

Зоркальцева Е.Ю.¹, Воробьева О.А.¹, Савилов Е.Д.^{1,2}, Шугаева С.Н.¹, Астафьев В.А.^{1,2}

ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ ВОЗБУДИТЕЛЯ У БОЛЬНЫХ ЛЕКАРСТВЕННО-ЧУВСТВИТЕЛЬНЫМ И ЛЕКАРСТВЕННО-УСТОЙЧИВЫМ ТУБЕРКУЛЁЗОМ ОРГАНОВ ДЫХАНИЯ

¹ Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования – филиал ФГБОУ «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России (664079, г. Иркутск, Юбилейный, 100, Россия)

² ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16, Россия)

Исследование жизнеспособности проведено на основании скорости и массивности роста культур микобактерий туберкулёза (МБТ), полученных из мокроты больных туберкулёзом органов дыхания на плотных питательных средах Левенштейна – Йенсена. При скорости роста менее 30 дней и количестве более 100 колоний на питательной среде жизнеспособность оценивалась как высокая, при скорости роста более 30 дней и массивности менее 20 колоний – как низкая. 2193 культуры из 5945 получены от впервые выявленных, 3752 – от ранее леченных пациентов – жителей Иркутской области. 2171 (36,5 %) культура имела высокую, 3021 (50,8 %) – низкую, 753 (12,7 %) – среднюю степень жизнеспособности. Лекарственно-устойчивые штаммы возбудителя, в том числе с множественной лекарственной устойчивостью, чаще, чем лекарственно-чувствительные, ассоциируются с высокой степенью жизнеспособности. Высокая степень жизнеспособности возбудителя чаще определена при впервые выявленном туберкулёзе внутригрудных лимфатических узлов, фиброзно-кавернозном и инфильтративном туберкулёзе. У ранее леченных пациентов высокая жизнеспособность МБТ чаще выявлялась при фиброзно-кавернозном и инфильтративном туберкулёзе, низкая – при туберкулёзе внутригрудных лимфатических узлов. Все пациенты с туберкулёзом внутригрудных лимфатических узлов имели сопутствующую ВИЧ-инфекцию.

Ключевые слова: туберкулёз, жизнеспособность микобактерий туберкулёза, лекарственная устойчивость, ВИЧ-инфекция

VIABILITY OF CAUSATIVE PATHOGEN IN PATIENTS WITH DRUG-SENSITIVE AND DRUG-RESISTANT FORMS OF RESPIRATORY TUBERCULOSIS

Zorkaltseva E.Yu.¹, Vorobyeva O.A.¹, Savilov E.D.^{1,2}, Shugaeva S.N.¹, Astafyev V.A.^{1,2}

¹ Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education – Branch Campus of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education (Yubileiniy 100, Irkutsk 667079, Russian Federation)

² Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems (ul. Timiryazeva 16, Irkutsk 667003, Russian Federation)

To predict outcomes of tuberculosis we investigated the viability of *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) in relation to drug resistance of strains and clinical manifestations of tuberculosis. During the study on solid Löwenstein – Jensen medium, we determined the speed, growth rate and drug resistance of MBT in 5945 cultures, isolated from the sputum of patients with pulmonary tuberculosis – residents of the Irkutsk region (2193 – from newly diagnosed patients, 3752 – from previously treated patients).

The criterion of high viability of MBT was the growth rate of >100 colonies over < 30 days, average viability – < 100 colonies over > 20 days; and low viability corresponded with the growth rate of < 20 colonies over > 30 days. 2171 cultures (36.5 %) had high viability of MBT strains, 3021 (50.8 %) – low, and 753 (12.7 %) cultures had average degree of viability. A high degree of pathogen viability was more often determined in newly diagnosed patients with tuberculosis of intrathoracic lymph nodes (all patients with HIV-infection without antiretroviral therapy), fibrotic-cavernous and infiltrative tuberculosis. Among previously treated patients with tuberculosis the high viability of MBT was often determined in patients with fibrous-cavernous and infiltrative tuberculosis, and caseous pneumonia. Cultures from previously treated patients with tuberculosis of intrathoracic lymph nodes had low degree of viability.

