

УДК 579.873.21: 579.253.2

О.Е. Микова¹, С.Н. Жданова², В.И. Сергеев³, О.Б. Огарков^{2,4,6}, Е.В. Сармометов¹,
Т.А. Варецкая¹, О.Н. Новицкая⁶, П.А. Хромова², Е.Д. Савилов^{2,5}, М.Е. Кошечев⁴, Д.В. Шмагин¹

ВЫСОКАЯ РАСПРОСТРАНЁННОСТЬ ГЕНОТИПА B0/W148 MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS У БОЛЬНЫХ ВИЧ-ИНФЕКЦИЕЙ, СОЧЕТАННОЙ С ТУБЕРКУЛЁЗОМ, В ПЕРМСКОМ КРАЕ И ИРКУТСКОЙ ОБЛАСТИ

¹ ГКУЗ ПК «Пермский краевой центр по борьбе и профилактике со СПИД и инфекционными заболеваниями», Пермь, Россия

² ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», Иркутск, Россия

³ ГБОУ ВПО «Пермский государственный медицинский университет имени академика Е.А. Вагнера», Пермь, Россия

⁴ ОГБУЗ «Иркутская областная клиническая туберкулёзная больница», Иркутск, Россия

⁵ ГБОУ ДПО «Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования» Минздрава России, Иркутск, Россия

⁶ ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России, Иркутск, Россия

Исследование изолятов *M. tuberculosis*, выделенных от больных ВИЧ-инфекцией, сочетанной с туберкулёзом, свидетельствует о значимом преобладании генотипа Beijing у пациентов Пермского края (ПК) (92,2 %) по сравнению с пациентами Иркутской области (ИО) (59,5 %), ($\chi^2 = 18,0$; $p < 0,01$). Выявлен высокий уровень МЛУ среди ВИЧ-ТБ больных (более 50 %); высокая частота случаев микст-генотипов (14,1 % – в ПК; 12,7 % – в ИО); значительная доля высоковирулентного штамма B0/W148 (34,4 % – в ПК; 25,3 % – в ИО), что может быть связано с эпидемическим распространением МЛУ туберкулёза среди иммунокомпрометированных лиц.

Ключевые слова: туберкулёз, генотип Beijing, *M. tuberculosis*

HIGH PREVALENCE OF GENOTYPE B0/W148 OF MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS AMONG HIV-TB PATIENTS IN PERM KRAI AND IRKUTSK REGION

О.Е. Mikova¹, S.N. Zhdanova², V.I. Sergeev³, O.B. Ogarkov^{2,4,6}, T.V. Sarmometov¹,
T.A. Varetskaya¹, O.N. Novitskaya⁶, P.A. Chromova², E.D. Savilov^{2,5}, M.Y. Koshcheev⁴,
D.V. Shmagin¹

¹ Perm Regional AIDS Centre, Perm, Russia

² Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, Irkutsk, Russia

³ Perm State Medical University, Perm, Russia

⁴ Irkutsk Regional Clinical TB Hospital, Irkutsk, Russia

⁵ Irkutsk State Medical Academy of Continuing Education, Irkutsk, Russia

⁶ Irkutsk State Medical University, Irkutsk, Russia

Background. The population with HIV-infection plays significant role in ongoing tuberculosis pandemic. Immunosuppression due to HIV-infection is one of the causes of TB disseminated forms in this group of people. Having low immune status is also often associated with a polyclonal *M. tuberculosis* infection.

Aim of the research: comparative assessment of epidemic genotypes of *M. tuberculosis* prevalence and mixed genotypes identification within HIV-TB co-infected patients in two Russian regions.

Materials and methods. The DNAs of 78 clinical isolates from Irkutsk Region (IR) and 64 strains from Perm Krai (PK) have been genotyped by MIRU VNTR 24 and RD105/RD207. Strains were obtained from patients who did not have significant age and sex differences. In the PK age of the patients was 34.5 ± 0.9 , in IR – 34.4 ± 1.5 years. The samples were obtained from 67.2 and 65.4 % of men, respectively.

Result. The study of the *M. tuberculosis* indicates significant predominance of Beijing genotype strains in patients with TB-HIV of PK (92.2 %) compared to the IR (59.5 %) ($\chi^2 = 18,0$; $p < 0,01$). The prevalence of MDR pathogens in TB-HIV patients exceeded 50 %. The mixed genotype detection in the PK and IR was high (14.1 and 12.7 % respectively). The level of virulent strains B0/W148 was 34.4 % in PK patients and 25.3 % in IR ones. Analysis of the results suggests the epidemic spread of MDR-TB in the immunocompromised individuals.

