

Литература

1. Портал для медицинских и фармацевтических работников «ONCOLOGY.ru» [Электронный ресурс]. - URL: http://www.oncology.ru/service/statistics/malignant_tumors/ (даты обращения 14.01.2021-21.03.2021)
2. Portal for medical and pharmaceutical workers «ONCOLOGY.ru» [Electronic resource]. - URL: http://www.oncology.ru/service/statistics/malignant_tumors/ (dates of access 14.01.2021-21.03.2021)
3. Различия между республиками, расположенными в Сибири, и Россией в целом в заболеваемости раком шейки матки и смертности от него в период с 2007 по 2019 годы / И.В. Кононова [и др.] // Якутский медицинский журнал. 2021. - №1(73). - С. 50-54
4. Disparities in cervical cancer incidence and mortality among the republics located in Siberia and in Russia as a whole in the period 2007-2019 / I.V. Kononova [et al.] // Yakut Medical Journal. 2021. - №1(73). - P. 50-54
5. Официальный портал Забайкальский край [Электронный ресурс]. - URL: <https://75.ru/> (дата доступа 07.04.2021)
6. Official portal Zabaykalsky Krai [Electronic resource]. - URL: <https://75.ru/> (date of access 07.04.2021)
7. Centers for Disease Control and Prevention [Electronic resource]. - URL: <https://www.cdc.gov/std/hpv/stdfact-hpv-vaccine-young-women.htm> (date of access 07.04.2021)
8. Chan Y.H. Biostatistics 104: correlational analysis / Y.H. Chan // Singapore Medical Journal. - 2003. - №44(12). - P. 614-619. [Electronic resource]. - URL: <https://www.sma.org.sg/smj/4412/4412bs1.pdf>. (date of access 11.01.2021)
9. Epidemiology and survival of cervical cancer in the French West-Indies: data from the Martinique Cancer Registry (2002-2011) / K. Melan [et al.] // Global Health Action // 2017. - №10(1). - P.1337-1341. - doi: 10.1080/16549716.2017.1337341.
10. Gillison M.L. HPV prophylactic vaccines and the potential prevention of noncervical cancers in both men and women / M.L. Gillison, Chaturvedi A.K., Lowy D.R. // Cancer. - 2008. - №113(10 Suppl). - P. 3036-3046. - doi:10.1002/cncr.23764
11. Government of Canada. [Electronic resource]. - URL: <https://www.canada.ca/en/public-health/services/publications/healthy-living/update-recommended-human-papillomavirus-vaccine-immunization-schedule.html> (date of access 07.04.2021)
12. Gynecological cancer in Caribbean women: data from the French population-based cancer registries of Martinique, Guadeloupe and French Guiana (2007-2014) / C. Joachim [et al.] // BMC Cancer. - 2020. - №20. - P.643. - doi: <https://doi.org/10.1186/s12885-020-07128-1>
13. Recent trends in racial and regional disparities in cervical cancer incidence and mortality in United States / W. Yoo [et al.] // PLoS One. - 2017. - №12(2). - e0172548. - doi: 10.1371/journal.pone.0172548.
14. The World Bank. [Electronic resource]. - URL: <https://www.worldbank.org/> (date of access 07.04.2021)
15. US assessment of HPV types in cancers: implications for current and 9-valent HPV vaccines / M. Saraiya [et al.] // Journal of the National Cancer Institute. -2015. - №107(6). - djv086. - doi: <https://doi.org/10.1093/jnci/djv086>
16. World Health Organization. International Agency for Research on Cancer. [Electronic resource]. - URL: <https://gco.iarc.fr/today/home> (date of access 5.04.2021)
17. World Health Organization. [Electronic resource]. - URL: <https://www.who.int/ru/news-room/feature-stories/detail/73rd-world-health-assembly-decisions> (date of access 05.01.2021)

Н.Г. Павлов, Г.И. Алексеева, М.К. Винокурова, М.В. Черных, М.В. Яковлева, Е.И. Иванова

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ОСНОВНЫХ СЕМЕЙСТВ ГЕНОТИПОВ *M. TUBERCULOSIS* У ВПЕРВЫЕ ВЫЯВЛЕННЫХ БОЛЬНЫХ ТУБЕРКУЛЕЗОМ ОРГАНОВ ДЫХАНИЯ

DOI 10.25789/YMJ.2021.74.19

УДК 616-002.5 : 576.852.2 + 577.21

Использование современных молекулярно-генетических методов идентификации изолятов *M.tuberculosis* позволило получить подробную характеристику популяции возбудителя, циркулирующей на одной из малоизученных северных территорий России. Исследуемые изоляты популяции *M. tuberculosis*, циркулирующей на территории Республики Саха (Якутия), можно представить девятью основными неоднородными кластерами – Beijing, T, S, Ural, Lam, Haarlem, Orphan, Uganda, X. Проведенный анализ массивности и скорости роста, лекарственной устойчивости к ПТП основных семейств генотипов возбудителя туберкулеза у впервые выявленных больных туберкулезом органов дыхания показал неоднородность биологических свойств *M. tuberculosis*. Наблюдается связь жизнеспособности возбудителя с проявлением первичной лекарственной устойчивости популяции *M. tuberculosis*, что отчетливо прослеживается в генотипе семейства S. Следовательно, массивность роста микобактерий туберкулеза свидетельствует об эпидемиологической опасности больных, выделяющих данные штаммы, особенно если она сочетается с быстрым ростом и множественной лекарственной устойчивостью.

