

Клінічний перебіг хіміорезистентного туберкульозу легень у динаміці лікування залежно від генотипів *M. tuberculosis*

А.В. Рогожин

Харківська медична академія післядипломної освіти

Мета дослідження: визначення особливості клініко-лабораторної та рентгенологічної динаміки у хворих на хіміорезистентний туберкульоз легень залежно від генотипів *M. tuberculosis* протягом інтенсивної фази лікування. **Матеріали та методи.** У 135 хворих на хіміорезистентний туберкульоз легень було досліджено клініко-лабораторну та рентгенологічну динаміку протягом інтенсивної фази лікування залежно від генотипів *M. tuberculosis*. Хворих було розподілено на дві групи. У 67,4% хворих було виявлено генотипи *M. tuberculosis* сімейства Beijing (група Beijing), у 32,6% хворих – генотипи сімейства LAM, Haarlem, Africanum та генотипи індивідуальних профілів (група не-Beijing).

Особливості динаміки клінічного перебігу хіміорезистентного туберкульозу легень оцінювали за динамікою інтоксикаційного синдрому, закриттям порожнин розпаду легеневої паренхіми та припиненням мікобактеріовиділення у процесі інтенсивної фази лікування.

Результати. Серед хворих групи Beijing порівняно із хворими групи не-Beijing позитивна клініко-рентгенологічна динаміка спостерігалася значно рідше. Водночас у групі Beijing спостерігається значно менше пацієнтів з припиненням мікобактеріовиділення і випадків загосення порожнин деструкції легеневої паренхіми та більше хворих з інтоксикаційним синдромом.

Заключення. Використання молекулярно-генетичного методу VNTR дозволяє прогнозувати перебіг та ефективність лікування хіміорезистентного туберкульозу легень.

Ключові слова: *Mycobacterium tuberculosis*, хіміорезистентний туберкульоз, генотип, лікування.

Сьогодні все більшого значення набуває зростання стійкості *Mycobacterium tuberculosis* (МБТ) до антимікобактеріальних препаратів (АМБП), що спричинює зниження ефективності лікування хворих та підвищення поширеності хіміорезистентного туберкульозу (ХРТБ) [8, 10].

Важливу роль у погіршенні епідемічної ситуації з туберкульозу (ТБ) відіграють зміна соціально-економічних і екологічних умов, зниження імунологічної реактивності, а також зміна самого збудника захворювання [3, 9].

Дотепер залишається відкритим питання, чи витісняє у випадку захворювання вторинний генотип свого попередника повністю або ж можливе одночасне співіснування в організмі хворого на ТБ різних генотипів МБТ. Відповідь на це питання може сприяти кращому розумінню механізмів взаємодії МБТ з імунною системою хворого [1, 7].

Особливості перебігу ХРТБ потребують більш детального вивчення. Це стало можливим завдяки розвитку молекулярної генетики, використанню генетичного типування МБТ, що дозволяє розрізнити генотипи збудника та з'ясувати їхню роль у подальшому перебігу захворювання [2, 6].

Мета дослідження: визначення особливості клініко-лабораторної та рентгенологічної динаміки у хворих на

хіміорезистентний туберкульоз легень залежно від генотипів *M. tuberculosis* протягом інтенсивної фази (ІФ) лікування.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

У 135 хворих на ХРТБ легень було досліджено клініко-лабораторну та рентгенологічну динаміку протягом ІФ лікування залежно від генотипів МБТ.

Усі хворі, які увійшли до дослідження, знаходились в умовах стаціонару та отримували стандартне лікування згідно з Наказом МОЗ України № 620 від 04.09.2014 р. (УКПМД «Туберкульоз») [4]. Лабораторні дослідження крові, сечі та мокротиння виконували за загальноприйнятими методиками при надходженні хворого до стаціонару та щомісячно. Рентгенологічне дослідження органів грудної порожнини проводили до лікування, на 4-у та 8-у місяцях ІФ лікування.

Матеріалом для молекулярно-генетичного дослідження були культури МБТ, вирощені на щільному середовищі Левенштейна-Йенсена, та за допомогою VNTR-генотипування протиповані по п'яти локусам – ETR A, B, C, D, E [11–15]. Для визначення генотипів культури МБТ, які були отримані із мокротиння хворих методом культивування (посіву), відбиралися у пробірки із 0,9% розчином хлориду натрію. Далі проводили інактивацію збудника за допомогою впливу температури та лізуючого розчину з гуанідина тіоціанатом, що дозволяло досягнути біобезпеки та провести достовірні дослідження полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР). Було відібрано по 4 зразки культур МБТ: до початку лікування та з інтервалами 1, 4 та 8 міс. Генетичні дослідження проводили на базі лабораторії молекулярної діагностики ННЦ «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини» (м. Харків).

