

ВПЛИВ ГЕПАТОПРОТЕКТОРІВ ГЕПТРАЛУ ТА МІГУ-1 НА ПОКАЗНИКИ ЛАЗЕРНОЇ КОРЕЛЯЦІЙНОЇ СПЕКТРОСКОПІЇ СИРОВАТКИ КРОВІ

Зарєстровані гідродинамічні радіуси (у нанометрах) низько-, середньо-, високо- і надвисокомолекулярних частинок сироватки крові та їх внесок у світлорозсіяння при курсовому введенні гепатопротекторів МІГУ-1 і гептралу порівняно з відомим препаратом есенціале. Доведена діагностична цінність методу ЛКС-метрії в оцінці сироваткового гомеостазу при введенні нових препаратів МІГУ-1 і гептралу порівняно з відомим препаратом есенціале. Введення гептралу дозою 20 мг/кг, на відміну від дози 40 мг/кг, призводить до появи на гістограмі частинок із гідродинамічним радіусом 2–11 нм, що відповідає фракції низькомолекулярних білків — альбумінів і глобулінів. Показано, що на фоні імунізації еритроцитами барана в гістограмах досліджуваних тварин з'являються частинки надвеликих гідродинамічних радіусів, що свідчить про утворення циркулюючих імунних комплексів.

Ключові слова: лазерна кореляційна спектроскопія, гептрал, МІГУ-1, есенціале.

LASER CORRELATIVE SPECTROSCOPY OF BLOOD SERUM UNDER CONDITIONS OF TREATMENT WITH HEPTRAL AND MIGU-1 HEPATOPROTECTORS

The hydrodynamic radii (nm) of blood serum particles of low, medium, high and ultra-high molecular weight and their contribution to light dissipation were registered under conditions of treatment course with Heptral and MIGU-1 hepatoprotectors. These results were compared with results of well-known medicament Essenciale. It was ascertained that LCS method is valuable in diagnosis of hepatoprotective activity of new medicaments MIGU-1 and Heptral in comparison with well-known Essenciale. Heptral introduction in the dose of 20 mg/kg leads to particles with hydrodynamic radius 2–11 nm appearing on the histogram. These particles appeared to be a fraction of low-weight proteins – albumins and globulins. The results were different from those with 40 mg/kg dose. It was showed that in the case of immunization with ram's erythrocytes particles with ultra-high hydrodynamic radii appear on the histogram. That indicates formation of circulating immune complexes.

Key words: laser correlative spectroscopy, heptral, MIGU-1, essenciale.

UDK 616-002.5-079.4:577.21:615.015.8

В. Й. Кресюн¹, *д-р мед. наук,*

К. О. Антоненко¹,

О. К. Лобанов²,

В. А. Штанько¹, *канд. мед. наук, доц.*

ПОШИРЕНІСТЬ МЕДИКАМЕНТОЗНОЇ РЕЗИСТЕНТНОСТІ У ЗБУДНИКА ТУБЕРКУЛЬОЗУ ТА ІНФОРМАТИВНІСТЬ ЇЇ ГЕНОТИПІЧНОГО ВИЗНАЧЕННЯ

¹ *Одеський державний медичний університет,*

² *Одеська обласна клінічна протитуберкульозна лікарня*

Вступ

Як відомо, туберкульоз нині — найпоширеніша інфекційна хвороба. З 1995 р. в Україні було зарєстровано епідемію цієї хвороби. За останні роки (2002–2005) захворюваність на усі форми туберкульозу збільшилася на 7,0 % (з 75,6 на 100 тис. населення у 2002 р. до 84,1 — у 2005 р.). У 2005 р. виявлено 39 608 нових випадків захворювання на туберкульоз. Найвищими показники залишаються у південно-східних регіонах України, зокрема в Одеській області — 95,3 на 100 тис. населення (в 1,1 разу більше середньостатистичного показника в Україні) [1–3].

За останні чотири роки (2002–2005) смертність від усіх форм туберкульозу збільшилася на

23,4 % (у 2002 р. — 20,5 на 100 тис. населення; у 2005 р. — 25,3), зокрема в Одеській області — 28,5 на 100 тис. населення (в 1,1 разу більше середньостатистичного показника в Україні) [2; 3].