Ключевые слова: микобактерия туберкулеза, генотипы микобактерий туберкулеза, биологические свойства микобактерий, молекулярно-генетические методы.

The use of modern molecular genetic methods for the identification of *M. tuberculosis* isolates made it possible to obtain a detailed characterization of the pathogen population circulating in one of the poorly studied northern territories of Russia. The studied isolates of the *M. tuberculosis* population circulating in the Republic of Sakha (Yakutia) can be represented by nine main heterogeneous clusters - Beijing, T, S, Ural, Lam, Haarlem, Orphan, Uganda, X. The analysis of the massiveness and growth rate, drug resistance to anti-TB drugs of the main families of tuberculosis pathogen genotypes in newly diagnosed patients with respiratory tuberculosis showed the heterogeneity of the biological properties of *M. tuberculosis*. There is a connection between the viability of the pathogen and the manifestation of primary drug resistance of the *M. tuberculosis* population, which is clearly seen in the genotype S. Consequently, the massive growth of mycobacterium tuberculosis indicates the epidemiological danger of patients isolating these strains, especially if it is combined with rapid growth and multidrug resistance.

Keywords: mycobacterium tuberculosis, genotypes of mycobacterium tuberculosis, biological properties of mycobacteria, molecular genetic methods.

ГБУ РС(Я) НПЦ «Фтизиатрия»: ПАВЛОВ Николай Герасимович – к.в.н., с.н.с., png_74@mail.ru, АЛЕКСЕЕВА Галина Ивановна – д.м.н., зав. бактериологич. лаб., ВИНОКУРОВА Мария Константиновна – д.м.н., зам. директора по организацион. и науч. работе, ЧЕРНЫХ Марина Валерьевна – врач-бактериолог, ЯКОВЛЕВА Мария Васильевна – биолог, ИВАНОВА Елена Ивановна – врач-бактериолог.

Введение. Современная ситуация с туберкулезом во многом определяется изменениями биологических свойств возбудителя заболевания и структуры популяции микобактерий туберкулеза (МБТ) с абсолютным и относительным увеличением лекарственно-устойчивых микроорганизмов [1].

Значительно менее изучен вопрос об изменениях другого биологического свойства МБТ, а именно жизнеспособности по скорости и массивности роста, несмотря на то, что жизнеспособность имеет важное прогностическое значение [3, 5]. Исследованиями доказано, что степень жизнеспособности МБТ определяет тяжесть течения, характеристику специфического процесса и эффективность его лечения [8-10, 13], а такие биологические свойства МБТ, как жизнеспособность, первичная и вторичная лекарственная устойчивость (ЛУ), имеют коррелятивную связь с основными эпидемиологическими параметрами (заболеваемость, смертность, эффективностью лечения и др.) [2, 4, 6].

Кроме этого, изменения биологических свойств возбудителя заболевания также обусловлены выявленной в последние годы генетической неоднородностью вида *M. tuberculosis*, где вирулентность возбудителя в большей степени связана с его принадлежностью к тому или иному генетическому семейству [10].

Исходя из вышеизложенного, представляется актуальным использование инновационных технологий для изучения характеристики биологических свойств возбудителя туберкулеза у впервые выявленных больных туберкулезом органов дыхания (ТОД).

Цель исследования – определить основные семейства генотипов *M. tuberculosis*, циркулирующих на территории Республики Саха (Якутия), и провести сравнительный анализ их биологических свойств у впервые выявленных больных туберкулезом органов дыхания.

Материалы и методы исследования. Работа выполнена в бактериологической лаборатории ГБУ РС (Я) НПЦ «Фтизиатрия» (г. Якутск) и в лаборатории Института эпидемиологии и микробиологии НЦ ПЗСРЧ СО РАМН (г. Иркутск).

По плану исследования отобрано 315 штаммов культур МБТ, выделенных от 315 впервые выявленных больных ТОД бактериовыделителей, проходивших лечение в стационарах НПЦ и районных ПТД республики.

Взятые в исследование 110 (34,9%)

культур штаммов *M. tuberculosis* выделены от больных из районов (улусов) республики и 205 (65,1 %) из г. Якутска. При этом районы были разделены на четыре социально-территориальные зоны РС (Я), предложенные М.А. Тырылгиным [14].

Бактериовыделение больных установлено путем посева клинического материала на плотные яичные питательные среды Левенштейна-Йенсена и Финна-2, предварительно разжиженного и деконтаминированного раствором BBLMycoPrepNALC-NaOH (BD, США), согласно приказу Минздрава России от 21.03.2003 г. № 109 [12].

При оценке результатов роста культур МБТ на плотных средах регистрировали следующие параметры:

1. Скорость роста или появление роста – по дате начального появления роста в пробирках. Появление колоний микобактерий туберкулеза в срок до 30 дней считали быстрым ростом, от 30 и более дней – замедленным ростом.

2. Массивность или интенсивность роста – число колоний, выросших в каждой из пробирок. При наличии одновременного роста во всех пробирках оценивали суммарное число колониеобразующих единиц (КОЕ) во всех пробирках, засеянных данным материалом. Скудным считали рост до 20 колоний (1+), умеренным – 21-100 (2+), обильным – свыше 100 колоний (3+).

