

УДК 616-002.5-079.4:577.21:615.015.8

П. Б. Антоненко, В. Й. Кресюн, В. В. Філок, К. О. Антоненко, В. Г. Стокяч, Н. Я. Коротич
Одеський національний медичний університет, Одеський обласний протитуберкульозний
диспансер, м. Одеса

СУЧАСНИЙ СТАН МЕДИКАМЕНТОЗНОЇ РЕЗИСТЕНТНОСТІ ЗБУДНИКА ТУБЕРКУЛЬОЗУ ТА МОЖЛИВОСТІ ЇЇ ГЕНОТИПІЧНОГО ВИЗНАЧЕННЯ

Останнім часом для діагностики резистентності *Mycobacterium tuberculosis* (МБТ) все більше значення набуває метод полімерно ланцюгової реакції (ПЛР). Тому метою даного дослідження було вивчити розповсюдженість медикаментозної резистентності МБТ та динаміку зміни поширеності мутацій МБТ, що призводять до медикаментозної резистентності, за допомогою ПЛР. Для цього був проведений аналіз бактеріологічних досліджень МБТ на стійкість до протитуберкульозних препаратів I^o ряду у бактеріологічній лабораторії Одеської обласної протитуберкульозної диспансеру (ООПТД) в 2012р. За допомогою ПЛР визначали наявність мутацій в генах *katG*, *inhA*, що відповідають за резистентність до ізоніазиду, в гені *rpoB*, що відповідає за нечутливість до рифампіцину. Отримані дані порівняли з аналогічними даними 2006 року.

Протягом 2000-2006рр. в Одеському регіоні спостерігалось збільшення частки резистентних штамів з наступним зниженням у 2012 р. до рівня 2000-2002 рр. У 2012 році 54,8% виділених культур належали до родини *Beijing*, що характеризується несприятливим перебігом захворювання, у 2006 і 2003 роках цей показник склав 43,0% і 39,6% відповідно. У визначенні медикаментозної резистентності МБТ до ізоніазиду за допомогою ПЛР найбільшу чутливість мала детекція в гені *katG* і/або гені *inhA* (100%), найбільшу специфічність – визначення мутацій в гені *katG* (80,1%). Специфічність методу визначення резистентності до рифампіцину шляхом виявлення мутацій в гені *rpoB* склала 87,0%, чутливість – 90,2%. В 2006 році серед ДНК-ізолятів культур МБТ мутація в гені *rpoB* і *katG* була виявлена в 44,9% і 54,2% штамів відповідно, водночас згідно даних 2012 р. – в 22,1% і 34,6% відповідно.

Ключові слова: ген *katG*, ген *inhA*, ген *rpoB*, медикаментозна резистентність, туберкульоз

Робота є фрагментом НДР «Розробка критеріїв ефективності і безпечності фармакотерапії хворих на туберкульоз і гепатити різної етіології на підставі фармакогенетичних досліджень» № держреєстрації 0113U001634.

Як відомо, з 1995 року в Україні було зареєстровано епідемію туберкульозу (ТБ). Особливістю ТБ процесу в Україні є значна кількість хворих з резистентними формами ТБ - так, частота первинної хіміорезистентності становить від 7 до 25 % хворих у різних регіонах, а вторинна резистентність сягає 75 %, що обумовлює відсутність поліпшення ефективності лікування [2]. Зрозуміло, що чим більше хворих виділяє стійкі штами *M.tuberculosis* (МБТ), тим більша ймовірність здорових осіб інфікуватися хіміорезистентними МБТ. Важливого практичного значення набуває поліхіміорезистентність, а особливо її різновид - мультирезистентність (резистентність до ізоніазиду та рифампіцину) [4].