Одним із основних факторів, що сприяє зростанню захворюваності на туберкульоз, є швидке поширення штамів мікобактерій туберкульозу (МБТ), резистентних до протитуберкульозних препаратів [4; 5]. Первинна резистентність безпосередньо залежить від частоти виявлення набутої нечутливості; чим більше хворих виділяють стійкі штами мікобактерій, тим більша ймовірність здорових осіб інфікуватися хіміорезистентними МБТ. Важливого практичного значення набуває полі-

хіміорезистентність, а особливо її різновид — мультирезистентність (резистентність до дії ізоніазиду та рифампіцину). За даними ВООЗ, у світі близько 50 млн людей інфіковано резистентними до антибактеріальних препаратів штамми МБТ; щороку відсоток виникнення нових випадків туберкульозу з первинною медикаментозною стійкістю збільшується [6–8].

Для підвищення ефективності боротьби з цією інфекцією в Україні впроваджується розробка і втілення державної системи моніторингу туберкульозу, обліково-звітної документації, адаптованих до міжнародних норм і стандартів. Так, згідно із наказами МОЗ України № 318 від 24.05.2006 р. і № 385 від 09.06.2006 р., рекомендується

ся застосовувати поділ хворих на клінічні та диспансерні категорії, адаптовані до міжнародної протитуберкульозної стратегії [9–11].

Серед заходів також рекомендуються розробка та вивчення закономірностей епідеміологічного процесу в країні, окремих регіонах і методів керування ним. Це завдання має розв'язуватися переважно за допомогою генетичних медико-біологічних лабораторій, що належать до IV рівня мікробіологічних дослідних установ [12].

Основна роль у лабораторній діагностиці резистентності збудника туберкульозу практично в усіх країнах світу належить бактеріологічним методам. Однак останнім часом вагомішими стають молекулярно-генетичні методи. Також у літературі з'явилися дані щодо визначення медикаментозної чутливості мікобактерій до різних антибактеріальних препаратів за допомогою мультиплексної альель-специфічної полімеразно-ланцюгової реакції (МАС-ПЛР). У літературі описана методика визначення мутантних послідовностей у гені *katG* [13], виникнення яких спричинює медикаментозну резистентність до ізоніазиду. Основними перевагами цього методу є значно більша чутливість і швидкість отримання результатів, що відіграє вирішальну роль у призначенні адекватної фармакотерапії.

Останнім часом усе суттєвішого значення набуває відстеження циркуляції такої родини штамів, як *Beijing*, якій притаманний високий рівень медикаментозної резистентності. Розв'язала цю проблему методика виявлення належності штамів МБТ до родини *Beijing* із застосуванням методу визначення інсерційної послідовності IS6110 у регіоні між генами *dnaA* і *dnaN* [14].

Метою даного дослідження було вивчення розповсюдженості медикаментозної чутливості збудника туберкульозу та визначення інформативності детекції резистентності до ізоніазиду на прикладі Одеського

регіону за допомогою МАС-ПЛР.

Матеріали та методи дослідження

Для вивчення розповсюдженості резистентних штамів *M. tuberculosis* був проведений ретроспективний аналіз бактеріологічних досліджень на стійкість до протитуберкульозних препаратів I ряду, виконаних у бактеріологічній лабораторії Одеської обласної клінічної протитуберкульозної лікарні (ОКТЛ) протягом лютого–червня 2006 р. Згідно з наказом МОЗ України № 384 від 09.06.2006 р., визначення медикаментозної чутливості виділених культур *M. tuberculosis* необхідно обов'язково проводити до стрептоміцину, ізоніазиду, етамбутолу, рифампіцину та піразинаміду [10]. Для визначення медикаментозної резистентності застосовували метод абсолютних концентрацій на твердому живильному середовищі Левенштейна — Єнсена із застосуванням стандартних концентрацій протитуберкульозних препаратів.

Для отримання статистичних даних вивчали медичні карти пацієнтів, що перебувають чи перебували на лікуванні в ОКТЛ.

Виділення культур збудника туберкульозу проводили на базі бактеріологічної лабораторії ОКТЛ методом пасажів одноразової мікробіологічної петлі за пророслими культурами збудника туберкульозу на твердому живильному середовищі Левенштейна — Єнсена; отримані фрагменти культур вносили до одноразової пробірки Еппендорфа з подальшим додаванням розчину хлороформу й утриманням у термостаті при 95 °С протягом 20 хв.