The number of drug-sensitive strains was 1992, drug-resistant ones – 3953, including 1430 strains with multidrug resistance. We have found that 37.5 % drug-resistant strains associated with a high degree of viability (multidrug resistance – 38.5 %), it's was more often than the drug-sensitive (35.4 %; $p < 0.01$).

Key words: tuberculosis, the viability of *Mycobacterium tuberculosis*, drug resistance, HIV-infection

Для комплексной оценки ситуации по туберкулёзу, сложившейся на территории Российской Федерации, существенное значение имеет определение биологических свойств микобактерий туберкулёза (МБТ) – жизнеспособности, лекарственной устойчивости и генетической принадлежности, – которые оказывают непосредственное влияние на клинические проявления и распространение инфекции [3, 7, 12].

Данные о взаимосвязи жизнеспособности МБТ, формировании клинических форм туберкулёза лёгких и лекарственной устойчивости разноречивы [4, 6, 9, 10]. Выявлены особенности микобактериальной популяции при остро прогрессирующем туберкулёзе лёгких [1]. В отдельных исследованиях показано, что при диссеминированных формах туберкулёза низкая жизнеспособность возбудителя регистриро-

валась реже, чем при инфильтративном туберкулезе [5]. Выявлены отличия в показателях иммунитета у пациентов, выделяющих МБТ с разной степенью жизнеспособности [10]. Высокая жизнеспособность *M. tuberculosis* кластера W в макрофагах может являться причиной повсеместного и успешного распространения штаммов этого кластера [11].

Следует отметить, что туберкулез лёгких, вызванный МБТ с высокой степенью жизнеспособности, хуже поддаётся лечению, чем при низкой жизнеспособности возбудителя [2].

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Выявление взаимосвязи жизнеспособности МБТ, лекарственной устойчивости и клинических проявлений туберкулеза для прогнозирования исходов туберкулеза.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Проведено одномоментное ретроспективное исследование на базе лабораторного отделения ОГБУЗ «Иркутская областная туберкулёзная клиническая больница» (ИОКТБ). Определена скорость, массивность роста и лекарственная устойчивость 5945 культур МБТ, выросших на плотных питательных средах Левенштейна – Йенсена, выделенных из мокроты больных туберкулезом органов дыхания жителей Иркутской области в период с 2003 по 2015 гг. Жизнеспособность культур МБТ оценивалась по общепринятой методике [8]. Низкой считалась жизнеспособность МБТ при массивности роста культуры менее 20 колоний со скоростью роста более 30 суток; высокой – при массивности роста более 100 колоний со скоростью роста менее 30 суток; средней – при массивности роста менее 100 колоний со скоростью роста более 20 суток. Определение лекарственной устойчивости МБТ проводилось стандартным непрямым методом абсолютных концентраций на среде Левенштейна – Йенсена. Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета статистических программ «Statistica for Windows» (версия 6.0). Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ОБСУЖДЕНИЕ

Исследование проводилось в два этапа: на первом этапе проведено сопоставление жизнеспособности возбудителя при разных клинических формах туберкулеза, на втором этапе проанализирована взаимосвязь жизнеспособности и лекарственной устойчивости МБТ. Из 5945 исследованных культур 2171 (36,5 %) имела высокую, 3021 (50,8 %) – низкую, 753 (12,7 %) – среднюю степень жизнеспособности. 2193 культуры МБТ были выделены от впервые выявленных больных, 3752 – от пациентов, ранее получавших курсы противотуберкулёзной терапии.

Свойства культур возбудителя, выделенных от впервые выявленных больных, у 816 (37,2 %) пациентов характеризовались высокой, у 261 (11,9 %) – средней, у 1116 (50,9 %) – низкой степенью жизнеспособности при росте на плотных питательных средах. Культуры МБТ, полученные от ранее леченных больных, распределились аналогичным образом: 1355 (36,1 %) – высокая, 492 (13,1 %) – средняя, 1905 (50,8 %) – низкая степень жизнеспособности (статистически значимых различий жизнеспособности у впервые выявленных и ранее леченных больных не выявлено; $p > 0,05$).