3. Загрязнение посева посторонней микрофлорой («пророст»), при наличии такового.

4. Отсутствие роста. Указанный параметр регистрировали через 10 недель культивирования.

Жизнеспособность культур МБТ, выделенных из диагностического материала больных до лечения, оценивали по критериям скорости и массивности роста по общепринятой методике [11]: при росте МБТ менее 20 колоний со скоростью более 30 дней жизнеспособность считали низкой, при росте более 100 колоний со скоростью менее 30 дней – высокой. При других сочетаниях массивности и длительности роста – средней.

Определение лекарственной чувствительности МБТ методом абсолютных концентраций на среде Левенштейна-Йенсена проводили согласно приказу Минздрава России от 21.03.2003 г. № 109 [12]. В структуре лекарственной устойчивости МБТ учитывали монорезистентность, полирезистентность (устойчивость к двум препаратам и более, за исключением одновременной устойчивости к изониазиду и рифампицину), множествен-

ную лекарственную устойчивость – по крайней мере к изониазиду и рифампицину, и широкую лекарственную устойчивость (к рифампицину + изониазиду + к одному из фторхинолонов + к капреомицину/канамицину).

Для дальнейшего углубленного изучения генетической принадлежности каждого штамма к тому или иному генотипу выделенные штаммы культур *M. tuberculosis* исследованы молекулярно-генетическими методами в лаборатории Института эпидемиологии и микробиологии НЦ ПЗСРЧ СО РАМН. При этом экстракцию ДНК штаммов МБТ проводили из инаktivированных культур. Для инаktivации одну или несколько колоний со среды Левенштейна-Йенсена ресуспендировали в 500 мл 1% смеси N-acetyl-N,N,N-trimethyl ammonium bromide (CTAB) в 50% изопропанол, как описано ранее [17]. ДНК выделяли набором ДНК-сорб-В (Интерлабсервис, Россия) согласно протоколу производителя.

Для определения основных генетических семейств, формирующих общую структуру популяции *M. tuberculosis* в Якутии, применено MIRU-VNTR-генотипирование по протоколу сайта MIRU VNTR plus [18]. С помощью пакета филогенетических программ сайта осуществляли первичное определение генотипов МБТ. Для уточнения распространенности штаммов также использовался ресурс открытой БД SITVIT [15]. Генотипы семейства Beijing дополнительно субтипировали по участкам генома RD105/RD207, как описано ранее [7]. Профили штаммов, верифицированные вышеуказанными методами как генотип Beijing, по 24 локусам MIRU-VNTR сравнивали с базой данных, приведенной в статье М. Merker и соавт. [16].

Статистическую обработку полученных данных проводили по общепринятым компьютерным программам приложений «Microsoft Excel» и «StatSoft Statistica 6» по показателям средних значений ($M \pm m$), значимости статистической разницы сравниваемых показателей (p).

Результаты и обсуждение. В результате MIRU-VNTR типирования 315 изолятов *M. tuberculosis* (табл.1) выявлено, что семейство Beijing в РС (Я) представлено наибольшим количеством штаммов. Анализ выявления семейства Beijing по г. Якутску и районам показал, что данный генотип определяется в г. Якутске в 46,3 % (95/205), по районам в 51,8 % (57/110) случаев. Отдельно по зонам эти показатели ва-

Таблица 1

**Распространение основных генетических семейств популяции
M. tuberculosis в Якутии по социально-территориальным зонам и в г. Якутске**