Основна роль в лабораторній діагностиці резистентності збудника туберкульозу практично у всіх країнах світу належить бактеріологічним методам. Однак останнім часом все більше значення набувають молекулярно-генетичні методи. Зокрема, в 2006 році на прикладі Одеського регіону було доведено значення мутації в гені *katG* і гені *rpoB*, що пов'язані з резистентністю МБТ до ізоніазиду і рифампіцину відповідно, для перебігу та наслідків лікування ТБ [5]. Також в літературі з'явилися дані щодо значення ще однієї мутації МБТ, що спричиняє резистентність до ізоніазиду, а саме мутації в гені *inhA* [7]. Тому доцільним було вивчити інформативність комплексного визначення мутацій в генах *katG* і *inhA* для експрес-діагностики резистентності МБТ до ізоніазиду, а також провести порівняльний аналіз поширеності мутацій у МБТ в Одеському регіоні в 2012 р. і даними попередніх років. Також останнім часом все суттєвіше значення набуває відстеження циркуляції такої родини штамів МБТ як *Beijing*, для якої притаманний високий рівень медикаментозної резистентності. Тому важливим було визначити розповсюдження штамів МБТ родини *Beijing* в Одеському регіоні у порівнянні з даними попередніх років [5].

Метою роботи було вивчити розповсюдженість медикаментозної резистентності МБТ та динаміку поширеності мутацій МБТ, що призводять до медикаментозної резистентності, на прикладі Одеського регіону за допомогою полімеразно-ланцюгової реакції (ПЛР).

Матеріал та методи дослідження. Для вивчення розповсюдженості резистентних штамів *M. tuberculosis* був проведений ретроспективний аналіз бактеріологічних досліджень на стійкість до протитуберкульозних препаратів I^o ряду у бактеріологічній лабораторії Одеської обласної

протитуберкульозного диспансеру (ООПТД) в 2012р. Згідно з наказом МОЗ України № 45 від 06.02.2002р. визначення медикаментозної чутливості виділених культур *M.tuberculosis* необхідно обов'язково проводити до стрептоміцину, ізоніазиду, етамбутолу та рифампіцину [3]. До дослідження були залучені хворі, у яких вперше діагностовано туберкульоз на протязі перших 2-х місяців лікування, що дозволило вивчити первинну медикаментозну резистентність. Для визначення медикаментозної резистентності застосовували метод пропорцій на твердому поживному середовищі Левенштейна-Єнсена із застосуванням стандартних концентрацій протитуберкульозних препаратів.

Виділення культур збудника туберкульозу проводили на базі бактеріологічної лабораторії ООПТД шляхом пасажів одноразової мікробіологічної петлі по пророслим культурам збудника туберкульозу на твердому поживному середовищі Левенштейна-Єнсена та подальшому занесенні отриманих фрагментів культур до одноразового епіндорфа з наступним додаванням розчину хлороформу та утриманням у термостаті при 95°C протягом 20 хвилин.

З'ясування приналежності штамів МБТ до родини *Beijing* проводили із застосуванням метода визначення інсерційної послідовності IS6110 в регіоні між генами *dnaA* і *dnaN* [6]. Для визначення мутацій в гені *katG* проводили ПЛР з використанням трьох праймерів (*katg5R*, *katg0F*, *katg4R*) [1, 8]. За умов відсутності мутації в кодоні 315 гену *katG* ампліфікувався фрагмент, що складався з 292 пар нуклеотидів (п.н.), а при наявності мутації в цьому кодоні ампліфікувався фрагмент з 435-п.н. З метою визначення мутацій в гені *inhA* використовували пару праймерів *mabAF* і *inhARmut*; при наявності мутації в даному гені відбувалась ампліфікація фрагменту у 146 п.н. [7]. Для визначення мутацій в гені *rpoB*, а саме в кодонах 516, 526 та 531 проводили ПЛР з використанням трьох праймерів (*R516B*, *R526B* та *R1R*) [9]. За умов відсутності мутації в кодоні 516, 526 та 531 гена *rpoB* ампліфікувались фрагменти 214, 181 та 167-п.н., відповідно. Обрахунок статистичних даних проводили із залученням Microsoft Excel, програми «Primer Biostatistica».

Результати дослідження та їх обговорення. Загалом було вивчено результати дослідження 104 культури збудника туберкульозу, щодо медикаментозної чутливості. Згідно отриманих даних, серед 104 культур *M.tuberculosis* близько 62 зразків (59,6%) були чутливими до чотирьох препаратів першої лінії, що досліджувались; водночас, нечутливими до рифампіцину були 21,2% культур, до етамбутолу – 13,5% культур (табл.1).

Таблиця 1

Порівняльні дані щодо резистентності збудника туберкульозу до препаратів першого ряду в період 2006-2012 рр.