Особливості динаміки клінічного перебігу ХРТБ легень оцінювали за динамікою інтоксикаційного синдрому (ІС), фактом закриття порожнин розпаду легеневої паренхіми та припиненням мікобактеріовиділення у процесі ІФ лікування.

Статистичне оброблення даних проведено із застосуванням ліцензійної програмної оболонки «STATISTICA» (версія 6.0).

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Хворих було розподілено на дві групи.

I група (Beijing) – 91 (67,4%) хворий, в яких було виявлено генотипи МБТ сімейства Beijing.

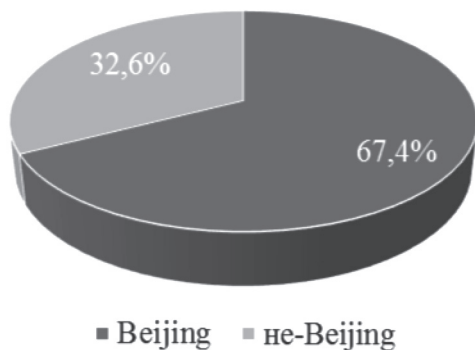
II група – 44 (32,6%) особи, в яких були виявлені генотипи сімейства LAM, Haarlem, Africanum та генотипи індивідуальних профілів (мал.1).

ІС було розділено на три ступеня тяжкості, основним критерієм якої був рівень температури тіла:

I ступінь – слабо виражена (до 38 °С),

II ступінь – помірно виражена (до 38,5 °С),

III ступінь – виражена (>38,5 °С) [5].



Мал. 1. Розподіл генотипів МБТ, які були виділені від хворих ХРТБ легень

На мал. 2 відображено динаміку ІС у хворих на ХРТБ легень. За 4 міс лікування виявлено значно більше хворих з ІС I та II ступеня у групі Beijing порівняно із хворими групи не-Beijing: 38,0% проти 20,7% ($p < 0,05$) та 27,2% проти 7,5% відповідно ($p < 0,001$).

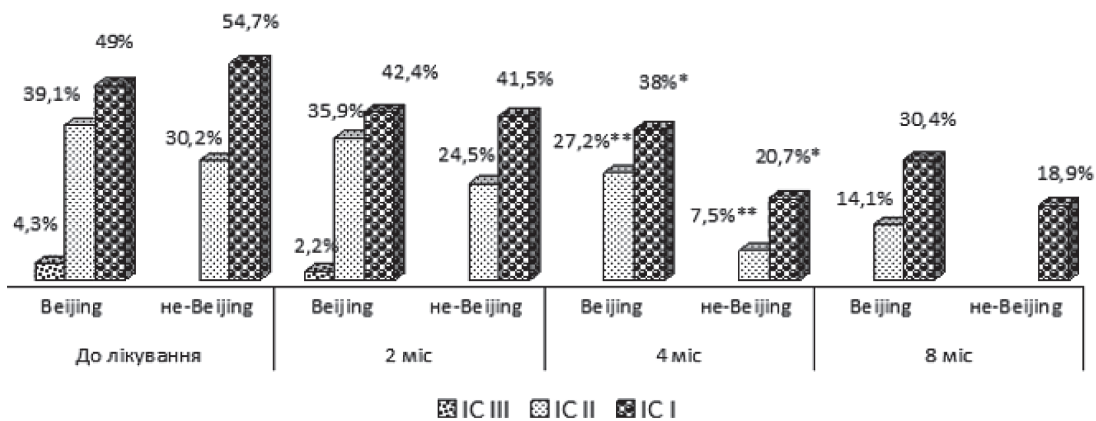
Динаміка зниження масивності мікобактеріовиділення визначалася за результатами бактеріоскопічного методу дослідження мокротиння на 1-у, 4-у та 8-у місяцях ІФ лікування.

Припинення мікобактеріовиділення методом мікроскопії мокротиння спостерігалось вже на 1-у місяці лікування у 2 (2,2%) хворих I групи та у 4 (8,0%) хворих II групи ($p > 0,05$). На 4-у місяці лікування припинення мікобактеріовиділення спостерігалось вже у 8 (9,0%) хворих I групи та у 12 (23,0%) хворих II групи ($p < 0,05$). На 8-у місяці лікування також виявляли достовірні різниці за цим показником, а саме: припинення мікобактеріовиділення спостерігалось у 15 (16,0%) хворих групи Beijing та у 18 (34,0%) пацієнтів групи не-Beijing ($p < 0,05$).