Углублённый анализ свойств МБТ, выделенных от больных разными клиническими формами туберкулеза (рис. 1), позволил установить, что наибольший удельный вес высокожизнеспособных культур наблюдался у пациентов с впервые выявленным туберкулезом внутригрудных лимфатических узлов (у 9 из 17 человек). Необходимо отметить, что все пациенты из этой группы имели естественное течение сопутствующей ВИЧ-инфекции 4Б и 4В стадии (не получали антиретровирусную терапию). Логично предположить, что штаммы МБТ достаточно изменяют свои свойства и приобретают высокую степень жизнеспособности у иммунокомпрометированных пациентов.

Сравнение жизнеспособности МБТ при других клинических формах туберкулеза показало, что высокая степень жизнеспособности возбудителя

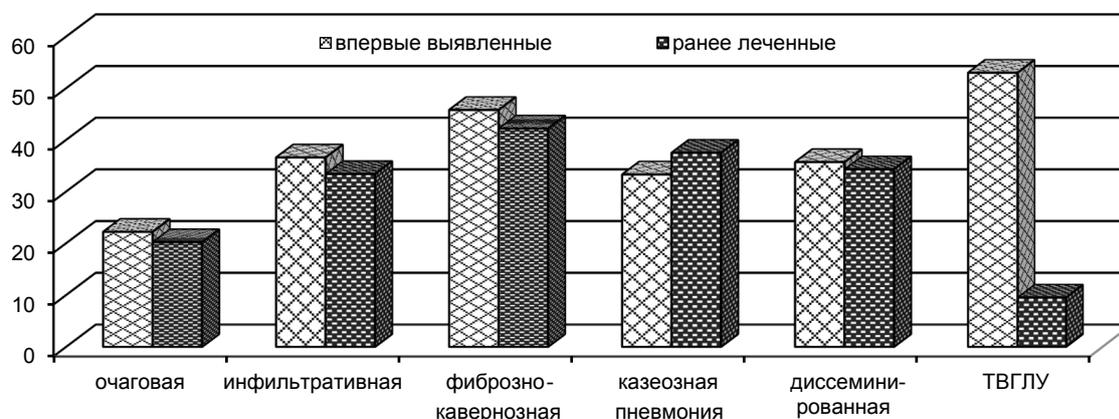


Рис. 1. Удельный вес культур МБТ с высокой жизнеспособностью, полученных от впервые выявленных и ранее леченных больных при разных клинических формах туберкулеза. ТВГЛУ – туберкулез внутригрудных лимфатических узлов.

Fig. 1. The proportion of MBT cultures with high viability, obtained from the newly diagnosed and previously treated cases with different clinical forms of tuberculosis.

чаще встречается при инфильтративном ($T = 3,0$; $p < 0,01$), фиброзно-кавернозном ($T = 4,2$; $p < 0,01$), диссеминированном ($T = 2,6$; $p < 0,05$) туберкулёзе лёгких, по сравнению с очаговым. Также выявлены статистически значимые различия между инфильтративной и фиброзно-кавернозной формами ($T = 2,7$; $p < 0,05$), при фиброзно-кавернозном туберкулёзе жизнеспособность возбудителя оказалась одной из наиболее высоких. Можно допустить, что вероятность протекания туберкулёзного процесса по продуктивному типу у впервые выявленных пациентов выше при низкой жизнеспособности возбудителя. При высокой жизнеспособности чаще развиваются инфильтративные формы туберкулёза, хроническое течение заболевания.

Степень жизнеспособности МБТ при разных клинических формах туберкулёза у ранее леченных больных характеризовалась аналогичной тенденцией: высокая жизнеспособность возбудителя чаще выявлялась у больных с фиброзно-кавернозной формой туберкулёза ($T = 4,9$; $p < 0,01$), по сравнению с инфильтративной. Более высокая степень жизнеспособности возбудителя также наблюдалась при инфильтративном ($T = 3,0$; $p < 0,01$) и диссеминированном ($T = 2,9$; $p < 0,01$) туберкулёзе лёгких, по сравнению с очаговой формой.

