www.who.int/tb/publications/2008/who_htm_tb_2008_392.pdf). (Accessed 11.05.2018).
  10. Technical report on critical concentrations for drug susceptibility testing of medicines used in the treatment of drug-resistant tuberculosis. WHO/CDS/TB/2018.5. Geneva, 2018, Available: <http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/260470/1/WHO-CDS-TB-2018.5-eng.pdf?ua=1> (Accessed: 11.05.2018).
  11. van Deun A., Aung K.J., Bola V., Lebeke R., Hossain M.A., de Rijk W.B., Rigouts L., Gumusboga A., Torrea G., de Jong B.C. Rifampin drug resistance tests for tuberculosis: challenging the gold standard. *J. Clin. Microbiol.*, 2013, vol. 51, pp. 2633-2640.
  12. van Ingen J., Boeree M., van Soolingen D., Mouton J. Resistance mechanisms and drug susceptibility testing of nontuberculous mycobacteria. *Drug Resistance Update*, 2012, vol. 15, pp. 149-161.
  13. Zhang Y., Yew W.W. Mechanisms of drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis* [State of the Art Series. Drug-resistant tuberculosis. Number 1 in the series]. *Int. J. Tuberc. Lung Dis.*, 2009, vol. 13, pp. 1320-1330.
  14. Zheng L., Leung E., Lee N., Lui G., To K., Chan R., Ip M. Differential MicroRNA expression in human macrophages with *Mycobacterium tuberculosis* infection of Beijing/W and non-Beijing/W strain types. *PLoS One*, 2015, vol. 10, no. 6, pp. e0126018. doi:10.1371/journal.pone.0126018.

## ДЛЯ КОРРЕСПОНДЕНЦИИ:

ГБУЗ «Московский научно-практический центр борьбы с туберкулезом Департамента здравоохранения г. Москвы», 107014, г. Москва, ул. Стромьнка, д. 10.

**Краснова Мария Александровна**

кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник отдела лабораторной диагностики туберкулеза и патоморфологии.  
Тел.: 8 (495) 603-30-33.  
E-mail: dna77@mail.ru

**Белиловский Евгений Михайлович**

кандидат биологических наук, заведующий отделом эпидемиологического мониторинга туберкулеза. 107014, г. Москва, ул. Барболина, д. 3, корп. 3  
E-mail: belilo5@mail.ru

**Борисов Сергей Евгеньевич**

доктор медицинских наук, профессор, заместитель директора по научно-клинической работе.  
Тел./факс: 8 (499) 268-50-10, 8 (499) 785-20-82.  
E-mail: sebarsik@gmail.com

**Хахалина Анастасия Александровна**

кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник отдела лабораторной диагностики туберкулеза и патоморфологии.  
Тел.: 8 (495) 603-30-33.  
E-mail: nastec@bk.ru  
Тел./факс: 8 (499) 268-08-76, 8 (499) 785-20-82.

## ДЛЯ КОРРЕСПОНДЕНЦИИ:

Moscow Municipal Scientific Practical Center of Tuberculosis Control, 10, Stromynka St., Moscow, 107014

**Maria A. Krasnova**

Candidate of Medical Sciences, Leading Researcher of Department of Laboratory Diagnostics of Tuberculosis and Pathomorphology.  
Phone: +7 (495) 603-30-33.  
Email: dna77@mail.ru

**Evgeny M. Belilovsky**

Candidate of Biological Sciences, Head of Tuberculosis Epidemiological Monitoring Department.  
Build. 3, 3, Barbolina St., Moscow, 107014  
Email: belilo5@mail.ru

**Sergey E. Borisov**

Doctor of Medical Sciences, Professor, Deputy Director for Research and Clinical Activities.  
Phone/Fax: +7 (499) 268-50-10; +7 (499) 785-20-82.  
Email: sebarsik@gmail.com

**Anastasia A. Khakhalina**

Candidate of Biological Sciences, Leading Researcher of Department of Laboratory Diagnostics of Tuberculosis and Pathomorphology.  
Phone: +7 (495) 603-30-33.  
Email: nastec@bk.ru  
Phone/Fax: +7 (499) 268-08-76; +7 (499) 785-20-82.

**Михайлова Юлия Дмитриевна**

кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник  
отдела проблем лабораторной диагностики туберкулеза  
и патоморфологии.

Тел./факс: 8 (499) 268-70-33, 8 (499) 785-20-82.

E-mail: juliaisaeva81@rambler.ru

**Yulia D. Mikhaylova**

Candidate of Biological Sciences,  
Leading Researcher of Department of Laboratory Diagnostics  
of Tuberculosis and Pathomorphology.

Phone/Fax: +7 (499) 268-70-33; +7 (499) 785-20-82.

Email: juliaisaeva81@rambler.ru

**Носова Елена Юрьевна**

кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник  
отдела проблем лабораторной диагностики туберкулеза и  
патоморфологии.

Тел./факс: 8 (495) 603-30-33, 8 (499) 785-20-82.

**Elena Yu. Nosova**

Candidate of Medical Sciences,  
Leading Researcher of Department of Laboratory Diagnostics  
of Tuberculosis and Pathomorphology.

Phone/Fax: +7 (495) 603-30-33; +7 (499) 785-20-82.

Поступила 12.03.2019

Submitted as of 12.03.2019