Для визначення мутацій у гені *katG* використовували МАС-ПЛР із застосуванням трьох праймерів [13]. За умов відсутності мутації в кодоні 315 гена *katG* внутрішній зворотний праймер *katg5R* приєднувався до другої основи (Г) кодона 315 (АГЦ). У результаті 292 п. н. фрагмент ампліфікувався також

за участі зовнішнього прямого праймера *katg0F*. За умов мутації у цьому кодоні 292 п. н. фрагмент не ампліфікуватиметься, і два зовнішніх праймери *katg0F* і *katg4R* будуть ампліфікувати цілий фрагмент, що складається з 435 п. н.

Для виявлення родини штамів *Beijing* визначали інсерційну послідовність IS6110 у регіоні між генами *dnaA* і *dnaN* методом ПЛР [14].

Статистичну обробку отриманих матеріалів проводили за допомогою пакета програм Microsoft Excel.

Результати дослідження та їх обговорення

Загалом виділено 102 культури збудника туберкульозу, але, на жаль, медичні карти 4 пацієнтів були відсутні, тому для аналізу взаємозв'язку наявності мутації гена *katG* і статистичних даних вивчені медичні карти хворих, від яких виділено культури.

Згідно з отриманими даними, серед 98 культур *M. tuberculosis* тільки 11 зразків (11,2 %) виявились чутливими до всіх п'яти препаратів першого ряду; водночас нечутливими до ізоніазиду були 54 культури (55,1%), до піразинаміду — 38 культур (38,8 %), до етамбутолу — 51 культура (52,0 %). Найбільша резистентність спостерігалася до стрептоміцину — 60 культур із 98 (61,2 %) і рифампіцину — 80 культур (81,6 %). Такі показники, як мультирезистентність і резистентність до всіх п'яти протитуберкульозних препаратів першого ряду, спостерігалися відповідно в 49 (50,0 %) і 21 (21,4 %) випадках із 98, що досліджувалися.

Із 98 культур найбільша частина виділена від хворих із вперше діагностованим туберкульозом (ВДТБ), а саме — 69. Другу і третю за чисельністю групи становили хворі на хронічний туберкульоз легень (ХТБ) і рецидивний туберкульоз (РТБ) — 21 і 8 відповідно.

Рівні культуральної резистентності до протитуберкульозних препаратів першого ряду серед хворих на ВДТБ, ХТЛ і

Показники культуральної медикаментозної резистентності до протитуберкульозних препаратів першого ряду у хворих на туберкульоз легень за даними ретроспективного аналізу

Показники резистентності	ВДТБ		ХТБ		РТБ		Загалом	
	кількість	%	кількість	%	кількість	%	кількість	%
Чутливість до всіх п'яти препаратів	10	14,5	1	4,8	0	0	11	11,2
Резистентність до Н	36	52,2	15	71,4	3	37,5	54	55,1
Резистентність до R	53	76,8	20	95,2	7	87,5	80	81,6
Резистентність до Z	25	36,2	10	47,6	3	37,5	38	38,8
Резистентність до S	39	56,5	15	71,4	6	75,0	60	61,2
Резистентність до E	33	47,8	13	61,9	5	62,5	51	52,0
Мультирезистентність	31	44,9	15*	71,4*	3	37,5	49	50,0
Резистентність I ряду	11	15,9	8*	38,1*	3	37,5	21	21,4
Усього	69	100,0	21	100,0	8	100,0	98	100,0

Примітка.* — $P < 0,05$ відносно показників хворих із ВДТБ. Скорочення: Н — ізоніазид; R — рифампіцин; Z — піразинамід; S — стрептоміцин; E — етамбутол; ВДТБ — туберкульоз, діагностований вперше; ХТБ — хронічний туберкульоз; РТБ — рецидивний туберкульоз.

РТЛ, за даними ретроспективного аналізу, наведені в табл. 1.

Згідно із запровадженою в Україні DOTS і DOTS-плюс стратегією, хворих на туберкульоз поділили на 4 категорії. З 98 досліджуваних пацієнтів до категорії I зараховано 48 (49,0 %) хворих, до категорії II — 24 (24,5 %) і до категорії IV — 25 (25,5 %). Одна хвора належала до категорії III (1,0 %), але, зважаючи на незначну чисельність групи, ми у подальшому не визначали рівень медикаментозної резистентності у цій категорії. Розповсюдженість медикаментозної резистентності серед вищезазначених категорій наведено на рис. 1.