Район (улус)	Генотип, абс. ч., (%)								
	Beijing	T	S	Ural	Haarlem	Lam	Orphan	Uganda	X
Арктическая зона: 21 (6,7 %)									
Абыйский	-	2	-	-	-	-	-	-	-
Аллаиховский	1	-	-	-	-	-	-	-	-
Анабарский	1	-	-	-	-	-	-	-	-
Булунский	-	-	-	2	1	-	-	-	-
Жиганский	1	1	-	-	-	-	-	-	-
Момский	1	-	-	-	1	-	-	-	-
Нижнеколымский	2	-	-	-	-	-	-	-	-
Оленекский	-	2	-	1	-	-	-	-	-
Среднеколымский	2	-	-	-	-	-	1	-	-
Усть-Янский	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Э-Быгантайский	1	-	-	-	-	-	-	1	-
Всего:	9 (2,8)	5 (1,6)	-	3 (0,9)	2 (0,6)	-	1 (0,3)	1 (0,3)	-
Промышленная зона: 9 (2,8 %)									
Алданский	1	-	1	-	1	-	-	-	-
Ленский	-	-	-	-	-	1	-	-	-
Мирнинский	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Нерюнгринский	2	-	-	-	-	-	-	-	-
Оймяконский	1	-	-	-	1	1	-	-	-
Всего:	4 (1,3)	-	1 (0,3)	-	2 (0,6)	2 (0,6)	-	-	-
Сельская зона: 55 (17,5 %)									
Амгинский	3	-	-	1	-	-	1	-	1
Верхневилуйский	7	-	1	-	-	-	-	-	-
Вилуйский	3	2	-	-	-	-	-	-	-
Горный	1	-	-	-	-	-	-	-	-
М-Кангаласский	7	-	-	1	-	1	-	-	-
Намский	1	-	-	-	-	-	-	-	-
Нюрбинский	4	-	4	-	-	-	1	-	-
Сунтарский	3	-	-	-	-	1	-	-	-
Таттинский	2	-	-	-	-	1	-	-	-
Усть-Алданский	-	1	-	1	-	1	-	1	-
Чурапчинский	2	1	1	-	-	-	-	-	1
Всего:	33 (10,5)	4 (1,3)	6 (1,9)	3 (0,9)	-	4 (1,3)	2 (0,6)	1 (0,3)	2 (0,6)
Смешанная зона: 25 (7,9 %)									
Вернеколымский	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Верхоянский	2	1	-	-	1	-	-	-	-
Кобяйский	3	2	-	-	-	-	-	-	-
Олекминский	2	-	-	-	-	-	-	-	-
Томпонский	-	-	1	-	-	1	-	-	-
Усть-Майский	-	-	-	1	1	-	-	-	-
Хангаласский	4	-	1	1	-	-	4	-	-
Всего:	11 (3,5)	3 (0,9)	2 (0,6)	2 (0,6)	2 (0,6)	1 (0,3)	4 (1,3)	-	-
Итого по зонам n=110 (34,7%)	57 (18,1)	12 (3,8)	9 (2,8)	8 (2,5)	6 (1,9)	7 (2,2)	7 (2,2)	2 (0,6)	2 (0,6)
г. Якутск n=205 (65,3%)	95 (30,1)	25 (7,9)	23 (7,3)	18 (5,7)	15 (4,8)	14 (4,4)	8 (2,5)	5 (1,6)	2 (0,6)
Всего по РС (Я) n=315 (100%)	152 (48,2)	37 (11,7)	32 (10,1)	26 (8,2)	21 (6,7)	21 (6,7)	15 (4,8)	7 (2,2)	4 (1,3)

рыировали от 42,8% (9/21) в арктической, 44,0 (11/25) в смешанной, 44,4 (4/9) в промышленной и 60,0% (33/55) в сельской.

Вторую большую группу из 37 изолятов возглавили генотипы, сполито-профили которых отнесены к семейству Т. Единичные штаммы идентифицированы как MANU2, H37Rv, SIT 877, SIT 1562. По г. Якутску показатели выявления составили – 12,2 % (25/205), по улусам – 10,9 % (12/110). В промышленной зоне, состоящей из 5 улусов, семейство Т не выявлено, в сельской выявлено в 7,3 % (4/55), в смешанной – в 12,0 (3/25) и арктической – в 23,8 % (5/21) случаев.

Третьей, более кластеризованной, группой в РС(Я) были штаммы семейства S, имевшие общий сполитотип (SIT 1253), составившие на филогенетическом древе отдельный кластер и представленные сходными MIRU-VNTR профилями. Эти показатели отдельно по г. Якутску и улусам были 10,2 (21/205) и 6,4% (7/110) соответственно. В этой группе вызывают интерес показатели выявления по зонам. Так, в арктической зоне, состоящей из 11 улусов, семейство S не выявляется, а в остальных зонах оно составило: 7,3% (4/55) в сельской, 8,0 (2/25) в смешанной и 11,1% (1/9) в промышленной.

Четвертую группу по количеству изолятов составили штаммы семейства Ural. Выявлены профили MIT 197, 756 и близкие к ним характеристики штаммов, не идентифицируемых SITVIT, но имеющих типичные черты для Ural по MIRU-VNTR. В г. Якутске эти штаммы составили 8,8 (18/205), по улусам 7,3% (8/110). По зонам: в сельской 5,4% (3/55), в смешанной 8,0 (2/25), в арктической 14,8 (3/21), в промышленной Ural не выявлены.

Еще более гетерогенную группу составил кластер семейства Haarlem. В г. Якутске и улусах это 7,3 (15/205) и 5,4% (6/110) случаев соответственно. По зонам: в смешанной 8,0% (2/25), в арктической 9,5 (2/21), в промышленной 22,2 % (2/9) случаев, в сельской не выявлены.

В исследуемых популяциях *M. tuberculosis* представлены семейством LAM в 21 случае. Из них в г. Якутске 6,8, в улусах 6,4%. По зонам: в смешанной 4,0% (1/25), в сельской 7,3 (4/55), в промышленной 22,2% (2/9) случая, в арктической – не выявлено. В этот кластер вошли профили как с известными MIT 1, 140, 326, так и штаммы с цифровыми кодами по MIRU-VNTR, близкими к LAM.

Эта неоднородная группа имела отличия в сполитотипах (SIT 42, 254, 1337, new), относимых к различным подсемействам согласно Spol SITVIT (LAM 9, LAM 5). Кроме того, штаммы, принадлежащие к одному MIT или SIT, имели вариацию в ряде локусов (Mtub 4, Mtub 30 и Qub 26), что может свидетельствовать о давней циркуляции LAM на территории РС(Я).

Следующую группу из 15 изолятов составил кластер семейства Orphan. Из них в г. Якутске – 8 и улусах – 7 штаммов. По зонам Orphan представлен в сельской – 3,6% (2/55), арктической – 4,8 (1/21) и смешанной – 16,0 (4/25). В промышленной зоне случаев не выявлено.

