

С.Н. Жданова^{1,6}, О.Б. Огарков^{1,2}, А.Д. Молонов³, М.В. Бадлеева⁴, Л.С. Унтанова⁵,
Е.Д. Савилов^{1,2}, Ю.А. Баранова^{1,6}, Л.В. Тейхриб^{1,6}, П.В. Корнилова⁷

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ГЕНОТИПОВ *M. TUBERCULOSIS* ИЗ ПРИГРАНИЧНЫХ РАЙОНОВ МОНГОЛИИ И РЕСПУБЛИКИ БУРЯТИЯ

¹ ФГБУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» СО РАМН (Иркутск)
² ГБОУ ДПО «Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования»
Минздрава России (Иркутск)
³ Кяхтинский противотуберкулезный диспансер (Кяхта)
⁴ ФГБОУ ВПО «Бурятский государственный университет» (Улан-Удэ)
⁵ Республиканский клинический противотуберкулезный диспансер им. Г.Д. Дугаровой (Улан-Удэ)
⁶ ФГБОУ ВПО «Иркутский государственный университет» (Иркутск)
⁷ ГБОУ ВПО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России (Иркутск)

Исследован MIRU-VNTR генетический полиморфизм 156 штаммов *M. tuberculosis*, циркулирующих на приграничных территориях Монголии и Бурятии. На фоне значительного присутствия штаммов генотипа Beijing (44/57 (77,2 %)) обнаружено превалирование эпидемически значимого субтипа Beijing MIT17 (29/44 (65,9 %)) у пациентов из Монголии.

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

COMPARATIVE STUDY OF *M. TUBERCULOSIS* GENOTYPES FROM BORDER DISTRICTS OF MONGOLIA AND BURYATIA

S.N. Zhdanova^{1,6}, O.B. Ogarkov^{1,2}, A.D. Molonov³, M.V. Badleeva⁴, L.S. Untanova⁵,
E.D. Savilov^{1,2}, U.A. Baranova^{1,6}, L.V. Teykhril^{1,6}, P.V. Kornilova⁷

¹ Scientific Centre of Family Health and Human Reproduction Problems SB RAMS, Irkutsk
² Irkutsk State Medical Academy of Continuing Education, Irkutsk
³ Kyakhta Tuberculosis Dispensary, Kyakhta
⁴ Buryat State University, Ulan-Ude
⁵ Republican Clinical Tuberculosis Dispensary named after G.D. Dugarova, Ulan-Ude
⁶ Irkutsk State University, Irkutsk
⁷ Irkutsk State Medical University, Irkutsk

MIRU-VNTR genetic polymorphism of 156 strains of *M. tuberculosis* was studied. On the background of significant presence of Beijing genotype strains (44/57 (77,2 %)) we discovered prevalence of epidemically significant Beijing subtype MIT17 (29/44 (65,9 %)) in patients from Mongolia.

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

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 12-04-31475 «Исследование филогенетических взаимоотношений основных генотипов *Mycobacterium tuberculosis* по 24 локусам MIRU-VNTR для реконструкции истории эпидемий туберкулеза в прошлом и настоящем на территории Якутии, Бурятии и Иркутской области» и частичной поддержке гранта РФФИ 13-04-00605 «Идентификация SNPs специфических для маловирулентных генотипов *Mycobacterium tuberculosis* методом геномного секвенирования».

ВВЕДЕНИЕ

В 2013 г. в России заболеваемость туберкулезом составила 67,3 на 100 тыс. населения, что свидетельствует о выраженных тенденциях стабилизации ситуации на общероссийском уровне. Однако регистрируемые показатели эпидемиологической обстановки по туберкулезу существенно различаются в субъектах Российской Федерации. Наибольшие значения заболеваемости и смертности регистрируют в ряде субъектов, в основном расположенных в Сибири и на Дальнем Востоке. Республика Бурятия входит в число лидеров по уровням заболеваемости