Серед 102 отриманих ДНК-ізолятів культур збудника мутація в кодоні 315 гена *katG* виявлена в 56 (54,9 %) ізолятах, відповідно мутація відсутня в 46 (45,1 %) ізолятах (рис. 2). Серед 56 ізолятів, що мали мутацію кодона 315 гена *katG*, 47 (83,9 %) резистентні, згідно з даними культурального методу, водночас 9 (16,1 %) чутливі до дії ізоніазиду. Далі, серед 46 ізолятів без мутації 39 (84,8 %) культур — чутливі до дії ізоніазиду, а 7 (15,2 %) — резистентні.

При дослідженні внеску даної мутації у формування нечутливості до ізоніазиду встановлено, що він становив близько 87,0 %.

Дані про належність досліджених штамів до родини *Beijing* наведено в табл. 2. Згідно з цією таблицею саме серед ізолятів із мутацією *katG* дещо більше половини штамів належать до родини *Beijing*, тимчасом як серед ізолятів без такої мутації штамми родини *Beijing* у 2,5 рази рідше спостерігаються, ніж штамми інших родин ($P < 0,05$). Поширеність штамів родини *Beijing* се-

ред ізоніазид-чутливих і резистентних ізолятів, за даними культурального методу, загалом повторювала вищезазначену закономірність (див. табл. 2).

Серед хворих, що мають штам *M. tuberculosis* із мутацією в кодоні 315 гена *katG*, трохи переважали люди молодшого віку (до 40 років), тимчасом як відсутність такої мутації частіше спостерігалась у старшому

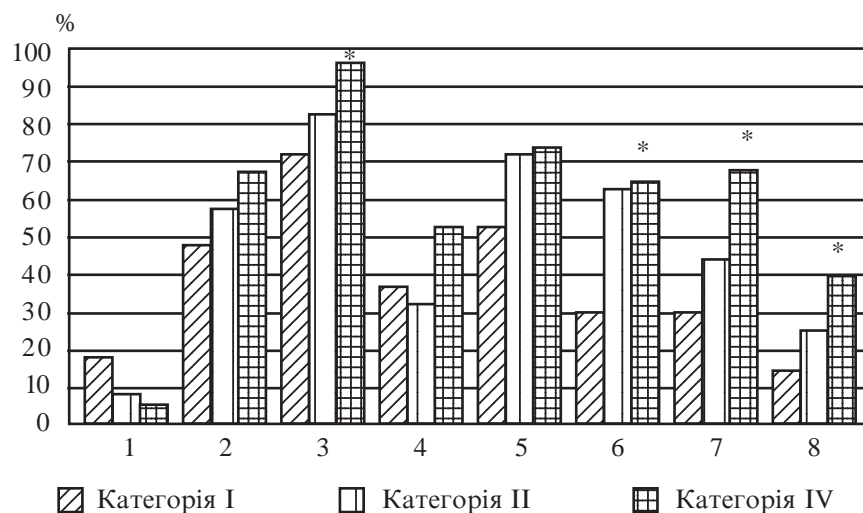


Рис. 1. Рівень медикаментозної резистентності культур збудника туберкульозу до головних протитуберкульозних препаратів у хворих на туберкульоз легень, які належать до різних категорій (I, II, IV)

Примітка.* — $P < 0,05$ відносно категорії I; 1 — чутливість до всіх п'яти протитуберкульозних препаратів першого ряду; 2 — резистентність до ізоніазиду; 3 — резистентність до рифампіцину; 4 — резистентність до піразинамід; 5 — резистентність до стрептоміцину; 6 — резистентність до етамбутолу; 7 — мультирезистентність; 8 — резистентність до I ряду протитуберкульозних препаратів.

Наявність мутації
в гені *katG*

Відсутність мутації
в гені *katG*

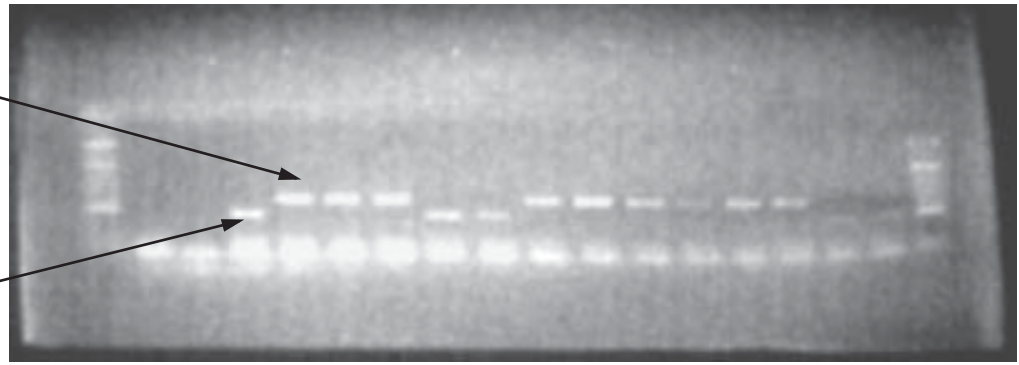


Рис. 2. Мультиплексна полімеразно-ланцюгова реакція мутації в кодоні 315 гена *katG*