Остальные оставшиеся штаммы были отнесены в группы по 7 (2,2 %) и 4 (1,3 %) изолята к семействам Uganda и X соответственно. Семейства Uganda и X представлены и в Якутске, и по улусам (табл. 1).

Проведен анализ биологических свойств – массивности и скорости роста выделенных культур основных генотипов МБТ (табл. 2).

Из 315 культур, взятых на исследо-

вание, скудной массивностью роста обладали 194 штамма, умеренной – 95, обильной – 26. По скорости роста колоний в средах был быстрым в 238 случаях, замедленным в 77. При этом средняя скорость роста составила 27,4±1,2 дня.

При изучении сравнительной характеристики массивности роста определен соответственно скудный, умеренный и обильный рост культур по генотипам: Beijing – в 92; 51 и 9 случаях, T – в 19; 16 и 2, S – в 21; 3 и 8, Ural – в 18; 4 и 4, Orphan – в 11; 3 и 1, Uganda – в 3; 2 и 2 случаях. Генотипы Lam в 14 и 7, Haarlem – в 12 и 9 случаях показали соответственно скудный и умеренный рост, а X в 100% случаев – полностью скудный рост культур.

При изучении генотипа S установлено, что массивность роста статистически значимо ($p<0,001$; $p<0,05$) преобладает над генотипами Beijing и T по показателям обильного роста культур в средах, а по сравнению с генотипами Ural, Orphan, Uganda статистически значимых различий не выявлено.

По скорости роста генотипы Haarlem, Lam, Uganda, S, T, Beijing, Orphan

Таблица 2

Сравнительный анализ массивности и скорости роста штаммов культур генотипов *M. tuberculosis*

Генотип	Массивность роста, абс. ч. (%)			Скорость роста абс. ч. (%)		Средняя скорость роста в днях (M ± m)
	1+	2+	3+	До 30 дней	>30 дней	
Beijing n=152	92 (60,5)	51 (33,6)	9* (5,9)	116 (76,3)	36 (23,7)	27,6±0,8
T n=37	19 (51,4)	16 (43,2)	2** (5,4)	25 (67,6)	12 (32,4)	27,4±1,5
S n=32	21 (65,6)	3 (9,4)	8*: ** (25,0)	25 (78,1)	7 (21,9)	26,5±1,1
Ural n=26	18 (69,2)	4 (15,4)	4 (15,4)	14 (53,8)	12 (46,2)	30,9±2,0
Lam n=21	14 (66,7)	7 (33,3)	-	19 (90,5)	2 (9,5)	23,6±1,2
Haarlem n=21	12 (57,1)	9 (42,9)	-	19 (90,5)	2 (9,5)	22,9±1,5
Orphan n=15	11 (73,3)	3 (20,0)	1 (6,7)	12 (80,0)	3 (20,0)	28,8±2,0
Uganda n=7	3 (42,9)	2 (28,6)	2 (28,6)	7 (100,0)	-	25,0±1,9
X n=4	4 (100,0)	-	-	1 (25,0)	3 (75,0)	34,3±2,1
Всего n= 315	194 (61,6)	95 (30,1)	26 (8,3)	238 (75,5)	77 (24,4)	27,4±1,2

Примечание: Массивность роста в пробирках оценивают по трехбалльной системе: (1+) – 1 – 20 КОЕ – скудное бактериовыделение; (2+) – 21 – 100 КОЕ – умеренное бактериовыделение; (3+) – > 100 КОЕ – обильное бактериовыделение;

В табл. 2-3 и на рисунке достоверные различия в показателях:

* $p<0,001$, ** $p<0,05$.

обладали быстрым ростом культур со средними показателями от $22,9 \pm 1,5$ до $28,8 \pm 2,0$ дня, генотипы Ural, X со средними показателями $30,9 \pm 2,0$ и $34,3 \pm 2,1$ дня соответственно – замедленным ростом культур. Доминирующий кластер Beijing по критериям массивности и скорости роста не отличается от других генотипов.

В табл. 3 представлен сравнительный анализ жизнеспособности культур основных генотипов *M. tuberculosis*.

Из 315 культур, взятых на исследование по критериям массивности и скорости роста, высокой жизнеспособностью обладали 25, средней – 206, низкой – 84 культуры.

При изучении сравнительной характеристики жизнеспособности низкую,

среднюю и высокую жизнеспособность культур имели генотипы Beijing, T, S, Ural, Orphan (табл.3). Генотипы Lam и Haarlem имели низкую и среднюю, а Uganda – среднюю и высокую жизнеспособность культур. Все выделенные культуры генотипа X в 100% случаев обладали низкой жизнеспособностью. При этом культуры генотипа S статистически значимо ($p < 0,001$; $p < 0,05$) обладали более высокой жизнеспособностью по сравнению с Beijing и T, а по сравнению с генотипами Ural, Orphan, Uganda статистически значимых различий не выявлено.

Результаты исследования структуры фенотипической лекарственной устойчивости культур основных генотипов *M. tuberculosis* к противотуберку-

лезным препаратам представлены на рисунке.