и смертности от туберкулеза. Генетические исследования популяции возбудителя, циркулирующего на данной территории, свидетельствуют о значительном преобладании штаммов генотипа Пекин, его основных субтипов MIT16 и MIT17, а также уникального субтипа MIT642, которые в равной степени распространены среди монголоидов и славян, длительно проживающих на территории Бурятии. Представляет интерес выяснение причин столь значительного представительства генотипа Пекин, которое может быть связано с миграционными связями с другими регионами России и зарубежья. Монголия, имеющая традиционно тесные отношения с Россией, в частности с Бурятией, характеризуется высокими показателями заболеваемости туберкулезом, особенно в приграничных аймаках [3, 6]. В этой связи целью настоящего исследования стало проведение первичного скрининга генетических особенностей микобактерий, выделенных от впервые выявленных больных туберкулезом легких на территории с интенсивным миграционным потоком из приграничных районов Монголии и Республики Бурятии, и сравнение спектра их генотипов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В настоящем исследовании использованы ДНК микобактерий туберкулеза, выделенные от пациентов с впервые выявленным заболеванием, проходивших лечение в Республиканском противотуберкулезном диспансере, г. Улан-Удэ (жители Бурятии) и при личном обращении жителей приграничных аймаков Монголии в Кяхтинский противотуберкулезный диспансер для исследования мокроты в 2011–2013 гг. Штаммы были получены от пациентов из выборок, значимо не отличающихся по половому и возрастному составу. Мужчины составили три четверти в каждой из выборок (Бурятия – 75,8 % (75/99), Монголия – 75,4 % (43/57)), средний возраст составил $41,3 \pm 3,7$ года (Бурятия) и $39,0 \pm 2,8$ лет (Монголия). ДНК собранных нами изолятов выделяли и генотипировали методами MIRU-VNTR по 12 локусам и методом делеционного анализа по RD 105 и 207, как описано ранее [1, 5]. Статистическую обработку данных проводили в редакторе электронных таблиц MS Excel 7.0 и с использованием пакета статистических программ «Statistica for Windows» (версия 6.0). Значимость различий между параметрами оценивали с помощью непараметрического критерия χ^2 . Различия считали статистически значимыми при $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Генотип Beijing, относящийся к Восточно-Азиатской генетической линии, среди штаммов МБТ, полученных от жителей Монголии, встречался более часто ($\chi^2 = 5,53$; $p = 0,018$), чем в Бурятии (58/99 (58,8 %)). Среди штаммов из Монголии обнаружено 77,2 % (44/57) изолятов Восточно-Азиатской линии в изучаемой выборке, остальные 13 (22,8 %) были отнесены к другим семействам. Эти изоляты были сгруппированы по принадлежности к следующим генетическим семействам: T1 (5 штаммов), LAM и H (по 2 штамма), X3 (1 штамм). Неклассифицирован-

ные по MIRU-VNTR-12 изоляты присутствовали в 3 случаях.

Описанная выше выборка имела также значимые отличия от полученных нами ранее данных по Бурятии [7] по частоте и видам встречающихся субтипов генотипа Beijing и, в частности, от выборки штаммов от впервые выявленных больных туберкулезом легких, находившихся на лечении в Республиканском противотуберкулезном диспансере. Так, у жителей из приграничных аймаков Монголии более часто ($\chi^2 = 20,73$ с поправкой Йейтса $p = 0,0001$) выявляли эпидемически распространенный субтип генотипа Beijing MIT 17 (29/44 (65,9 %)), по сравнению с данными по Бурятии (7/58 (12,1 %)). Другие известные субтипы генотипа Beijing, за исключением MIT 499 и MIT 84, встречались среди больных из Бурятии. Так, MIT 16, 84 и 721 обнаружены в обеих выборках штаммов (рис. 1). Однако изоляты из Бурятии показали более широкое разнообразие генотипа Beijing (MIT 82, 87, 135, 137, 245, 571, 642 и 707), что может быть связано с размером выборки и также другими факторами. Так, половина количества штаммов из Бурятии были получена от больных из Улан-Удэ (48/99 (48,5 %)), и только 5 проанализированных случаев туберкулеза были из приграничных районов, поэтому достаточно сложно на уровне первично скрининга осуществить поиск причинно-следственных связей появления тех или иных единичных субтипов Beijing на сопредельных территориях.

ОБСУЖДЕНИЕ

Выявленное в настоящем исследовании прева-лирование эпидемически значимого субтипа Beijing MIT17 (29/44 (65,9 %)) на фоне значительного присутствия штаммов генотипа Beijing (44/57 (77,2 %)) у пациентов из Монголии требует рассмотрения и осмысления этого феномена. Описанный в глобальной базе данных SITVIT субтип MIT17 соответствует