Conclusions: The identified trends may indicate that Perm Krai have a process of active dissemination of transmissible strains of *M. tuberculosis* within HIV-infected population.

Key words: tuberculosis, genotype Beijing, *M. tuberculosis*

Широкомасштабные исследования генетического полиморфизма возбудителя туберкулёза (ТБ)

позволили выявить ряд особенностей персистенции генотипов микобактерий туберкулёза (МБТ).

Наиболее широко распространённые и генетически однородные штаммы возбудителя описываются как «кластеризующиеся», т. е. имеющие минимальные молекулярные различия между штаммами [10]. В подавляющем большинстве случаев такие штаммы *M. tuberculosis* в значительной степени отвечают за эпидемический подъём заболеваемости и распространение случаев множественной/широкой лекарственной устойчивости (МЛУ/ШЛУ) [3]. Рядом исследователей на высоте подъёма заболеваемости ТБ отмечается присутствие смешанных генотипов (микст-генотипов) в культурах МБТ [6]. При этом как на уровне полногеномных исследований, так и на уровне микросателлитов (MIRU-VNTR) имеют место и микроэволюционные события, т. е. генетическая дивергенция штаммов в рамках инфекционного процесса. Показана также циркуляция истинных микст-культур, состоящих из генетически далёких штаммов [4]. В большинстве евразийских исследований выделяются смешанные культуры высокоэпидемических генетических семейств Beijing, LAM, Haarlem, Ural [6]. Клинические исследования туберкулёза у ВИЧ-инфицированных показало высокую распространённость МЛУ/ШЛУ туберкулёза у этой категории больных в Иркутской области (ИО) [7, 9]. Проведённое исследование позволило предположить, что наряду с неэффективностью противотуберкулёзной и антиретровирусной терапии определённую роль в распространении МБТ с МЛУ/ШЛУ в популяции лиц с иммунодефицитом может играть также и эпидемическое распространение штаммов с лекарственной устойчивостью.

Целью настоящего исследования была сравнительная оценка распространённости эпидемических генотипов *M. tuberculosis* и выявление смешанных генотипов среди ВИЧ-ТБ коинфицированных в двух регионах страны.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Штаммы *M. tuberculosis* выделены и охарактеризованы на лекарственную устойчивость в бактериологических лабораториях Иркутской областной противотуберкулёзной больницы и Пермского краевого центра по борьбе и профилактике со СПИД

и инфекционными заболеваниями. ДНК собранных изолятов выделяли и генотипировали методами MIRU-VNTR по 24 локусам и методом делеционного анализа по RD 105 и 207, как описано ранее [1]. Кроме того, проведено дополнительное выявление субтипа B0/W148 генотипа Beijing по методике, предложенной И.В. Мокроусовым [8]. Сравнение генотипов из Пермского края (ПК) и ИО проводилось с 311 MIRU-VNTR профилями (24 локуса) возбудителя, циркулировавшего в 2010–2015 гг. в ИО.

Всего исследовано 64 и 78 штаммов *M. tuberculosis* от соответствующего количества больных из ПК и ИО. Обследованные больные не имели значимых различий по полу и возрасту. В ПК средний возраст пациентов составил $34,5 \pm 0,9$ года, в ИО – $34,4 \pm 1,5$ года. В выборках было 67,2 и 65,4 % мужчин соответственно. Статистическую обработку данных проводили в редакторе электронных таблиц MS Excel 7.0 и пакете статистических программ Statistica for Windows v. 6.0. Значимость различий между параметрами оценивали с помощью непараметрического критерия χ^2 . Различия считали статистически значимыми при $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Данные настоящего исследования (табл. 1) показывают исключительно высокую долю генотипа Beijing и МЛУ/ШЛУ в выборке штаммов из ПК. Если в ИО спектр полученных генотипов значимо не отличается от ранее полученных данных по региону [2], то в выборке из ПК концентрация генотипа Beijing и МЛУ/ШЛУ штаммов значимо превосходит аналогичные показатели из ИО. Следует отметить, что проводимые в последнее десятилетие аналогичные молекулярно-генетические исследования в России [3, 8, 9] ни в одном из регионов не выявили такой высокой концентрации генотипа Beijing, какая была обнаружена в ПК – 92,2 % против 59,0 % в ИО ($\chi^2 = 20,1$; $p < 0,01$). При этом в выборке из ПК выявлена более высокая доля вирулентного штамма B0/W148, по сравнению с ИО (34,4 и 23,1 % соответственно). Несмотря на отсутствие значимых различий между приведёнными показателями выявленный тренд может свидетельствовать об активном эпидемическом распространении среди ВИЧ-больных ПК именно этого