Таблиця 2
Розповсюдженість штамів *M. tuberculosis* родини *Beijing*
серед ізоніазид-резистентних та ізоніазид-чутливих ізолятів
за даними культурального методу та полімеразно-ланцюгової реакції

Штами <i>M. tuberculosis</i>	Полімеразно-ланцюгова реакція		Культуральний метод	
	<i>katG</i> мутація	<i>katG</i> дикий тип	Н-резистент- ність	Н-чутливість
<i>Beijing</i>	31 (55,4 %)	13 (28,3 %)	29 (53,7 %)	15 (31,3 %)
не <i>Beijing</i>	25 (44,6 %)	33 (71,7 %)*	25 (46,3 %)	33 (68,7 %)*
Усього	56 (100 %)	46 (100 %)	54 (100 %)	48 (100 %)

Примітка. * — $P < 0,05$ відносно родини *Beijing*.

віці (після 40 років). Як у групі хворих, що мають штам *M. tuberculosis* із мутацією, так і в протилежній групі переважали чоловіки (майже 80 %), яких було у 4 рази більше, ніж жінок. Серед міських мешканців, хворих на туберкульоз, близько 65 % були носіями збудника туберкульозу з мутацією кодона 315 гена *katG*, серед сільських жителів цей показник сягав 46 %.

Цікаво, що належність хворих до В (III) групи майже в 4 рази зменшувала ризик появи мутації ($P < 0,05$). Зловживання алкоголем (81–89 %), паління (41–51 %) і ВІЛ-інфекція (30 %) були майже однаково поширені як у групі з мутацією *katG*, так і в протилежній групі (рис. 3).

Водночас, досліджувані хворі, в яких виділяли збудника туберкульозу з мутацією, майже втричі частіше вживали наркотики ($P < 0,05$) і в 2,5 рази частіше перебували в місцях позбавлення волі ($P < 0,05$). Також у групі з мутацією в кодоні 315 гена *katG* вірогідно більше випадків контакту з хворими на

туберкульоз в анамнезі та вдвічі більше випадків попереднього лікування протитуберкульозними препаратами ($P < 0,05$) (див. рис. 3).

Терміни знаходження хворих у протитуберкульозному стаціонарі, в яких виділяли *M. tuberculosis* із мутацією чи без мутації *katG*, майже не відрізнялися — близько 52–56 % пацієнтів лікувалися стаціонарно понад 90 днів. Однак 23–26 % хворих залишали лікарню раніше 60 днів. Під час госпіталізації у 82 і 90 % пацієнтів виявляли збудника туберкульозу відповідно без мутації та з мутацією за допомогою мікроскопії. Деструкція в легенях спостерігалась у 80–85 % випадків в обох групах. Водночас, якщо мутація кодона 315 гена *katG* майже рівномірно розподілялася серед пацієнтів, що належали до I (30,8 %), II (32,7 %) і IV (34,6 %)