		2006 р.		2012 р.	
		кількість хворих	%	кількість хворих	%
Чутливість до всіх п'яти препаратів		5	9,3	62	59,6*
Резистент- ність до	ізоніазиду	19	35,2	34	32,7
	рифампіцину	33	61,1	22	21,2*
	стрептоміцину	32	59,3	30	28,8*
	етамбутолу	31	57,4	14	13,5*
	Ізоніазиду і рифампіцину	12	22,2	22	21,2
чотирьох препаратів I ^{го} ряду		3	5,6	4	3,8
Всього		54	100	104	100

Примітка: * - $P < 0,05$ (відносно даних 2006 р.)

Найбільша резистентність спостерігалась до стрептоміцину – 28,8% культур зі 104 та до ізоніазиду – 32,7% культур. Такі показники як мультирезистентність і резистентність до всіх чотирьох протитуберкульозних препаратів першої лінії спостерігалась відповідно в 22 (21,2%) та 4 (3,8%) випадках з 104, що досліджувались.

При порівнянні отриманих даних з аналогічними показниками, отриманими в 2006 р. в бактеріологічній лабораторії Одеського обласної протитуберкульозної клініки, було встановлено значне зменшення резистентності до окремих протитуберкульозних препаратів (рис.1) [5].

Зокрема первинна резистентність до рифампіцину знизилась в 2,9 разів ($P < 0,05$; $\chi^2 = 25,01$ при критичному значенні тут і далі 3,84), до стрептоміцину – в 2,1 рази ($P < 0,05$; $\chi^2 = 13,79$), до етамбутолу – в 4,3 рази ($P < 0,05$; $\chi^2 = 33,70$). З іншого боку в 6,4 рази зросла кількість хворих, у яких спостерігалась чутливість до всіх п'яти протитуберкульозних препаратів I^{го} ряду ($P < 0,05$; $\chi^2 = 36,90$). Водночас майже не змінилась поширеність первинної мультирезистентності і одночасної резистентності до всіх чотирьох протитуберкульозних препаратів I^{го} ряду, що досліджувалась.

Зменшення кількості резистентних штамів з медикаментозною резистентністю безумовно є позитивною ознакою у боротьбі з туберкульозом. Зменшення резистентності можливо із загальним поліпшенням ситуації з туберкульозом у період 2005-2012 рр., коли захворюваність і смертність від

туберкульозу вперше за новітню історію України мала тенденцію до зниження. З іншого боку розбіжності у показниках медикаментозної резистентності можливо пов'язані із різною важкістю вперше діагностованого туберкульозу у хворих, які перебували на лікуванні, а також поліпшенням методів діагностики медикаментозної резистентності. Водночас рівень первинної мультирезистентності за період 2006-2012 рр. практично не змінився і залишається на рівні 21-22%. Згідно рекомендацій Всесвітньої організації охорони здоров'я рівень первинної мультирезистентності не повинен перевищувати 5%, більш високий рівень асоціюється з більш агресивним перебігом захворювання і складностями у підборі ліків для хіміотерапії. Аналізуючи вищенаведені дані, а також результати раніш проведених досліджень про частоту виявлення медикаментозно резистентних штамів *M.tuberculosis* в Одеському регіоні, можна зробити висновок про виражену тенденцію до збільшення частки резистентних і мультирезистентних штамів протягом 2000-2006 рр. з наступним їх зниженням на відрізку 2006-2012 рр. Отже, у 2012 р. рівень первинної резистентності до найбільш ефективних протитуберкульозних препаратів після підйому в 2006 р. зараз наблизився до рівня 2000-2002 рр.