Таблица 1
Распределение исследуемых изолятов МБТ в Пермском крае и Иркутской области по основным генотипам и лекарственной устойчивости

Характеристика изолятов	Региональные результаты		χ^2 ; p
	Пермский край (n = 64)	Иркутская область (n = 78)	
МЛУ/ШЛУ (абс., %)	51 (79,7 %)	32 (41,0 %)	20,0; p < 0,01
Генотип Beijing (абс., %)	59 (92,2 %)	46 (59,0 %)	20,1; p < 0,01
Субтип B0/W148	22 (34,4 %)	18 (23,1 %)	нет значимых отличий
Генотип LAM	2 (3,1 %)	6 (7,6 %)	нет значимых отличий
Генотип Ural	2 (3,1 %)	1 (1,3 %)	нет значимых отличий
Общее количество микст-генотипов	9 (14,1 %)	10 (12,8 %)	нет значимых отличий
Количество микст-генотипов с субтипом B0/W148	7 (10,9 %)	4 (5,1 %)	нет значимых отличий

наиболее вирулентного и трансмиссивного штамма возбудителя ТБ в России [8].

Полученные результаты отражают высокую распространённость МЛУ/ШЛУ вариантов возбудителей среди ВИЧ-ТБ-инфицированных, и в среднем по двум регионам этот показатель превысил 50 %. Считается, что более частая лекарственная устойчивость у больных ВИЧ-инфекцией связана с синдромом мальабсорбции [5]. Однако для многих регионов России, в которых заболеваемость туберкулёзом превысила эпидемический порог или близка к нему, высока доля МЛУ возбудителя первичного туберкулёза.

Больные ВИЧ-инфекцией, сочетанной с ТБ, в силу своего иммунодефицита должны быть наиболее подвержены воздействию высокотрансмиссивных эпидемических генотипов возбудителя ТБ. Например, субтип В0/W148 генотипа Beijing, по оценкам некоторых авторов, может в десятки раз более эффективно передаваться от человека к человеку [8]. С этой точки зрения, значимое увеличение распространённости микст-культур (микст-генотипов) при анализе молекулярно-генетических свойств исследуемого возбудителя может являться косвенным свидетельством повторного заражения ТБ больного новым и зачастую более вирулентным штаммом. Другими словами, обнаруженное большое количество случаев смешанных генотипов, большая часть которых несёт высоковирулентный субтип В0/W148, может означать эпидемическое распространение этих штаммов среди больных ВИЧ-инфекцией, сочетанной с ТБ. С учётом того, что в рамках стандартов оказания медицинской помощи больным ВИЧ-инфекцией и ТБ выявить это событие невозможно, такие случаи остаются за пределами внимания как фтизиатров и инфекционистов, так и эпидемиологов. Несмотря на то, что между выборками нет отличий по числу смешанных генотипов, их количество (10 (12,8 %) случаев) в ПК более чем в два раза превышает число микст-культур, выявленных в ИО за последние 5 лет от ВИЧ-негативных больных ТБ (данные получены при анализе 311 штаммов с гомологичными MIRU-VNTR-профилями из ИО, циркулировавших в 2010–2015 гг.). Среди изолятов МБТ от ВИЧ-негативных из ИО обнаружено только 13 смешанных генотипов (4,2 %), что значительно меньше ($\chi^2 = 6,4$; $p < 0,01$), по сравнению с больными ВИЧ-инфекцией, сочетанной с ТБ. К настоящему моменту неизвестен полный спектр генотипов ТБ в ПК среди ВИЧ-негативных. Соответственно, можно констатировать необходимость углублённого исследования спектра генотипов возбудителя ТБ не только среди ВИЧ-позитивных, но и среди ВИЧ-негативных больных ТБ в ПК. Это тем более важно, что выявленные тренды могут свидетельствовать о том, что в данном регионе идёт процесс активной диссеминации высоковирулентных штаммов среди лиц с иммунным дефицитом.

Настоящее исследование выполнено при поддержке гранта РФФИ 16-04-00160.

ЛИТЕРАТУРА REFERENCES

1. Жданова С.Н., Огарков О.Б., Степаненко Л.А., Лац А.А., Синьков В.В., Унтанова Л.С., Алексеева Г.И.,

Савилов Е.Д. Применение делеционного анализа по RD105 для выявления генотипа Пекин *Mycobacterium tuberculosis* // Бюл. ВСНЦ СО РАМН. – 2011. – № 2. – С. 194–197.