Обращает внимание, что наиболее часто низкая жизнеспособность выявлялась при туберкулёзе внутригрудных лимфатических узлов (ТВГЛУ), ассоциированном с ВИЧ-инфекцией. Только у 2 из 21 пациента была высокая жизнеспособность возбудителя, в то время как при впервые выявленном туберкулёзном процессе во внутригрудных лимфатических узлах высокая жизнеспособность встречалась чаще, чем при других клинических формах. Установлены статистически значимые различия при сравнении ТВГЛУ с фиброзно-кавернозной ($T = 5,1$; $p < 0,001$) и инфильтративной формами туберкулёза ($T = 3,8$; $p < 0,01$).

Второй этап нашего исследования посвящён выявлению взаимосвязи лекарственной устойчивости и жизнеспособности возбудителя. Выделены три группы: лекарственно-чувствительные штаммы – 1992 культуры, лекарственно-устойчивые штаммы – 3953 культуры. Отдельно рассматривали штаммы

с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ) из группы лекарственно-устойчивых (1430 из 3953), поскольку именно эти свойства возбудителя определяют наибольшую сложность и длительность лечения пациентов (табл. 1). Установлено, что лекарственно-устойчивые штаммы возбудителя, в том числе с МЛУ, чаще ассоциируются с высокой степенью жизнеспособности, чем лекарственно-чувствительные.

Удельный вес штаммов с высокой, средней и низкой степенью жизнеспособности среди сохранивших чувствительность и устойчивых к противотуберкулёзным препаратам культур МБТ не различался в группе впервые выявленных больных. В отличие от впервые выявленных, у ранее леченных пациентов лекарственно-устойчивые штаммы возбудителя ($T = 2,3$; $p < 0,05$), в том числе МЛУ ($T = 2,3$; $p < 0,05$) статистически значимо чаще имели высокую степень жизнеспособности, чем лекарственно-чувствительные культуры.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Высокая степень жизнеспособности микобактерий туберкулёза наблюдается при фиброзно-кавернозном и инфильтративном, низкая – при очаговом туберкулёзе лёгких как у впервые выявленных, так и у ранее получавших курсы лечения пациентов, что указывает на неблагоприятный прогноз при этих клинических формах.

2. Установлена тесная взаимосвязь жизнеспособности и лекарственной устойчивости возбудителя туберкулёза, что особенно хорошо прослеживается у больных, ранее получавших курсы противотуберкулёзной терапии. Высокая степень жизнеспособности выявляется при наличии лекарственной устойчивости, в том числе при множественной лекарственной устойчивости МБТ.

3. Выявление высокой жизнеспособности МБТ при первичных формах туберкулёза у пациентов с естественным течением ВИЧ-инфекции и значительное её снижение в результате предшествующей химиотерапии позволяет обосновать дальнейшее изучение свойств возбудителя туберкулёза у больных с сочетанной патологией.

Таблица 1
Жизнеспособность лекарственно-чувствительных и лекарственно-устойчивых МБТ, выделенных от больных туберкулёзом

The viability of drug-sensitive and drug-resistant MBT isolates from patients with tuberculosis

Table 1

Жизнеспособность МБТ	Характеристика МБТ			T 1–2	T 1–3
	1 лекарственно-чувствительные, n / %	2 лекарственно-устойчивые n / %	3 МЛУ (из числа лекарственно-устойчивых) n / %		
Высокая, n = 2171	688/34,5	1483/37,5	550/38,5	2,3	2,5
Средняя, n = 753	265/13,3	488/12,4	165/11,5	1,0	1,6
Низкая, n = 3021	1039/52,2	1982/50,1	715/50,0	1,6	1,3
Всего, n = 5945	1992	3953	1430		

**ЛИТЕРАТУРА
REFERENCES**

1. Баласанянц Г.С., Греймер М.С. Особенности возбудителя при остро прогрессирующем туберкулезе легких // Проблемы туберкулеза. – 2003. – № 9. – С. 29–31.

Balasyants GS, Greymer MS. (2003) Characteristics of the causative agent in acute progressive pulmonary tuberculosis [Osobennosti vzbuditelya pri ostro progressiruyushchem tuberkuleze legkikh]. *Problemy tuberkuleza*, (9), 29–31.