Из 315 культур, взятых на исследование, в 207 (65,7%) случаях чувствительность к ПТП сохранена. Монорезистентность выявлена у 10 (3,2%), а полирезистентность – у 20 (6,3%) культур соответственно. Множественная лекарственная устойчивость зарегистрирована в 78 (24,8%) случаях, из них ШЛУ – в 5 (1,6%) культурах.

При изучении структуры лекарственной устойчивости чувствительность сохранена ко всем ПТП по генотипам: Beijing – 101 (66,4%), T – 31 (83,8%), S – 3 (9,4%), Ural – 14 (53,8%), LAM – 17 (80,9%), Haarlem – 20 (95,2%), Orphan – 12 (80,0%), Uganda – 6 (85,7%), X – 3 (75,0%) случая. Монорезистентность у Beijing – 2 (1,3%), T – 4 (10,8%), Ural – 1 (3,8%), LAM – 1 (4,8%), Haarlem – 1 (4,8%), Uganda – 1 (14,3%) и полирезистентность у Beijing – 2 (1,3%), S – 6 (18,6%), Ural – 10 (38,5%), LAM – 1 (4,8%), X – 1 (25,0%) случая. Множественная лекарственная устойчивость у Beijing – 49 (30,9%), T – 2 (5,4%), S – 23 (71,9%), Ural – 1 (3,8%), LAM – 2 (9,5%), Orphan – 3 (20,0%) случая. Из них ШЛУ у Beijing – в 2 (1,3%) и S – 3 (9,4%) случаях.

Благоприятными по структуре чувствительности к ПТП были генотипы Harlem, Uganda и X с отсутствием в спектре МЛУ. Менее благоприятными оказались генотипы Ural, Orphan, LAM, T, которые в 53,8-83,8% случаев обладали чувствительностью и минимальным спектром множественной лекарственной устойчивости в структуре. Неблагоприятными по частоте МЛУ были генотипы Beijing – 47 (30,9%) и S – 23 (71,9%) случая, в т.ч. с ШЛУ – 1,3 и 9,4% случаев соответственно. При этом по частоте МЛУ генотип S статистически значимо ($p < 0,001$; $p < 0,05$) превышает остальные.

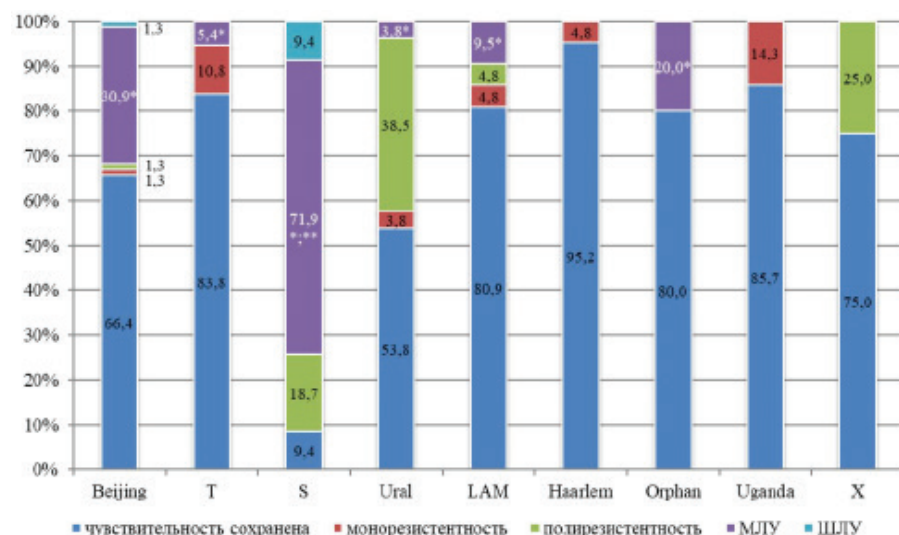
Заключение. Таким образом, использование современных молекулярно-генетических методов идентификации изолятов *M. Tuberculosis* позволило получить подробную характеристику популяции возбудителя, циркулирующей на одной из малоизученных северных территорий России. Исследуемые изоляты популяции *M. tuberculosis*, циркулирующей на территории республики, можно представить девятью основными неоднородными кластерами – Beijing, T, S, Ural, Lam, Haarlem, Orphan, Uganda, X. Из них генотип Beijing со 152 (48,2%) изолятами является доминирующим.

Проведенный анализ массивности и скорости роста, лекарственной устойчивости к ПТП основных семейств

Таблица 3

Сравнительный анализ жизнеспособности штаммов культур генотипов *M. tuberculosis* по показателям массивности и скорости роста

Генотип	Жизнеспособность					
	низкая		средняя		высокая	
	Абс. ч.	%	Абс. ч.	%	Абс. ч.	%
Beijing (n=152)	37	24,3	106	69,7	9*	5,9
T (n=37)	11	29,7	24	64,9	2**	5,4
S (n=32)	6	18,7	18	56,2	8*: **	25,0
Ural (n=26)	11	42,3	12	46,1	3	11,5
Lam (n=21)	2	9,5	19	90,5	-	-
Haarlem (n=21)	2	9,5	19	90,5	-	-
Orphan (n=15)	11	73,3	3	20,0	1	6,7
Uganda (n=7)	-	-	5	85,7	2	28,6
X (n=4)	4	100,0	-	-	-	-
Всего: n= 315	84	26,7	206	65,4	25	7,9