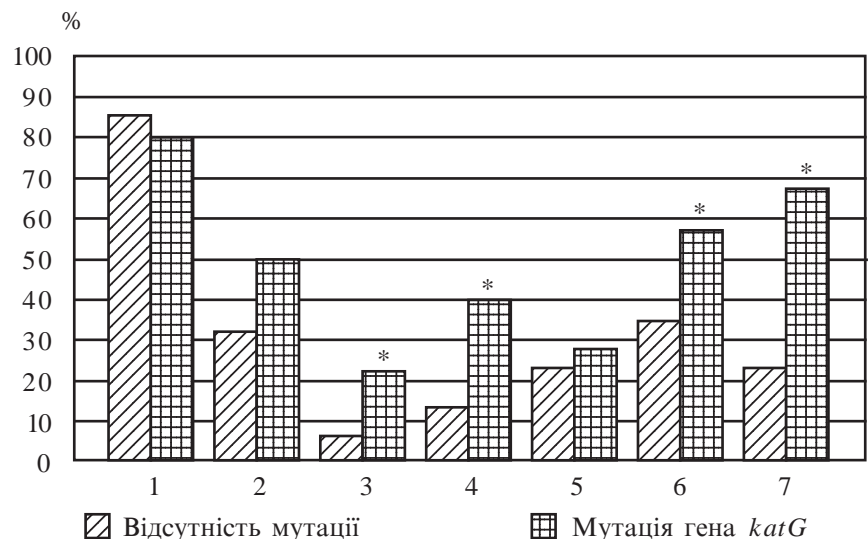


Рис. 3. Вплив різних факторів на розповсюдженість мутації в кодоні 315 гена *katG*

Примітка. * — $P < 0,05$ відносно категорії I; 1 — паління; 2 — зловживання алкоголем; 3 — вживання наркотиків; 4 — перебування в місцях позбавлення волі; 5 — ВІЛ-інфекція; 6 — контакт із хворим на туберкульоз; 7 — попереднє лікування протитуберкульозними препаратами.

категорій, то збудник туберкульозу без цієї мутації головним чином виявлявся у хворих I категорії (71,1 %) і значно рідше — у II (17,8 %, $P < 0,05$) і IV (11,1 %, $P < 0,05$) категорій.

Серед обстежених, що виділяли збудника туберкульозу з мутацією *katG*, втричі рідше спостерігалось розсмоктування туберкульозних інфільтратів і вогнищ (у тому числі й часткове) та рубцювання туберкульозних порожнин і частіше в легенях зберігалися процеси інфільтрації, розпаду й обсіменіння (рис. 4). Також майже втричі частіше на час виписування у хворих реєструвалося бактеріовиділення як за даними мікроскопії, так і культурального методу, ніж у групі без даної мутації. Припинення бактеріовиділення, за даними мікроскопії, на час виписування у групі, де не спостерігалась мутація, дорівнювало 73,7 % і лише у 26,3 % випадків — у групі, що характеризувалась мутацією кодона 315 гена *katG* ($P < 0,05$). До 120-го дня лікування бактеріовиділення, за показниками мікроскопії, припинялось у 96,4 % пацієнтів (мутація *katG* відсутня) та у 72,7 % (мутація *katG* наявна, $P < 0,05$). Однак бактеріовиділення на час виписування, за даними посіву, зберігалось у 84–92 % хворих (див. рис. 4).

Пацієнти, що виділяли мутантний штам збудника туберкульозу, частіше переривали терапію (49,0 %, $P < 0,05$), тимчасом як хворі на туберкульоз, які виділяли немутантний штам, після завершення курсу частіше виписувалися для амбулаторного лікування (34,8 %, $P < 0,05$). Мутація в кодоні *katG* супроводжувалась майже в 7 разів вищою смертністю ($P < 0,05$).

Аналізуючи вищенаведені дані про частоту виявлення медикamentозно резистентних штамів *M. tuberculosis* в Одеському регіоні, можна зробити висновки про виражену тенденцію до збільшення частки резистентних і мультирезистентних штамів протягом 2000–2006 рр., а також про зростання кількості штамів, резистентних до 3–

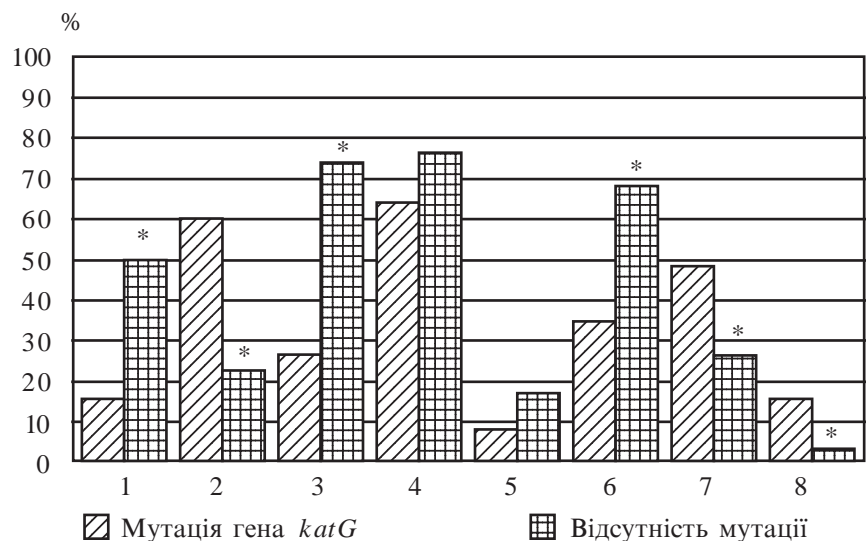


Рис. 4. Ефективність лікування та причини виписування хворих на туберкульоз, які виділяли *M. tuberculosis* із мутацією в кодоні 315 гена *katG* та без неї