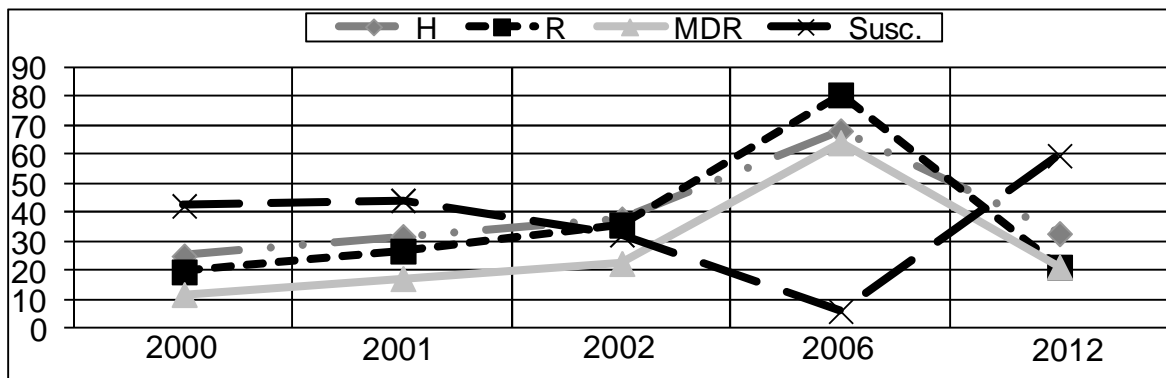


Рис. 1 Динаміка набутої резистентності збудника туберкульозу до протитуберкульозних препаратів на протязі 2000-2012 рр. в Одеському регіоні. Примітки: 1. по осі ординат: рівень резистентності; 2. по осі абсцис: рік дослідження; 3. H - ізоніазид, R - рифампіцин, MDR - мультирезистентність, susc. - чутливість до всіх 5-ти препаратів першого ряду.

Згідно проведених досліджень у 2012 році зі 104 виділених культур 57 (54,8%) належали до родини *Beijing*. У 2006 і 2003 році при аналогічному дослідженні на базі Одеської обласної протитуберкульозної клініки поширеність даної родини складала 43,0% і 39,6%. Тобто спостерігається подальше поширення штамів родини *Beijing*, що характеризується несприятливим перебігом захворювання і високою медикаментозною резистентністю.

Із загального числа культур збудника туберкульозу 34 зразки були резистентні до ізоніазиду (32,7 %) і 70 зразків був чутливим до ізоніазиду (67,3%). Серед 34 культур з резистентністю до ізоніазиду 85,3 % мали мутацію в кодоні 315 гена *katG* і 14,7 % не мали такої мутації (табл. 2; рис. 2). З 70 культур, що були ізоніазид-чутливі, 90,0 % не мали мутації, що досліджувалась і 10,0 % мали таку мутацію, тобто мутації в гені *katG*, тобто мутація в гені *katG* зустрічалась в 8,5 разів частіше у ізоніазид-резистентних штамів, ніж серед ізоніазид-чутливих штамів ($P < 0,05$; $\chi^2 = 57,32$). Серед 36 ізолятів, що мали мутацію в гені *katG*, 29 (80,1%) були резистентними, згідно з даними культурального методу, водночас 7 (19,9%) були чутливими до дії ізоніазиду. Далі, серед 68 ізолятів, що не мали мутації, 63 культури (92,6%) були чутливими до дії ізоніазиду, а 5 (7,4%) - було резистентними. Отже, специфічність даного методу визначення резистентності до ізоніазиду складала 80,1 %, чутливість – 85,3%. Згідно попередніх даних, отриманих в 2006 році, серед ДНК-ізолятів культур збудника туберкульозу мутація в кодоні 315 гена *katG* була виявлена в 54,2 %, згідно даних 2012 р. – 34,6%. Треба враховувати, що в 2006 році більша частина культур збудника туберкульозу була отримана від хворих, які знаходились на лікуванні понад 2 місяці, водночас в 2012 році культури були отримані від хворих, у яких вперше діагностовано туберкульоз і щойно розпочато лікування.

Мутація в гені *inhA* зустрічалась у 58,8% ізоніазид-резистентних штамів і у 11,4% ізоніазид-чутливих штамів (табл.2; рис.2). Отже, мутація в гені *inhA* відзначалась у ізоніазид-резистентних штамів в 5,2 рази частіше, ніж серед штамів збудника туберкульозу, що були чутливими до ізоніазиду ($P < 0,05$; $\chi^2 = 58,93$). З числа 28 ізолятів, що мали мутацію в гені *inhA* 20 зразків (71,4%) були резистентними до дії ізоніазиду, решта – 8 зразків (28,6%) – були чутливими до ізоніазиду. Водночас серед 76 культур, що не мали мутації в гені *inhA*, 18,4% були резистентними до ізоніазиду, 81,6% -

чутливими до ізоніазиду. Таким чином, специфічність визначення резистентності до ізоніазиду за допомогою детекції мутації в гені *inhA* становила 71,4%, чутливість – 58,8%.