Кількість хворих з мізерним та помірним мікобактеріовиділенням достовірно відрізнялась як на 4-у, так і на 8-у місяцях лікування. У хворих з мізерним (1+) мікобактеріовиділенням ця різниця виглядала наступним чином: у 18 (19,6%) хворих I групи та у 27 (50,9%) хворих II групи (4-й місяць лікування; $p < 0,001$), у 22 (23,9%) хворих I групи та у 31 (58,5%) хворого II групи (8-й місяць лікування; $p < 0,001$).

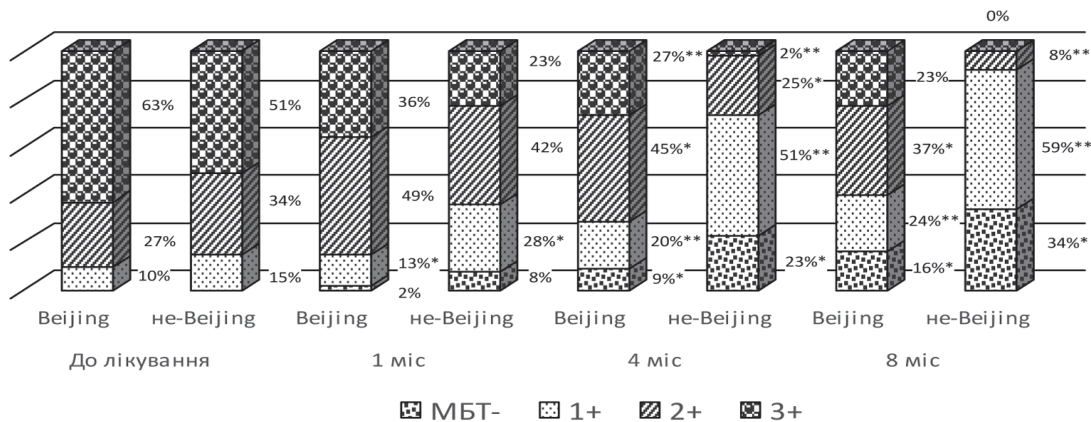
У пацієнтів з помірним (2+) мікобактеріовиділенням також виявляли достовірну різницю в кількості хворих: у 41 (44,6%) хворого групи Beijing та у 13 (24,5%) пацієнтів групи не-Beijing (4-й місяць лікування; $p < 0,05$), у 34 (37,0%) хворих групи Beijing та у 4 (7,5%) хворих групи не-Beijing (8-й місяць лікування; $p < 0,001$).

Кількість пацієнтів з масивним (3+) мікобактеріовиділенням у групі Beijing та групі не-Beijing також достовірно відрізнялась на 4-у місяці ІФ лікування і становила відповідно 27,0% у групі хворих Beijing та 1,9% у групі



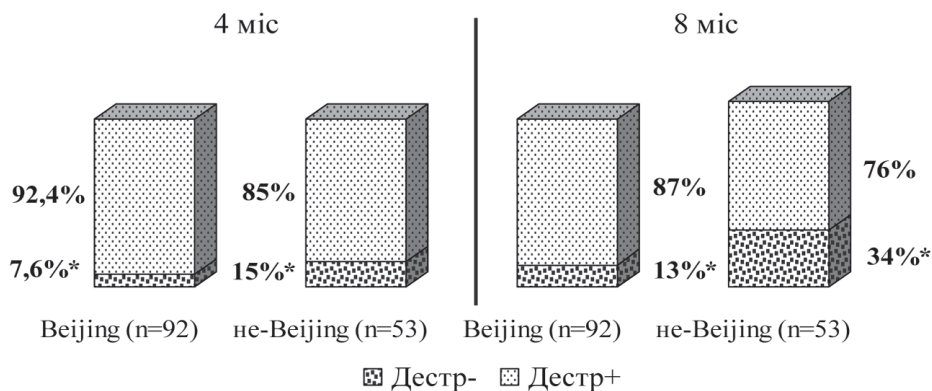
Мал. 2. Динаміка ІС у хворих на ХРТБ легень

Примітки: 1. * – достовірно у порівнянні двох груп ($p < 0,05$); 2. ** – достовірно у порівнянні двох груп ($p < 0,001$).