Примітка. * — $P < 0,05$ відносно аналогічного показника групи з мутацією гена *katG*; 1 — часткове розсмоктування, рубцювання; 2 — збереження бактеріовиділення за мікроскопією та культурою на час виписування; 3 — припинення бактеріовиділення за мікроскопією на час виписування; 4 — припинення бактеріовиділення за мікроскопією до 120 днів; 5 — виписування хворих із продовженням лікування поза стаціонаром; 6 — виписування хворих у зв'язку з перервою лікування; 7 — смерть хворого протягом року (2006).

5 препаратів [15]. Зокрема, резистентність до ізоніазиду в 2000 р. становила 25,0 %, у 2002 р. — 37,8 %, а в 2006 р. — уже 55,1 % (52,2 % для ВДТБ); резистентність до рифампіцину в 2000 р. дорівнювала 19,5 %, у 2002 р. — 35,7 %, а в 2006 р. — більш ніж подвоїлася — 81,6 % (76,8 % для ВДТБ); мультирезистентність у 2000 р. була 11,7 %, у 2002 р. — 22,4 %, у 2006 р. — знову подвоїлася до 50,0 % (44,9 % для ВДТБ). І, навпаки, кількість штамів, чутливих до дії всіх протитуберкульозних препаратів, у 2000 р. сягала 42,3 %, у 2002 р. — скоротилася до 32,3 %, а в 2006 р. — знизилася до 11,2 % (14,5 % для ВДТБ). Це явище є клінічно й епідеміологічно небезпечним.

Цілком зрозуміло, що найбільш однаково мультирезистентність і резистентність до препаратів першого ряду спостерігались у пацієнтів із хронічним туберкульозом легень, а також у хворих, які належать до IV категорії.

Серед отриманих ДНК-ізолятів збудника мутація в кодоні 315 гена *katG* спостерігалась в

54,9 % випадків. Водночас було встановлено, що серед штамів, резистентних до ізоніазиду, за культуральними даними, близько 87,0 % мали таку мутацію. Це трохи не збігається з попередніми показниками [16], згідно з якими у 100 % культурально резистентних штамів наявна мутація в кодоні 315 гена *katG*. Щоправда сам автор повідомляє, що в Миколаївській області цей рівень дорівнює 95 %. Отже, ці відхилення незначні й, можливо, вказують на зміни у внеску даної мутації у нечутливість до ізоніазиду.

Згідно з отриманими даними, розповсюдженість штамів із родини *Beijing* становила 43,1 %, що трохи вище показників 2003 р. — 39,6 %. Отримані результати свідчать також про значну розповсюдженість мутації серед штамів родини *Beijing*, що також знаходить підтвердження в інших роботах [16].

Серед факторів, які можуть збільшувати ризик розвитку мутації в кодоні 315 гена *katG*, привертають увагу вживання наркотичних засобів, перебування

у місцях позбавлення волі, наявність туберкульозного контакту в анамнезі. Останні дві закономірності свідчать швидше про передачу вже мутованого збудника туберкульозу, аніж про розвиток мутації безпосередньо в організмі хворого. Це також може підтверджувати тенденція до більшого рівня мутації гена *katG* серед міських мешканців, де велика скупченість людей і більша ймовірність інфікування. Такі шкідливі звички, як паління та зловживання алкоголем, є дуже поширені — 80–90 % і близько 50 % відповідно — серед обох груп хворих на туберкульоз.

Терміни перебування на стаціонарному лікуванні хворих на туберкульоз, яких досліджували, виділяючи мутований або немутований штам збудника цієї інфекції, були майже однаковими, отже, тривалість терапії не впливала на виникнення мутації гена *katG*.

Під час госпіталізації у 82–90 % пацієнтів виявляли збудника туберкульозу під час мікроскопії, що відповідає світовим вимогам, а саме: підтвердження діагнозу даного захворювання за допомогою мікроскопії не менш як у 75 % хворих.