Таблиця 2

Поширеність мутації в гені *katG*, гені *inhA* і гені *rpoB* у збудника туберкульозу

Мутації	Дані культурального методу	
	Наявність мутації	Відсутність мутації
Мутації в гені <i>katG</i>		
Ізоніазид-резистентність, n=34	29*	5
Ізоніазид-чутливість, n=70	7	63
Мутації в гені <i>inhA</i>		
Ізоніазид-резистентність, n=34	20*	14
Ізоніазид-чутливість, n=70	8	62
Мутації в гені <i>katG</i> і/або <i>inhA</i>		
Ізоніазид-резистентність, n=34	34*	0
Ізоніазид-чутливість, n=70	14	56
Мутації в гені <i>rpoB</i>		
Рифампіцин-резистентність, n=22	20*	2
Рифампіцин-чутливість, n=82	2	80

Примітка. * - $P < 0,05$ (відносно хворих, які виділяли ізоніазид-чутливі або рифампіцин-чутливі штами збудника туберкульозу).

Примітки: 1. * - $P < 0,05$ (відносно хворих, що з мутацією в гені *katG*).

Всі 34 культури з резистентністю до ізоніазиду мали мутацію в гені *katG* і/або гені *inhA* (табл. 2; рис. 2). З 70 культур, що були ізоніазид-чутливі, 76,7 % не мали мутацій, що досліджувались, і 23,3 % мали мутацію в гені *katG* і/або гені *inhA*, тобто мутації, що досліджувались, зустрічались значно частіше у ізоніазид-резистентних штамів, ніж серед ізоніазид-чутливих штамів ($P < 0,05$; $\chi^2 = 58,93$). Серед 48 ізолятів, що мали мутацію в гені *katG* і/або гені *inhA*, 34 (70,8%) були резистентними, згідно з даними культурального методу, водночас 14 (29,2%) були чутливими до дії ізоніазиду. Далі, всі 68 ізоляти, що не мали мутацій, які досліджувались, були чутливими до дії ізоніазиду. Отже, специфічність методу визначення резистентності до ізоніазиду шляхом виявлення мутації в гені *katG* і/або гені *inhA* склала 70,8%, чутливість – 100%.

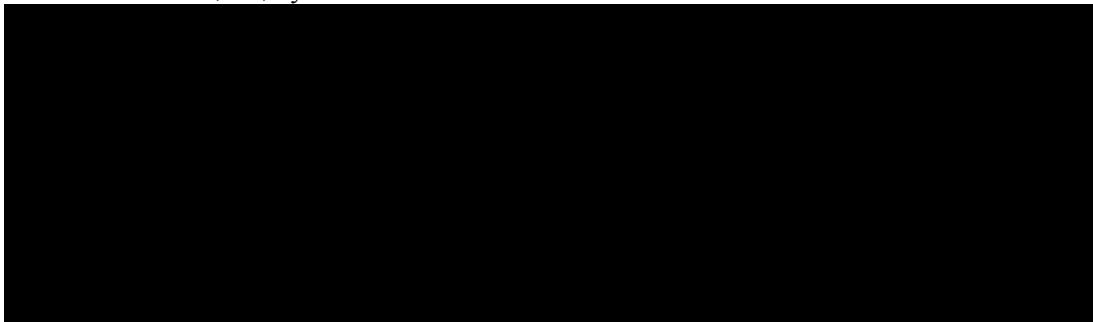


Рис. 2 Рівень ізоніазид-резистентності серед хворих на туберкульоз. по осі ординат: 1/2 – наявність/відсутність мутації в гені *katG*; 3/4 – наявність/відсутність мутації в гені *inhA*; 5/6 – наявність/відсутність мутації в гені *katG* і/або *inhA*; Примітки: 1. * - $P < 0,05$ (відносно хворих, що з мутацією в гені *rpoB*); 2. по осі абсцис: 1/2 – наявність/відсутність мутації в гені *rpoB*.

За даними ПЛР у 2012 році поширеність мутацій в гені *rpoB*, що досліджувались, зустрічалась у 23 ізолятів з 104 штамів (22,1%). Згідно попередніх даних отриманих в 2006 році серед ДНК-ізолятів культур збудника туберкульозу мутація в гені *rpoB* була виявлена в 44,9%, згідно даних 2012 р. – майже вдвічі менше. Як і в випадку з геном *katG* треба враховувати, що в 2006 році більша частина культур збудника туберкульозу була отримана від хворих, які знаходились на лікуванні понад 2 місяців, водночас в 2012 році культури були отримані від хворих, у яких вперше діагностовано туберкульоз і щойно розпочато лікування.