Zhdanova SN, Ogarkov OB, Stepanenko LA, Lats AA, Sinkov VV, Untanova LS, Alekseeva GI, Savilov ED (2011). Deletion analysis by RD105 for the detection of *Mycobacterium tuberculosis* Beijing genotype [Primenenie deletsionnogo analiza po RD105 dlya vyavleniya genotipa Pekin *Mycobacterium tuberculosis*]. *Bulleten' Vostocno-Sibirskogo nauchnogo centra*, (2), 194-197.

2. Жданова С.Н., Алексеева Г.И., Огарков О.Б., Кравченко А.Ф., Зоркальцева Е.Ю., Винокурова М.К., Савилов Е.Д. Сравнительный анализ генотипов *Mycobacterium tuberculosis* в республике Саха (Якутия) и Иркутской области // Якутский медицинский журнал. – 2013. – № 1. – С. 68–71.

Zhdanova SN, Alekseeva GI, Ogarkov OB, Kravchenko AF, Zorkaltseva EY, Vinokurova MK, Savilov ED (2013). Comparative analysis of *Mycobacterium tuberculosis* in the Republic of Sakha (Yakutia) and in Irkutsk Region [Sravnitel'nyy analiz genotipov *Mycobacterium tuberculosis* v respublike Sakha (Yakutiya) i Irkutskoy oblasti]. *Yakutskiy meditsinskiy zhurnal*, (1), 68-71.

3. Савилов Е.Д., Синьков В.В., Огарков О.Б. Пекинский генотип *M. tuberculosis* // Эпидемиология и инфекционные болезни. – 2010. – № 4. – С. 50–53.

Savilov ED, Sinkov VV, Ogarkov OB (2010). Beijing genotype of *M. tuberculosis* [Pekinskiy genotip *M. tuberculosis*]. *Epidemiologiya i infeksionnye bolezni*, (4), 50-53.

4. Bryant JM, Harris SR, Parkhill J (2013). Whole-genome sequencing to establish relapse or re-infection with *Mycobacterium tuberculosis*: a retrospective observational study. *Lancet Respiratory Medicine*, 1 (10), 786-792.

5. Casey K (1997). Malnutrition associated with HIV/AIDS. Part one: Definition and scope, epidemiology, and pathophysiology. *J. Assoc. Nurses AIDS Care*, (8), 3.

6. Hanekom M, Streicher EM, Van de Berg D (2013). Population structure of mixed *Mycobacterium tuberculosis* infection is strain genotype and culture medium dependent. *PLoS One*, 30, 8 (7), e70178.

7. Heysell SK, Ogarkov OB, Zhdanova S, Zorkaltseva E, Shugaeva S, Gratz J, Vitko S, Savilov ED, Koshcheyev ME, Houpt ER (2016). Undertreated HIV and drug-resistant tuberculosis at a referral hospital in Irkutsk, Siberia. *Int. J. Tuberc. Lung Dis.*, 20 (2), 187-192.

8. Mokrousov I, Narvskaya O, Vyazovaya A, Otten T, Jiao WW, Gomes LL, Suffys PN, Shen AD, Vishnevsky B (2012). Russian "successful" clone B0/W148 of *Mycobacterium tuberculosis* Beijing genotype: a multiplex PCR assay for rapid detection and global screening. *J. Clin. Microbiol.*, 50 (11), 3757-3759.

9. Ogarkov O, Zhdanova S, Savilov E, Mokrousov I, Sinkov V, Antipina S (2012). "Lethal" combination of *Mycobacterium tuberculosis* Beijing genotype and human CD209-336G allele in Russian male population. *Infection, Genetics and Evolution*, (4), 732-736.

10. Tanaka MM, Francis AR (2006). Detecting emerging strains of tuberculosis by using spoligotypes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, (41), 15266-15271.