2. Вишневский Б.И. Туберкулез. Проблемы диагностики, лечения и профилактики. – СПб., 2003. – С. 34–38.

Vishnevskiy BI. (2003). Tuberculosis. The problems of diagnostics, treatment and prevention [*Tuberkulez. Problemy diagnostiki, lecheniya i profilaktiki*]. Sankt-Peterburg, 34–38.

3. Казенный Б.Я., Немцова Е.С., Кирьянова Е.В. Лабораторная диагностика туберкулеза с множественной лекарственной устойчивостью возбудителя в Орловской области // Туберкулез и болезни легких. – 2014. – Спец. вып. № 1. – С. 7–13.

Kazenniy BYa, Nemtsova ES, Kiryanova EV. (2014). Laboratory diagnostics of tuberculosis with multidrug resistance of the pathogen in the Orel region [Laboratornaya diagnostika tuberkuleza s mnozhestvennoy lekarstvennoy ustoychivost'yu vzbuditelya v Orlovskoy oblasti]. *Tuberkulez i bolezni legkikh*, (1), 7–13.

4. Клименко М.Т. Биологические особенности микобактерий туберкулеза, полирезистентных к противотуберкулезным препаратам // Проблемы туберкулеза. – 1984. – № 12. – С. 60–63.

Klimenko MT. (1984). The biological characteristics of *Mycobacterium tuberculosis* multi-resistant to anti-TB drugs [Biologicheskie osobennosti mikobakteriy tuberkuleza, polirezistentnykh k protivotuberkuleznym preparatam]. *Problemy tuberkuleza*, (12), 60–63.

5. Корецкая Н.М., Чушкина А.А. Изменения биологических свойств возбудителя при инфильтративном туберкулезе легких // Туберкулез и болезни легких. – 2010. – № 9. – С. 33–38.

Koretskaya NM, Chushkina AA. (2010). Changes of the biological properties of the causative agent in infiltrative pulmonary tuberculosis [Izmeneniya biologicheskikh svoystv vzbuditelya pri infil'trativnom tuberkuleze legkikh]. *Tuberkulez i bolezni legkikh*, (9), 33–38.

6. Маничева О.А., Ласунская Е.Б., Журавлев В.Ю. Лекарственная чувствительность *Mycobacterium tuberculosis* в сопоставлении с их жизнеспособностью, цитотоксичностью, генотипом и течением процесса у больных туберкулезом органов дыхания // Проблемы туберкулеза и болезней легких. – 2008. – № 12. – С. 18–22.

Manicheva OA, Lasunskaya EB, Zhuravlev VYu. (2008). Drug susceptibility of *Mycobacterium tuberculosis* in comparison with their viability, cytotoxicity, genotype and duration of the process in patients with tuberculosis

of respiratory organs [Lekarstvennaya chuvstvitel'nost' Mycobacterium tuberculosis v sopostavlenii s ikh zhiznesposobnost'yu, tsitotoksichnost'yu, genotipom i techeniem protsessa u bol'nykh tuberkulezom organov dykhaniya]. *Problemy tuberkuleza i bolezney legkikh*, (12), 18–22.

7. Маркелов Ю.М., Нарвская О.В. Циркуляция штаммов возбудителя туберкулеза с множественной лекарственной устойчивостью на территории республики Карелия // Проблемы туберкулеза и болезней легких. – 2010. – № 2. – С. 54–56.

Markelov YuM, Narvskaya OV. (2010). The circulation of strains with multidrug resistance on the territory of the Republic of Karelia [Tsirkulyatsiya shtammov vzbuditelya tuberkuleza s mnozhestvennoy lekarstvennoy ustoychivost'yu na territorii respubliky Kareliya]. *Problemy tuberkuleza i bolezney legkikh*, (2), 54–56.

8. Методы математического анализа эпидемиологической ситуации по туберкулезу: Пособие для врачей. – СПб., 1998. – 24 с.

Methods of mathematical analysis of epidemiological situation of tuberculosis. (1998). [*Metody matematicheskogo analiza epidemiologicheskoy situatsii po tuberkulezu*]. Sankt-Peterburg, 24 p.