За даними 2006 року з числа мутацій в гені *rpoB* 4,2% склали мутації в кодоні 516 гена *rpoB*; 14,6 % - мутації в кодоні 526, і решта – 81,3% - мутації в кодоні 531. В 2012 році серед мутуваних штамів ізольована мутація в кодоні 516 зустрічалась у 8,7%; в кодоні 526 – у 4,3%; в кодоні 531 – у 73,9%; також в 13,1% випадках зустрічались поєднанні комбінації в кодонах 516/526/531. Таким чином, як в 2006 р., так і в 2012 р. більшість мутацій в гені *rpoB* склали заміни в кодоні 531. Водночас, на відміну від 2006 р., в 2012 р. відзначались одночасні мутації відразу в усіх трьох локусах 516/526/531 ($P < 0,05$; $\chi^2 = 6,84$).

За даними 2012 року 20 культур з резистентністю до рифампіцину мали мутацію в гені *rpoB* (табл. 2; рис. 3).



Рис. 3 Рівень рифампіцин-резистентності серед хворих на туберкульоз, які мали / не мали мутацію в кодонах 516, 526 і 531 гену *rpoB*.

Мутація в гені *rpoB* зустрічались у 90,2% рифампіцин-резистентних штамів і у 3,6% рифампіцин-чутливих штамів. З числа 81 культур, що були рифампіцин-чутливі, 96,4 % не мали мутацій, що досліджувалась, тобто мутації, що досліджувались, зустрічались значно частіше у рифампіцин-резистентних штамів, ніж серед ізоніазид-чутливих штамів ($P < 0,05$; $\chi^2 = 77,64$). Серед 23 ізолятів, що мали мутацію в гені *rpoB*, 20 (87,0%) були резистентними, згідно з даними культурального методу, водночас 3 (13,0%) були чутливими до дії рифампіцину. Отже, специфічність методу визначення резистентності до рифампіцину шляхом виявлення мутації в гені *rpoB* склала 87,0%, чутливість – 90,2%.

Висновки

1. На протязі 2000-2006рр. в Одеському регіоні спостерігалось збільшення частки резистентних і мультирезистентних штамів з наступним зниженням у 2012 р. Причому показники медикаментозної резистентності МБТ до найбільш ефективних протитуберкульозних препаратів у 2012 р. наблизився до рівня 2000-2002 рр.
2. У 2012 році 54,8% виділених культур належали до родини *Beijing*. У 2006 і 2003 році поширеність штамів даної родини складала 43,0% і 39,6%. Тобто спостерігається подальше поширення штамів родини *Beijing*, що характеризується несприятливим перебігом захворювання і високою медикаментозною резистентністю.
3. У визначенні медикаментозної резистентності збудника туберкульозу до ізоніазиду за допомогою ПЛР найбільшу чутливість мала детекція в гені *katG* і/або гені *inhA* (100%), найбільшу специфічність – ізольоване визначення мутації в гені *katG* (80,1%). Специфічність методу визначення резистентності до рифампіцину шляхом виявлення мутації в гені *rpoB* склала 87,0%, чутливість – 90,2%.
4. Згідно попередніх даних отриманих в 2006 році серед ДНК-ізолятів культур збудника туберкульозу мутація в гені *rpoB* і *katG* була виявлена в 44,9% і 54,2% штамів відповідно, згідно даних 2012 р. – в 22,1% і 34,6% відповідно. Водночас в 2006 році більша частина культур збудника туберкульозу була отримана від хворих на хронічний або рецидивуючий туберкульоз, а в 2012 році - від хворих, у яких вперше діагностовано туберкульоз і щойно розпочато лікування.