Информация об авторах
Information about the authors

Микова Оксана Евстигнеевна – заместитель главного врача по лечебной работе ГКУЗ ПК «Пермский краевой центр по борьбе и профилактике со СПИД и инфекционными заболеваниями» (614088, г. Пермь, ул. Архитектора Свиязева, 21; тел.: 8 (342) 223-72-62; e-mail: mikovaoe@mail.ru)

Mikova Oksana Evstigneevna – Deputy Chief Physician of Perm Regional AIDS Centre (614088, Perm, Arkhitektor Sviyazev str.; tel.: +7 (342) 223-72-62; e-mail: mikovaoe@mail.ru)

Жданова Светлана Николаевна – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник отдела эпидемиологии и микробиологии ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16; тел.: 8 (3952) 33-34-25; e-mail: svetnii@mail.ru)

Zhdanova Svetlana Nikolaevna – Candidate of Medical Sciences, Senior Research Officer of the Department of Epidemiology and Microbiology of Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems (664003, Irkutsk, Timiryazev str., 16; tel.: +7 (3952) 33-34-25; e-mail: svetnii@mail.ru)

Сергеев Виктор Иванович – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой эпидемиологии и курсом гигиены и эпидемиологии факультета дополнительного образования ГБОУ ВПО «Пермский государственный медицинский университет имени академика Е.А. Вагнера» (614990, г. Пермь, ул. Луначарского, 72; тел.: 8 (342) 236-29-38; e-mail: viktor-sergevnin@mail.ru)

Sergevnik Viktor Ivanovich – Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Epidemiology and Hygiene and Epidemiology Course of the Faculty of Extended Education of Perm State Medical University (614990, Perm, Lunacharskiy str., tel.: +7 (342) 236-29-38; e-mail: viktor-sergevnin@mail.ru)

Сармометов Евгений Валерьевич – кандидат медицинских наук, главный врач ГКУЗ ПК «Пермский краевой центр по борьбе и профилактике со СПИД и инфекционными заболеваниями» (e-mail: sarmometov67@mail.ru)

Sarmometov Evgeniy Valeryevich – Candidate of Medical Sciences, Chief Physician of Perm Regional AIDS Centre (e-mail: sarmometov67@mail.ru)

Обгарков Олег Борисович – доктор медицинских наук, заведующий отделом эпидемиологии и микробиологии ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (e-mail: obogarkov@yandex.ru)

Ogarkov Oleg Borisovich – Doctor of Medical Sciences, Head of the Department of Epidemiology and Microbiology of Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems (e-mail: obogarkov@yandex.ru)

Варецкая Татьяна Альбертовна – заведующая бактериологической лабораторией ГКУЗ ПК «Пермский краевой центр по борьбе и профилактике со СПИД и инфекционными заболеваниями»

Varetskaya Tatyana Albertovna – Head of Bacteriological Laboratory of Perm Regional AIDS Centre

Новицкая Ольга Николаевна – доктор медицинских наук, заведующая кафедрой фтизиопульмонологии ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России (664003, г. Иркутск, ул. Красного Восстания, 1; тел.: 8 (3952) 24-38-25; e-mail: olga.nova56@gmail.com)

Novitskaya Olga Nikolaevna – Doctor of Medical Sciences, Head of the Department of Phthisiopulmonology of Irkutsk State Medical University (664003, Irkutsk, Krasnogo Vosstania str., 1; tel.: +7 (3952) 24-38-25; e-mail: olga.nova56@gmail.com)

Хромова Полина Андреевна – младший научный сотрудник отдела эпидемиологии и микробиологии ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (e-mail: polina.and38@gmail.com)

Khromova Polyna Andreyevna – Junior Research Officer of the Department of Epidemiology and Microbiology of Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems (e-mail: polina.and38@gmail.com)

Савилов Евгений Дмитриевич – доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник отдела эпидемиологии и микробиологии ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (e-mail: savilov47@gmail.com)

Savilov Evgeny Dmitrievich – Doctor of Medical Sciences, Professor, Chief Research Officer of the Department of Epidemiology and Microbiology of Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems (e-mail: savilov47@gmail.com)

Кощеев Михаил Ефимович – кандидат медицинских наук, главный врач ОГБУЗ «Иркутская областная клиническая туберкулезная больница» (664049, г. Иркутск, ул. Терешковой, 59; тел.: 8 (3952) 38-72-61; e-mail: kme@mail.ru)

Koshcheev Mikhail Yefimovich – Candidate of Medical Sciences, Chief Physician of Irkutsk Regional Clinical TB Hospital (664049, Irkutsk, Tereshkova str., 59; tel.: +7 (3952) 38-72-61; e-mail: kme@mail.ru)

Шмагин Дмитрий Владимирович – врач-эпидемиолог ГКУЗ ПК «Пермский краевой центр по борьбе и профилактике со СПИД и инфекционными заболеваниями» (e-mail: 30dyma@rambler.ru)

Shmagin Dmitriy Vladimirovich – Epidemiologist of Perm Regional AIDS Centre (e-mail: 30dyma@rambler.ru)