Сравнительная характеристика структуры лекарственной устойчивости генотипов *M. tuberculosis* к ПТП

генотипов возбудителя туберкулеза у впервые выявленных больных туберкулезом органов дыхания показал неоднородность биологических свойств *M. Tuberculosis*: скудный рост культур при массивности роста с колебаниями от 43,9 до 100% случаев, умеренный - от 9,4 до 43,2 и обильный - от 5,4 до 28,6%; быстрый рост колоний в средах при скорости роста от 25,0 до 100% случаев и замедленный - от 9,5 до 75,0%. При этом средняя скорость роста составила – 27,4±1,2 дня. По критериям массивности и скорости роста культуры обладали высокой жизнеспособностью – 25 (7,9%), средней – 206 (65,4) и низкой – 84 (26,7%). Структура лекарственной устойчивости культур к ПТП: от 9,4 до 95,2% случаев – чувствительная, от 5,4 до 71,9% - множественная лекарственная устойчивость. Генотипы Beijing и S являются эпидемически значимыми по частоте МЛУ в структуре лекарственной чувствительности возбудителя в регионе.

Наблюдается связь жизнеспособности возбудителя с проявлением первичной лекарственной устойчивости популяции *M. tuberculosis*, что отчетливо прослеживается в генотипе семейства S. Следовательно, массивность роста МБТ свидетельствует об эпидемиологической опасности больных, выделяющих данные штаммы, особенно если она сочетается с быстрым ростом и множественной лекарственной устойчивостью.

Необходимо дальнейшее углубленное изучение наиболее распространенных основных генотипов МБТ, циркулирующих в регионе, для эпидемиологического мониторинга распространения туберкулезной инфекции.