Список літератури

1. Висновок про видачу деклараційного патенту UA, МПК (2006): А61К 31/00, С12Q1/68, С12R1/32 (2007.01) Одеський державний медичний університет. Антоненко К.О., Кресюн В.Й., Антоненко П.Б. Заявка №u200708746 Заявлено 30.07.2007 Склад реактивної суміші для діагностики резистентності до ізоніазиду збудника туберкульозу.
2. Мельник В. М. Аналітичний погляд на проблему хіміорезистентного туберкульозу: нинішній стан, досягнення та деякі не вирішені питання / В. М. Мельник [та ін.] // Український пульмонологічний журнал. – 2012. - № 1. – С. 5-7.
3. Наказ МОЗ України № 45 від 06.02.2002р. „Про запровадження інструкції з бактеріологічної діагностики туберкульозної інфекції”.
4. Фещенко Ю. І. Оцінка контролю за туберкульозом в Україні за період 2006–2010 роки / Ю. І. Фещенко, В. М. Мельник, В. Г. Матусевич [та ін.] // Український пульмонологічний журнал. – 2011. - № 4. – С. 5-10.
5. Antonenko P. B. Mutations leading to drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* infection in Ukraine / P. B. Antonenko, V. I. Kresyun, K. O. Antonenko // Central European Journal of Medicine - 2010. - Vol. 5, N1. - P. 30-35.
6. Banu S. Genotypic analysis of *Mycobacterium tuberculosis* in Bangladesh and prevalence of the Beijing strain / S. Banu, Gordon V. Stephen [et al.] // J Clin Microbiol. – 2004. - №42 (2). – P.674–682.
7. Laura Herrera-Leon. New multiplex PCR for rapid detection of isoniazid-resistant *Mycobacterium tuberculosis* clinical isolates / Laura Herrera-Leon, Tamara Molina, Pilar Saiz [et al.] // Antimicrobial agents and chemotherapy. – 2005. – Vol. 49, N 1. – P. 144-147.
8. Mokrousov I. Detection of isoniazid-resistant *Mycobacterium tuberculosis* strains by a multiplex allele-specific PCR assay targeting *katG* codon 315 variation / Igor Mokrousov, Tatiana Otten, Maxim Filipenko [et al.] // J Clin Microbiol. – 2002. - Vol., N2. – P. 2509–2512.
9. Mokrousov I. Allele-specific *rpoB* assays for detection of rifampin-resistant *Mycobacterium tuberculosis* in sputum smears / I. Mokrousov, T. Otten, V. Vyshnevskiy [et al.] // Antimicrobial agents and chemotherapy. – 2003. – Vol. 47, №7. – P. 2231-2235.

Реферати

СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ МЕДИКАМЕНТОЗНОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ ВОЗБУДИТЕЛЯ ТУБЕРКУЛЕЗА И ВОЗМОЖНОСТИ ЕГО ГЕНОТИПИЧЕСКОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ

Антоненко П.Б., Кресюн В. И., Филок В. В., Антоненко Е.А., Стокич В. Г., Коротич Н. Я.

В последнее время для диагностики резистентности *Mycobacterium tuberculosis* (МБТ) все большее значение приобретает метод полимеразно-цепной реакции (ПЦР). Поэтому целью данной работы было изучение распространения лекарственной резистентности МБТ и динамики изменения распространения мутаций МБТ, приводящих к лекарственной резистентности, с помощью ПЦР. Для этого был проведен анализ бактериологических исследований МБТ относительно устойчивости к противотуберкулезным препаратам I^o ряда в бактериологической лаборатории Одесского областного противотуберкулезного диспансера (ООПТД) в 2012г. С помощью ПЦР определяли наличие мутаций в генах *katG*, *inhA*, которые отвечают за резистентность к изониазиду, в гене *rpoB*, которые ассоциируются с нечувствительностью к рифампицину. Полученные данные сравнивали с аналогичными данными 2006 года.

В период 2000-2006 гг. в Одесском регионе наблюдалась увеличение резистентных штаммов с последующим снижением в 2012 г. до уровня 2000-2002 гг. В 2012 году 54,8% выделенных культур принадлежали к семейству *Beijing*, которое характеризуется неблагоприятным течением заболевания, в 2006 и 2003 роках этот показатель составлял 43,0% и 39,6% соответственно. При определении лекарственной резистентности МБТ к изониазиду с помощью ПЦР, наибольшая чувствительность наблюдалась при детекции мутаций в гене *katG* и/или гене *inhA* (100%), наибольшая специфичность – при детекции мутации в гене *katG* (80,1%). Специфичность метода определения резистентности к рифампицину путем выявления мутаций в гене *rpoB* составила 87,0%, чувствительность – 90,2%. В 2006 году среди ДНК-изолятов культур МБТ мутация в гене *rpoB* и *katG* была выявлена в 44,9% и 54,2% штаммов соответственно, в тоже время согласно данных 2012 г. – в 22,1% и 34,6% соответственно.