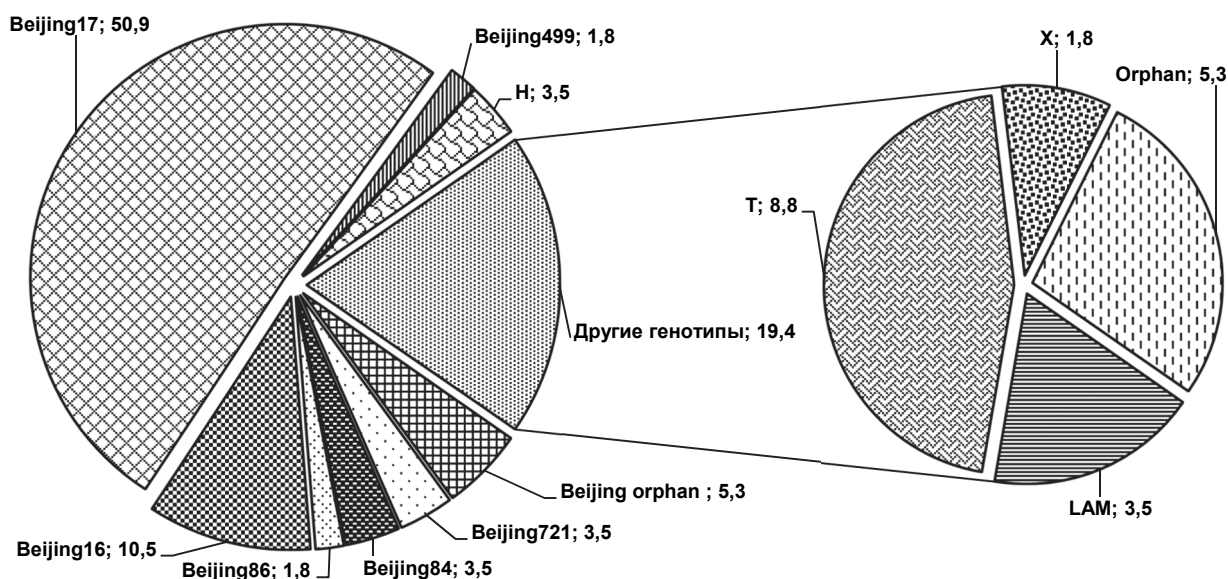


Рис. 1. Структура генотипов штаммов, выделенных от больных туберкулезом, проживающих в северных приграничных районах Монголии (%): указаны название генотипа, MIT (международный номер MIRU-VNTR-профиля в базе данных SITVIT) и процентное количество штаммов выборки.

широко известному высокотрансмиссивному субтипу B0/W148 генотипа Beijing, впервые описанному по результатам сполитипирования, в том числе и 20 штаммов, полученных из Монголии [10]. Важное свойство этого субтипа заключается в широкой распространенности на территории России и некоторых стран бывшего СССР (Украина, Абхазия) и практически полном отсутствии на территории других стран с абсолютным доминированием генотипа Beijing в популяции возбудителя туберкулеза [8].

И.В. Мокроусовым предложена модель возникновения субтипа MIT17 в Новосибирской области и его распространения с волнами миграции населения в СССР в 60–80-е гг. XX в. после освоения целинных земель [8]. Однако полученные нами данные ставят под сомнение постулируемое автором место возникновения субтипа B0/W148/MIT17. Действительно, существует определенная неравномерность распределения этого субтипа по территории России в виде уменьшения доли штаммов микобактерий туберкулеза субтипа MIT17 от восточных областей страны к западным. Однако, по данным И.В. Мокроусова с соавт. [9], вклад штаммов субтипа MIT17 генотипа Beijing в Калининграде достигает 30 % от общего числа изолятов, что соответствовало наибольшей распространенности этого субтипа не только на территории России, но и в мире. Следует принять во внимание, что описываемый субтип MIT 17 не встречается ни на территории внутренней Монголии, более 60 лет назад вошедшей в состав Китая, ни в северных провинциях Китая, граничащего с Монголией [8].

Теперь в рамках обсуждения можно представить иные аргументы относительно места возникновения высоковирулентного и трансмиссивного субтипа MIT17 и причин укоренения этих штаммов на территории России. Рассмотрим возможность возникновения исследуемого субтипа за пределами СССР. Исследуя этот вопрос, И.В. Мокроусов не смог выделить ни одну из стран Восточной и Юго-Восточной Азии в качестве потенциального источника штаммов этого субтипа [8]. Однако при анализе данных различных исследователей были обнаружены данные, свидетельствующие о том, что такими регионами могли быть Монголия и Тува.

Более раннее, чем настоящее, исследование по регионам дифференцирования (RD) на территории Монголии свидетельствует о том, что около 58 % штаммов относились к Восточно-Азиатской генетической линии. Такое количество было близко к распространенности данного семейства на территории России и ряда Юго-Азиатских стран, а также южных провинций Китая [2]. Как было указано выше, нами показано еще более широкое распространение штаммов генотипа Beijing среди больных туберкулезом, жителей северных приграничных аймаков Монголии.