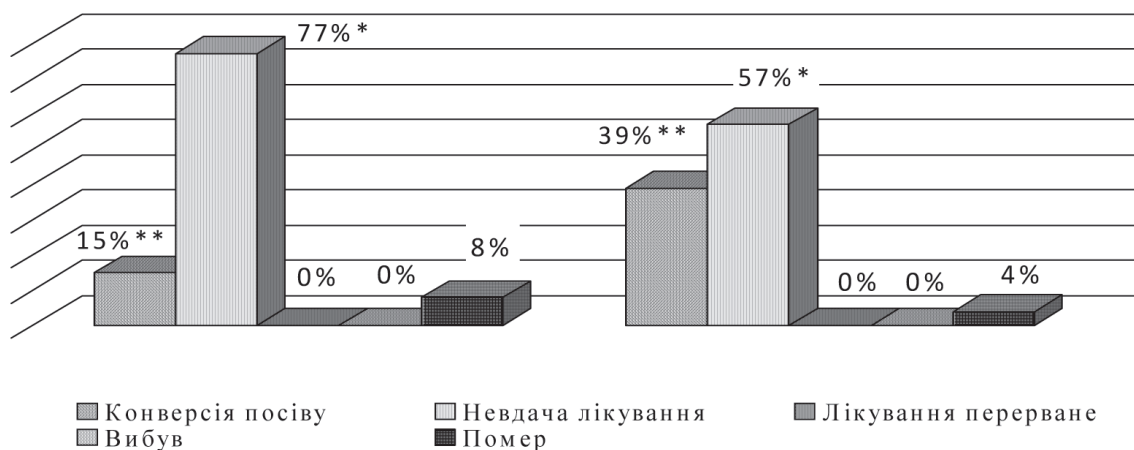


Мал. 3. Динаміка припинення або зниження масивності мікобактеріовиділення у хворих на ХРТБ легень

Примітки: 1. * – достовірно у порівнянні двох груп ($p < 0,05$); 2. ** – достовірно у порівнянні двох груп ($p < 0,001$).



Мал. 4. Динаміка загоєння порожнин розпаду легеневої паренхіми у хворих на ХРТБ легень
Примітка: * – достовірно у порівнянні двох груп ($p < 0,01$).



Мал. 5. Результати ІФ лікування хворих на ХРТБ легень з різними генотипами МБТ
Примітки: 1) * – достовірно у порівнянні двох груп ($p < 0,05$); ** – достовірно у порівнянні двох груп ($p < 0,001$).

хворих не-Beijing ($p < 0,001$). Слід зазначити, що на 8-у місяці лікування серед хворих II групи не було пацієнтів з масивним мікобактеріовиділенням (мал. 3).

Ефективність лікування закриттям каверн та рентгенологічною динамікою оцінювали на 4-у та 8-у місяцях лікування.

Загоєння порожнин деструкції у пацієнтів групи Beijing відбувалося значно повільніше, ніж серед пацієнтів групи не-Beijing, особливо значуще це виявлено на 8-у місяці ІФ лікування: у 13,0% та 34,0% хворих відповідно ($p < 0,01$). На 8-му місяці лікування хворих з позитивною рентгенологічною динамікою (зменшення інфільтративних змін, розмірів та кількості порожнин розпаду легеневої паренхіми) було достовірно менше у групі Beijing, ніж серед хворих з групи не-Beijing: у 29 (31,5%) та у 33 (62,3%) пацієнтів відповідно ($p < 0,001$) (мал. 4).

Після 8 міс лікування у 13 (15,0%) хворих на ХРТБ легень групи Beijing та у 17 (39,0%) хворих групи не-Beijing вдалося досягти конверсії посіву ($p < 0,001$). У 71 (77,0%) хворих групи Beijing та у 25 (57,0%) хворих групи не-Beijing після ІФ лікування було встановлено нерезультативне лікування ($p < 0,05$). Кількість померлих хворих групи Beijing у 2 рази переважала кількість померлих хворих групи не-Beijing: 8,0% проти 4,0% ($p > 0,05$) (мал. 5).

Отже, встановлена залежність динаміки клініко-лабораторних та рентгенологічних показників від генотипу

МБТ у хворих на ХРТБ легень у процесі ІФ лікування. У пацієнтів групи Beijing спостерігалось у 2,5 рази рідше випадків конверсії посіву мокротиння, у 2,5 рази менше випадків загоєння порожнин деструкції легеневої паренхіми та у 2,5 рази більше хворих з ІС, ніж у хворих групи не-Beijing.