Ключевые слова: ген *katG*, ген *inhA*, ген *rpoB*, лекарственная резистентность, туберкулез.

Стаття надійшла 10.06.2014 р.

CURRENT STATUS OF DRUG-RESISTANCE OF M.TUBERCULOSIS AND POSSIBILITY OF ITS GENOTYPING DETECTION

Antonenko P.B., Kresyun V.I., Filuk V.V., Antonenko K.O., Stokich V.G., Korotich N.Ya.

Recently a method of polymerase-chain reaction (PCR) is getting more value than before for detection of drug-resistance of *Mycobacterium tuberculosis* strains (MBT). Thus the goal of the present study was to evaluate the spreading of MBT drug-resistance and dynamics of spreading of the mutations, which lead to drug-resistance, in MBT genotype with the help of PCR. It was done an analysis of drug-susceptible tests for Ist line antituberculosis drugs in bacteriological department of Odessa district antituberculosis dispensary in 2012. By the PCR it was done the detection of mutations in *katG*, *inhA* genes, which are responsible for isoniazid-resistance, and in *rpoB* gene that are associated with rifampicin-resistance. The obtained data has been compared with results of 2006 research.

According to received data during 2000-2006yy. in Odesa region there was a significant raising of the drug-resistance to the Ist-line antituberculosis agents in MBT. In 2012 y. 54,8% of isolates cultures belonged to Beijing family, which is characterized by severe course of tuberculosis (TB), in 2006 and 2003 this index was 43,0% and 39,6% correspondently. During detection of isoniazid-resistance of MBT by PCR-method it was found that the finding of mutation in *katG* and/or *inhA* gene had the highest sensitivity (100%), while finding of mutation in *katG* gene had the primary selectivity (80,1%). The sensitivity of rifampicin-resistance investigation by detection of mutations in *rpoB* gene was 87,0%, the sensitivity – 90,2%. In 2006 y. among DNA-isolates of MBT cultures the level of the mutations in *rpoB* and *katG* genes was 44,9% and 54,2% correspondently, in the same time in 2012 y. – it was 22,1% and 34,6% correspondently.

Key words: *katG* gene, *inhA* gene, *rpoB* gene, drug-resistance, tuberculosis.

Рецензент Ішейкін К.Є.

УДК 617.7:616.379 – 008.64

І.М. Безкоровайна, Л.К. Воскресенська, В.В. Ряднова, В.О. Добринська
ВДНЗ України «Українська медицина стоматологічна академія», м. Поділля

ЗАЛЕЖНІСТЬ ПАТОЛОГІЧНИХ ЗМІН ОЧНОГО ДНА ВІД ТИПУ ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ

Метою роботи було вивчення відображення особливостей проявів очних змін при різних типах цукрового діабету. Проведено аналіз 34 хворих у яких досліджувалась частота виникнення різних типів офтальмологічних ускладнень цукрового діабету. Встановлено, що товщина сітківки хворих з цукровим діабетом 2 типу більша, ніж у пацієнтів з цукровим діабетом 1 типу. У хворих з цукровим діабетом 1 типу діабетична ретинопатія є більш прогресуючою та перебігає більш злоякісно. Обґрунтована необхідність періодичного проведення оптичної когерентної томографії для можливості кількісної оцінки розвитку офтальмологічних ускладнень.

Ключові слова: цукровий діабет, діабетична ретинопатія, оптична когерентна томографія.

Цукровий діабет (ЦД) – це група метаболічних (обмінних) захворювань, що характеризуються хронічною гіперглікемією внаслідок порушень секреції інсуліну або обох цих чинників. Хронічна гіперглікемія при ЦД супроводжується ураженням, дисфункцією і недостатністю різних органів, особливо очей, нирок, нервів, серця і кровоносних судин [1,2,3,4].

Гостроту проблеми визначає швидкий розвиток очних ускладнень, які спричиняють інвалідність хворих. У різних країнах товариства сліпих на 60–85 % формують хворі на ЦД.