Может быть предложен и другой вариант сценария распространения субтипа MIT17. Наличие изучаемых профилей, обнаруженное в 21,9 % штаммов от общего числа в Туве [4], также говорит в пользу того, что жители этого региона могли быть источником происхождения вышеуказанного субтипа, поскольку Тува только с 1944 г. вошла в состав СССР и всегда

имела достаточно близкий территориальный и культурный контакт с пограничной Монголией.

Исходя из вышеизложенного, в настоящем исследовании в качестве наиболее вероятного места возникновения субтипа MIT17 генотипа Beijing предполагается территория Монголии и Тувы, с которыми как СССР, так и Россию всегда связывали обширные культурно-хозяйственные связи, сопровождающиеся перемещением больших потоков населения в обоих направлениях. Безусловно, без полноценного развернутого исследования штаммов микобактерий туберкулеза, циркулирующих на территории Монголии, нельзя однозначно утверждать, правомочна ли вышеизложенная гипотеза. Поэтому необходимы дальнейшие исследования региона Монголии как возможного источника современного высокотрансмиссивного субтипа генотипа Beijing.

ЛИТЕРАТУРА REFERENCE

1. Жданова С.Н., Огарков О.Б., Степаненко Л.А., Лац А.А. и др. Применение делеционного анализа по RD105 для выявления генотипа Пекин *Mycobacterium tuberculosis* // Бюл. ВСНЦ СО РАМН. – 2011. – № 2. – С. 194–197.
2. Zhdanova S.N., Ogarkov O.B., Stepanenko L.A., Lats A.A. et al. Use of deletion analysis by RD105 for the detection of Beijing genotype of *Mycobacterium tuberculosis* // Bull. ESSC SB RAMS. – 2011. – N 2. – P. 194–197. (in Russian)
3. Кириллова Н.В., Федосова Е.А., Наранбат Н., Оюунтуяа Т. и др. Структура популяции *M. tuberculosis* в Монголии по результатам генотипирования полиморфизмов больших последовательностей // Мол. ген. микробиол. вирусол. – 2011. – № 4. – С. 3–7.
4. Kirillova N.V., Fedosova E.A., Naranbat N., Oyuntuya T. et al. Structure of *M. tuberculosis* population in Mongolia according to the results of genotyping of large-sequence polymorphisms // Molecular Genetics, Microbiology and Virology. – 2011. – N 4. – P. 141–145. (in Russian)
5. Мархаев А.Г., Молонов А.Д., Убеева И.П., Бадлеева М.В. Эпидемиологическая ситуация по туберкулезу в районах приграничных с неблагополучными по туберкулезу странами // Бюл. ВСНЦ СО РАМН. – 2009. – № 2 (66). – С. 271–273.
6. Markhaev A.G., Molonov A.D., Ubeeva I.P., Badleeva M.V. et al. Epidemiological situation of tuberculosis in regions with disadvantaged countries on tuberculosis // Bull. ESSC SB RAMS. – 2009. – N 2 (66). – P. 271–273. (in Russian)
7. Матрашкин А.Г., Месько Е.М., Беякова Н.К., Андреевская С.Н. и др. Генотипическая характеристика штаммов *Mycobacterium tuberculosis* из Республики Тыва // Проблемы туберкулеза и болезней легких. – 2004. – № 3. – С. 37–40.
8. Matrashkin A.G., Mesko E.M., Belyakova N.K., Andreevskaya S.N. et al. Genotypic characterization of *Mycobacterium tuberculosis* strains from the Republic of Tuva // Problems of Tuberculosis and Lung Disease. – 2004. – N 3. – P. 37–40. (in Russian)
9. Медведева Т.В., Огарков О.Б., Некипелов О.М., Ушаков И.В. и др. MIRU-VNTR генотипирование штаммов *Mycobacterium tuberculosis* в Восточной Сибири:

семейство Beijing против Kilimanjaro // Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. – 2004. – № 4. – С. 33–38.

Medvedeva T.V., Ogarkov O.B., Nekipelov O.M., Ushakov I.V. et al. MIRU-VNTR genotyping of *Mycobacterium tuberculosis* strains in Eastern Siberia: Beijing family versus Kilimanjaro // Molecular Genetics, Microbiology and Virology. – 2004. – N 4. – P. 33–38. (in Russian)

6. Молонов А.Д. Фактор миграции и особенности эпидемического процесса туберкулеза в приграничном районе: дис. ... канд. мед. наук: 14.00.30. – Иркутск, 2004. – 155 с.