Литература

- Борисов С.Е. Комментарий к статье Филинчук О.В., Яновой Г.В., Стрелиса А.К. и др. Множественная лекарственная устойчивость – туберкулез легких: медико-социальные особенности и эффективность стационарного этапа лечения // Проблемы туберкулеза. – 2008. – № 8. – С. 28.
- Borisov S.E. Commentary to article by Filinyuk O.V., Yanova G.V., Strelis A.K., et al. Multidrug-resistant pulmonary tuberculosis: socio-medical features and effectiveness of in-patient treatment phase // Issues of Tuberculosis – 2008. – No. 8. – P. 28.
- Вишневский Б.И. Эпидемиологическое значение жизнеспособности и лекарственной устойчивости МБТ / Б.И. Вишневский, А.В. Васильев, Т.М. Голубева, [и др.] // 5-й Национальный конгресс по болезням органов дыхания. – М., 1995. – №1747. Vishnevskiy A.V. Epidemiological significance of the viability and drug resistance of MTB / A.V. Vishnevskiy, T.M. Vasilyev, T.M. Golubeva, [et al.] // 5th National congress on respiratory diseases. – Moscow, 1995. – No.1747.
3. Вирулентность микобактерий туберкулеза / Б.И. Вишневский, О.В. Нарвская, С. Н. Васильева [и др.] // Проблемы туберкулеза. – 2002. – № 10. – С. 33-36.
- Virulence of *M.tuberculosis* / B.I. Vishnevskiy, O.V. Narvskaya, S.N. Vasilyeva, [et al.] // Issues of tuberculosis. – 2002. – No. 10. – P. 33-36.
4. Вишневский Б.И. Основные направления работы лаборатории микробиологии туберкулеза/ Вишневский Б.И. // Туберкулез: проблемы диагностики, лечения и профилактики: тр. Всеросс. науч.-практ. конф. – СПб., 2003. – С. 34-38.
- Vishnevskiy B.I. Main focus areas in the work of Tuberculosis microbiology laboratory // Tuberculosis: issues in diagnostics, treatment and prevention.: proceedings of All-Russian research-practice conference. – Saint-Petersburg, 2003. – P. 34-38.
5. Вишневский Б.И. Вирулентность *Mycobacterium tuberculosis* / Б.И. Вишневский, О.А. Маничева, П.К. Яблонский // Инфекция и иммунитет. – 2014. – № (4)4. – С. 319-330.
- Vishnevskiy B.I. *Mycobacterium tuberculosis* virulence / B.I. Vishnevskiy, O.A. Manicheva, P.K. Yablonskiy // Infection and immunity. – 2014. – No. (4)4. – P. 319-330.
6. Гращенко О.В. Совершенствование эпидемиологического анализа при туберкулезной инфекции / О.В. Гращенко, А.В. Васильев // Проблемы туберкулеза. – 2000. – № 6. – С. 33-36.
- Grashchenkova O.V. Advancements in epidemiological analysis of tuberculosis infection / O.V. Grashchenkova, A.V. Vasilyev // Issues of tuberculosis. – 2000. – No. 6. – P. 33-36.
7. Жданова С.Н. Применение делеционного анализа по RD105 для выявления генотипа Пекин *Mycobacterium tuberculosis* / С.Н. Жданова, О.Б. Огарков, Л.А. Степаненко, [и др.] // Бюл. Восточно-Сибирского научн. центра СО РАМН. – 2011. – № 2. – С. 194-197.
- Zhdanova S.N. The deletion analysis of RD105 is a useful tool in the evaluation of Beijing strains of *Mycobacterium tuberculosis* / S.N. Zhdanova, O.B. Ogarkov, L.A. Stepanenko, [et al.] // Bulletin of the East Siberian Scientific Center SB RAMS. – 2011. – No. 2. – P. 194-197.
8. Корецкая Н.М. Сравнительная характеристика диссеминированного туберкулеза легких у больных, выделяющих микобактерии туберкулеза с высокой и низкой жизнеспособностью / Н.М. Корецкая, И.В. Ярыгина // Проблемы туберкулеза. – 2007. – № 2. – С. 17-20.
- Koretskaya N.M. Comparative characteristics of disseminated pulmonary tuberculosis in patients isolating *M.tuberculosis* with high and low viability / N.M. Koretskaya, I.V. Yarygina // Issues of tuberculosis. – 2007. – No. 2. – P. 17-20.
9. Корецкая Н.М. Изменения биологических свойств возбудителя при инфильтративном туберкулезе легких / Н.М. Корецкая, А.А. Чушкина // Туберкулез и болезни легких. – 2010. – № 9. – С. 33-38.
- Koretskaya N.M. Changes in the biological properties of the pathogen in infiltrative tuberculosis // N.M. Koretskaya, A.A. Chushkina // Tuberculosis and lung diseases. – 2010. – No. 9. – P. 33-38.
10. Лекарственная чувствительность *Mycobacterium tuberculosis* в сопоставлении с их жизнеспособностью, цитотоксичностью, генотипом и течением процесса у больных туберкулезом органов дыхания / О.А. Маничева, Е.Б. Ласунская, В.Ю. Журавлев, [и др.] // Проблемы туберкулеза. – 2008. – № 12. – С. 18-22.
- Drug sensitivity of *Mycobacterium tuberculosis* in relation to its viability, cytotoxicity, genotype, and clinical disease progression in patients with pulmonary tuberculosis / O.A. Manicheva, E.B. Lasunskaya, V.Y. Zhuravlev, [et al.] // Issues of Tuberculosis. – 2008. – No. 12. – P. 18-22.
11. Методы математического анализа эпидемиологической ситуации по туберкулезу: пособие для врачей. – СПб., 1998. – 24 с.
- Methods of mathematical analysis of the epidemiological situation for tuberculosis: guide for physicians. – Saint-Petersburg, 1998. – 24 p.
12. О совершенствовании противотуберкулезных мероприятий в Российской Федерации: приказ МЗ РФ №109 (21.03.2003). Приложение №11 «Инструкция по унифицированным методам микробиологических исследований при выявлении, диагностике и лечении туберкулеза».
- On improving anti-tuberculosis measures in Russian Federation: Order of the Russian Federation Ministry of Health no.109 (21.03.2003). Appendix 11 'Instructions on unified techniques for microbiological tests to detect, diagnose, and treat tuberculosis'.
13. Сапожникова Н.В. Особенности течения туберкулеза легких в зависимости от биологических свойств возбудителя: автореф. дис. ...канд. мед. наук / Сапожникова Н.В. – СПб., 2003. – 24 с.
- Sapozhnikova N.V. Characteristics of pulmonary tuberculosis disease progression in relation to biological properties of the causative agent. Extended abstract of Cand.Sci.(Medicine) thesis. – Saint-Petersburg, 2003. – 24 p.
14. Тырылгин М.А. Проблемы охраны здоровья населения Крайнего Севера: на примере региона Якутия / М.А. Тырылгин. – Новосибирск: Наука, 2008. – 304 с.
- Tyrylgin M.A. Health protection problems in the population of the Extreme North: case of Yakutia/ Tyrylgin M.A. – Novosibirsk: Nauka Publ., 2008. – 304 p.
15. Demay, C. "SITVITWEB – a publicly available international multimer database for studying *Mycobacterium tuberculosis* genetic diversity and molecular epidemiology" / C. Demay, B. Liens, T. Burguière, [et al.] // Infection, Genetics and Evolution. – 2012. – Iss. 12(4). – P. 755-766. – http://www.pasteur-guadeloupe.fr:8081/SITVIT_ONLINE/query
16. Merker, M. Evolutionary history and global spread of the *Mycobacterium tuberculosis* Beijing lineage / M. Merker, C. Blin, S. Mona, N. Dufort-Frebourg, S. Lecher, E. Willery, [et al.] // Nat Genet. – 2015. – Iss. 47(3). – P. 242-249. – doi: 10.1038/ng.3195.
17. Ogarkov, O. Lethal combination of *mycobacterium tuberculosis* Beijing genotype and human CD209-336G allele in Russian male population / O. Ogarkov, S. Zhdanova, E. Savilov, I. Mokrousov, V. Sinkov, S. Antipina // Infection, genetics and evolution. – 2012. – Iss. 12(4). – P. 732-736.
18. Weniger, T. MIRU-VNTRplus: a web tool for polyphasic genotyping of *Mycobacterium tuberculosis* complex bacteria / T. Weniger, J. Krawczyk, P. Supply, S. Niemann, D. Harmsen // Nucleic Acids Res. – 2010. – Iss. 38. – Suppl. W326-331. – <http://www.miru-vntrplus.org/MIRU/miruinfo.faces;jsessionid=89112F274226E781C7B0B0D9118FDD70>