ВИСНОВКИ

Хіміорезистентний туберкульоз (ХРТБ) в Україні залишається актуальною проблемою. Використання молекулярно-генетичного методу VNTR дозволяє прогнозувати перебіг та ефективність лікування ХРТБ легень.

Серед 135 проаналізованих випадків ХРТБ легень за результатами VNTR-генотипування по ETR A-E локусах у 67,4% було виявлено генотипи *Mycobacterium tuberculosis* (МБТ) сімейства Beijing.

Серед хворих групи Beijing порівняно із хворими групи не-Beijing позитивна клініко-рентгенологічна динаміка спостерігається у 2,5 рази рідше ($p < 0,01$), а кількість померлих – у 2 рази більша ($p > 0,05$). Водночас у групі хворих Beijing спостерігається у 2,5 рази менше осіб з припиненням мікобактеріовиділення ($p < 0,05$), у 2 рази більше хворих з інтоксикаційним синдромом та у 2,5 рази менше випадків загоєння порожнин деструкції легеневої паренхіми ($p < 0,01$), що дозволяє прогнозувати меншу ефективність лікування хворих з генотипами МБТ Beijing.

Клиническое течение химиорезистентного туберкулеза легких в динамике лечения в зависимости от генотипов *M. tuberculosis*
A.V. Рогожин

Цель исследования: определение особенностей клинико-лабораторной и рентгенологической динамики у больных химиорезистентным туберкулезом легких в зависимости от генотипов *M. tuberculosis* в течение интенсивной фазы лечения.

Материалы и методы. У 135 больных химиорезистентным туберкулезом легких была исследована клинико-лабораторная и рентгенологическая динамика в течение интенсивной фазы лечения в зависимости от генотипов *M. tuberculosis*. Больные были разделены на две группы. У 67,4% больных были обнаружены генотипы *M. tuberculosis* семейства Beijing (группа Beijing), у 32,6% больных были обнаружены генотипы семейства LAM, Haarlem, Africanum и генотипы индивидуальных профилей (группа не-Beijing).

Особенности динамики клинического течения химиорезистентного туберкулеза легких оценивали по динамике интоксикационного синдрома, закрытию полостей распада легочной паренхимы и прекращению микобактериовыделения в процессе интенсивной фазы лечения.

Результаты. Среди больных группы Beijing по сравнению с больными группы не-Beijing положительная клинико-рентгенологическая динамика наблюдается значительно реже. При этом в группе Beijing наблюдается значительно меньше пациентов с прекращением микобактериовыделения и случаев заживления полостей деструкции легочной паренхимы и больше больных с интоксикационным синдромом.

Заключение. Использование молекулярно-генетического метода VNTR позволяет прогнозировать течение и эффективность лечения химиорезистентного туберкулеза легких.

Ключевые слова: *Mycobacterium tuberculosis*, химиорезистентный туберкулез, генотип, лечение.

The clinical course of chemoresistant pulmonary tuberculosis in the dynamics of treatment depending on the genotypes of *M. tuberculosis*
A.V. Rohozhyn

The objective: to determine the features of clinical-laboratory and radiological dynamics in patients with chemoresistant pulmonary tuberculosis depending on genotypes of *M. tuberculosis* during the intensive phase of treatment.

Materials and methods. In 135 patients with chemoresistant pulmonary tuberculosis were studied the clinical-laboratory and radiological dynamics depending on the genotypes of *M. tuberculosis* during the intensive phase of treatment. The patients were divided into two groups. Genotypes of *M. tuberculosis* Beijing family (Beijing group) were found in 67,4% of patients, genotypes of the family LAM, Haarlem, Africanum and genotypes of individual profiles (non-Beijing group) were found in 32,6% of patients.

Features of the clinical course dynamics of chemoresistant pulmonary tuberculosis were assessed by the dynamics of intoxication syndrome, closing of the lung parenchyma destruction and cessation of the bacterial excretion during the intensive phase of treatment.

Results. Among patients of the Beijing group compared with no-Beijing group the positive clinical and radiographic dynamics is observed much less frequently. At the same time in the group of Beijing patients there are significantly fewer people with the cessation of bacterial excretion and cases of healing of the pulmonary parenchyma destruction and more patients with an intoxication syndrome.

Conclusion. Using of the VNTR molecular genetic method allows predicting the course and effectiveness of the treatment of chemoresistant pulmonary tuberculosis.