Molonov A.D. Migration factor and features of the epidemic process of tuberculosis in the border area: medical candidate's thesis: 14.00.30. – Irkutsk, 2004. – 155 p. (in Russian)

7. Огарков О.Б., Жданова С.Н., Зарбуев А.Н., Бадлеева М.В. и др. Полиморфизм *Mycobacterium tuberculosis*, выделенных от больных туберкулезом в пенитенциарной системе Бурятии: высокая распространенность

генотипа Пекин // Сибирский медицинский журнал. – 2012. – № 6. – С. 54–57.

Ogarkov O.B., Zhdanova S.N., Zarbuev A.N., Badleeva M.V. и др. Genetic polymorphism of *Mycobacterium tuberculosis* from patients in the penitentiary system of Buryatia: high prevalence of Beijing family strains // Siberian Medical Journal. – 2012. – N 6. – P. 54–57. (in Russian)

8. Mokrousov I. Insights into the origin, emergence, and current spread of a successful Russian clone of *Mycobacterium tuberculosis* // Clin. Microbiol. Rev. – 2013. – Vol. 26. – P. 342–360.

9. Mokrousov I., Otten T., Zozio T., Turkin E. et al. At Baltic crossroads: a molecular snapshot of *Mycobacterium tuberculosis* population diversity in Kaliningrad, Russia // FEMS Immunol. Med. Microbiol. – 2009. – Vol. 55 (1). – P. 13–22.

10. Van Soolingen D., Qian L., de Haas P.E. et al. Predominance of a single genotype of *Mycobacterium tuberculosis* in countries of East Asia // J. Clin. Microbiol. – 1995. – Vol. 33. – P. 3234–3238.

Сведения об авторах

Жданова Светлана Николаевна – кандидат медицинских наук старший научный сотрудник ФГБУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» СО РАМН (664003, г. Иркутск, ул. Карла Маркса, 3)

Огарков Олег Борисович – кандидат биологических наук, заведующий лабораторией ФГБУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» СО РАМН

Молонов Александр Даши-Дондопович – кандидат медицинских наук, главный врач Кяхтинского противотуберкулезного диспансера

Бадлеева Марина Владимировна – кандидат медицинских наук, доцент, доцент кафедры инфекционных болезней ФГБОУ ВПО «Бурятский государственный университет»

Унтанова Лариса Семеновна – кандидат биологических наук, заведующая организационно-методическим отделом Республиканского клинического противотуберкулезного диспансера им. Г.Д. Дугаровой

Савилов Евгений Дмитриевич – доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник ФГБУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» СО РАМН

Баранова Юлия Александровна – лаборант, студентка 4 курса биолого-почвенного факультета ФГБОУ ВПО «Иркутский государственный университет»

Тейхриб Лидия Владимировна – лаборант, студентка 4 курса биолого-почвенного факультета ФГБОУ ВПО «Иркутский государственный университет»

Корнилова Полина Владимировна – студентка 6 курса фармацевтического факультета ГБОУ ВПО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России

Information about the authors

Zhdanova Svetlana Nikolaevna – candidate of medical science, senior research officer of Scientific Centre of Family Health and Human Reproduction Problems SB RAMS (Karl Marks str., 3, Irkutsk, 664003)

Ogarkov Oleg Borisovich – candidate of biological science, head of the laboratory of Scientific Centre of Family Health and Human Reproduction Problems SB RAMS

Molonov Alexander Dashi-Dondopovich – candidate of medical science, chief physician of Kyakhta Tuberculosis Dispensary

Badleeva Marina Vladimirovna – candidate of medical science, docent, assistant professor of the department of infectious diseases of Buryat State University

Untanova Larisa Semenovna – candidate of biological science, head of the organizational and methodological department of Republican Clinical Tuberculosis Dispensary named after G.D. Dugarova

Savilov Evgeniy Dmitrievich – M.D., professor, chief scientific officer of Scientific Centre of Family Health and Human Reproduction Problems SB RAMS

Baranova Yuliya Alexandrovna – research assistant, 4th year student of biology and soil faculty of Irkutsk State University

Teykhril Lidia Vladimirovna – research assistant, 4th year student of biology and soil faculty of Irkutsk State University

Kornilova Polina Vladimirovna – 6th year student of the faculty of pharmacy of Irkutsk State Medical University