9. Панин И.В., Добин В.Л., Оськин Д.Н. Характеристика и тренды первичной лекарственной устойчивости МБТ в Рязанской области // Российский медико-биологический вестник им. акад. Павлова. – 2012. – № 4. – С. 14–19.

Panin IV, Dobin VL, Oskin DN. (2012). Characteristics and trends of the primary drug resistance of MBT in the Ryazan region [Kharakteristika i trendy pervichnoy LU MBT v Ryazanskoj oblasti]. *Rossiyskiy mediko-biologicheskij vestnik im. akad. Pavlova*, (4), 14–19.

10. Сахарова И.Я., Ариель Б.М., Скворцова Л.А., Кноринг Б.Е., Вишневский Б.И. Показатели иммунитета и биологические свойства микобактерий при инфильтративном туберкулезе легких // Проблемы туберкулеза. – 2005. – № 11. – С. 14–17.

Sakharova IYa, Ariel BM, Skvortsova LA, Knoring BE, Vishnevskiy BI. (2005). Immune parameters and biological properties of mycobacteria in infiltrative pulmonary tuberculosis [Pokazateli immuniteta i biologicheskie svoystva mikobakteriy pri infil'trativnom tuberkuleze legkikh]. *Problemy tuberkuleza*, (11), 14–17.

11. Черноусова Л.Н., Андреевская С.Н., Смирнова Т.Г., Земскова З.С., Ларионова Е.Е. Биологические свойства штаммов *M. tuberculosis* кластера W // Туберкулез и болезни легких. – 2008. – № 10. – С. 45–50.

Chernousova LN, Andreevskaya SN, Smirnova TG, Zemskova ZS, Larionova EE. (2008). Biological properties of *M. tuberculosis* strains of W cluster [Biologicheskie svoystva shtammov *M. tuberculosis* klastera W]. *Tuberkulez i bolezni legkikh*, (10), 45–50.

12. Burian J, Ramon-Garcia S, Sweet G, Gomez-Velasco A, Av-Gay Y, Thompson CJ. (2012). The mycobacterial transcriptional regulator *whiB7* gene links redox homeostasis and intrinsic antibiotic resistance. *J Biol Chem*, 287, 299–310.

Сведения об авторах
Information about the authors

Зоркальцева Елена Юльевна – доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой туберкулёза, Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования – филиал ФГБОУ «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России (664049, г. Иркутск, Юбилейный, 100; e-mail: zorkaltsewa@mail.ru)

Zorkaltseva Elena Yulievna – Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Tuberculosis, Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education – Branch Campus of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education (664049, Irkutsk, Yubileiniy, 100; e-mail: zorkaltsewa@mail.ru)

Воробьева Ольга Александровна – кандидат медицинских наук, доцент кафедры туберкулёза, Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования – филиал ФГБОУ «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России (e-mail: doctorvorobeva@ya.ru)

Vorobyeva Olga Aleksandrovna – Candidate of Medical Sciences, Associate Professor at the Department of Tuberculosis, Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education – Branch Campus of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education

Савилов Евгений Дмитриевич – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой эпидемиологии и микробиологии, Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования – филиал ФГБОУ «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России (e-mail: savilov47@gmail.com)

Savilov Evgeniy Dmitrievich – Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Epidemiology and Microbiology, Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education – Branch Campus of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education (e-mail: savilov47@gmail.com)

Шугаева Светлана Николаевна – кандидат медицинских наук, доцент кафедры туберкулёза, Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования – филиал ФГБОУ «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России (e-mail: shugaeva_s@mail.ru)

Shugaeva Svetlana Nikolayevna – Candidate of Medical Sciences, Associate Professor at the Department of Tuberculosis, Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education – Branch Campus of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education (e-mail: shugaeva_s@mail.ru)

Астафьев Виктор Александрович – доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры эпидемиологии и микробиологии, Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования – филиал ФГБОУ «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России (e-mail: astaw48@mail.ru)

Astafyev Viktor Aleksandrovich – Doctor of Medical Sciences, Professor, Professor of the Department of Epidemiology and Microbiology, Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education – Branch Campus of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education (e-mail: astaw48@mail.ru)