Key words: *Mycobacterium tuberculosis*, chemoresistant tuberculosis, genotype, treatment.

Сведения об авторе

Рогожин Антон Викторович – Кафедра фтизиатрии, пульмонологии и семейной медицины Харьковской медицинской академии последилового образования, 61176, г. Харьков, ул. Амосова, 58; тел: (057) 738-71-87. E-mail: kfp1930@ukr.net

СПИСОК ЛИТЕРАТУРИ

- Бажора Ю.И., Часникова М.М., Полякова С.П., Левицка И.А. Молекулярная эпидемиология туберкулеза // Клинічна та експериментальна цитологія. – 2010. – № 2. – С. 138–140.
- Дымова М.А., Чердиченко А.Г., Ширишова А.Н. и др. Молекулярные основы возникновения лекарственной устойчивости у *Mycobacterium tuberculosis* // Вестник Новосибирского государственного университета. Серия: биология, клиническая медицина. – 2012. – № 2. – С. 243–251.
- Ляшенко А.А. Методы генотипирования во фтизиатрии // Туберкулез, легочные инфекции, ВИЛ-инфекция. – 2015. – № 1 (20). – С. 98–103.
- Наказ МОЗ України № 620 від 04.09.2014 «Уніфікований клінічний Протокол первинної, вторинної (спеціалізованої) та третинної (високоспеціалізованої) медичної допомоги. Туберкулез».
- Потейко П.И. Клинико-лабораторная характеристика интоксикационного синдрома у больных туберкулезом легких и эффективность детоксикационной терапии: Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. – М., 1991. – 239 с.
- Рогожин А.В. Прогнозування тяжкості перебігу та ефективності лікування хіміорезистентного туберкулезу легень в залежності від різних генотипів мікобактерій туберкулезу: Автореф. дис. ... канд. мед. наук: спец. 14.01.26 «Фтизіатрія» / А.В. Рогожин. – К., 2018. – 23 с.
- Тодоріко Л.Д., Петренко В.І., Гришин М.М. Резистентність мікобактерій туберкулезу: міфи та реальність // Туберкулез. Легеневі хвороби. ВИЛ-інфекція. – 2014. – № 1. – С. 60–67.
- Туберкулез в Україні / Аналітично-статистичний довідник за 2004–2014 роки // головний редактор Толстанов О.К. – К.: Вища школа, – 2015. – 102 с.
- Фещенко Ю.И., Мельник В.М. Організація контролю за хіміорезистентним туберкулезом. Виробниче видання. – К.: Здоров'я. – 2013. – 704 с.
- Фещенко Ю.И., Мельник В.М., Лыницький І.Г. Основи клінічної фтизіатрії: посібник для лікарів (у 2-х томах). – К. – Львів: Атлас, 2011. – 1363 с.
- Cowan L.S., Mosher L., Diem L. et al. Variable-number tandem repeat typing of *Mycobacterium tuberculosis* isolates with low copy numbers of IS6110 by using mycobacterial interspersed repetitive units // J. Clin. Microbiol. – 2002. – Vol. 40. – P. 1592–1602.
- Yokoyama E., Hachisu Y., Hashimoto R. et al. Concordance of variable-number tandem repeat (VNTR) and large sequence polymorphism (LSP) analyses of *Mycobacterium tuberculosis* strains // Infection, Genetics and Evolution: Journal of Molecular Epidemiology and Evolutionary Genetics in Infectious Diseases. – 2010. – Vol. 10, № 7. – P. 913–918.
- Joseph B.V., Soman S., Radhakrishnan I. et al. Molecular epidemiology of *Mycobacterium tuberculosis* isolates from Kerala, India using IS6110-RFLP, spoligotyping and MIRU-VNTRs // Infect. Genet. Evol. – 2013. – Vol. 16. – P. 157–164.
- Kwara A., Schiro R., Cowan L.S. et al. Evaluation of the epidemiologic utility of secondary typing methods for differentiation of *Mycobacterium tuberculosis* isolates // J Clin Microbiol. – 2003. – Vol. 41, № 6. – P. 2683–2685.
- Lu B. Genetic diversity of *Mycobacterium tuberculosis* isolates from Beijing, China assessed by Spoligotyping, LSPs and VNTR profiles / B. Lu, P. Zhao, B. Liu et al. // BMC Infectious Diseases. – 2012. – Vol. 12. – P. 372.

Статья поступила в редакцию 11.05.2018