На користь розвитку мутації в кодоні 315 гена *katG* під час терапії свідчить більша частота мутацій серед пацієнтів II та IV категорій, які включають хворих із рецидивами, невдачами лікування, хронічною формою тощо. Цей же факт підтверджує більшу частоту мутації серед пацієнтів, які попередньо отримували протитуберкульозну фармакотерапію.

Наявність мутації в кодоні 315 гена *katG* зменшувала вірогідність процесів розсмоктування туберкульозних інфільтратів та рубцювання туберкульозних порожнин, збільшувала ймовірність бактеріовиділення під час виписування (за даними мікроскопії). Присутність мутантного штаму збудника туберкульозу збільшувала можливість переривання лікування та летальність. Зважаючи на приблизно однаковий термін

стаціонарного лікування хворих, яких досліджували, виділяючи мутантний або немутантний штам збудника хвороби, це можна пояснити необхідністю більш тривалої терапії носіїв мутантного штаму. Нарешті, наявність означеного штаму збудника туберкульозу асоціювалася зі збільшенням летальності майже у 7 разів.

Висновки

1. Протягом 2000–2006 рр. в Одеському регіоні спостерігається зростання рівня медикаментозної резистентності збудника туберкульозу до протитуберкульозних препаратів I ряду. Зокрема, мультирезистентність і резистентність до рифампіцину збільшилася більш ніж удвоє. І навпаки, кількість штамів, чутливих до дії всіх протитуберкульозних препаратів, зменшилась удвічі. Це явище клінічно й епідеміологічно небезпечне, оскільки підвищує ризик інфікування вже резистентними штамми *M. tuberculosis*.

2. Серед штамів, резистентних до ізоніазиду, за культуральними даними, близько 87,0 % мали мутацію у кодоні 315 гена *katG*. Розповсюдженість штамів родини *Beijing* становила 43,1 %, що дещо вище даних 2003 р. (39,6 %). Ці результати дуже близькі до аналогічних показників, отриманих у попередні роки в Одеському регіоні.

3. Перебування в місцях позбавлення волі, наявність туберкульозного контакту в анамнезі збільшують ризик виявлення мутації в кодоні 315 гена *katG*. Це може свідчити щонайперше про передачу вже мутованого збудника туберкульозу. Підтвердженням цього є тенденція зростання рівня мутації гена *katG* серед міських мешканців.

4. Тривалість перебування в стаціонарі хворих на туберкульоз обох груп була майже однаковою, отже, термін лікування не впливав на наявність мутації в гені *katG*.

5. Відзначалася більша частота мутацій *katG* серед хворих із рецидивами, невдачами лікування, хронічною формою ту-

беркульозу, а також у тих, що попередньо отримували протитуберкульозну терапію. Це свідчить про можливість розвитку мутації в кодоні 315 гена *katG* під час лікування.

6. Наявність мутації в кодоні 315 гена *katG* зменшувала вірогідність процесів розсмоктування туберкульозних інфільтратів і вогнищ та рубцювання туберкульозних порожнин, підвищувала ймовірність бактеріовиділення під час виписування. Присутність мутантного штаму збудника туберкульозу збільшувала можливість переривання лікування та летальність.

7. Метод визначення мутації в кодоні 315 гена *katG*, описаний у статті, після деякого вдосконалення може бути рекомендований для скринінг-визначення резистентності до ізоніазиду.

ЛІТЕРАТУРА

1. Від ефективного контролю за туберкульозом залежить національна безпека // Прес-реліз МОЗ України від 24.03.2005 р. (<http://www.moz.gov.ua/ua/main/press/?docID=3027>)
2. Лантєва Н. О. Епідеміологічна ситуація з туберкульозом в Україні за 2004 рік // Доповідь на засіданні вченої ради Інституту фізіатрії і пульмонології ім. Ф. Г. Яновського АМН України 27 вересня 2005 р.
3. Показники здоров'я населення та діяльності закладів охорони здоров'я Одеської області за 2004–2005 рр. — Одеса, 2006. — 337 с.
4. Епідеміологія туберкульозу у світі, сучасні підходи до організації протитуберкульозних заходів / Ю. І. Фещенко, В. М. Мельник, В. Г. Матусевич, Л. М. Антоненко // Укр. пульмонолог. журнал. — 2003. — № 4. — С. 5-10.
5. Ткач О. А. Чутливість мікобактерій туберкульозу до сучасних антимікобактеріальних препаратів у хворих на деструктивний туберкульоз легень // Там же. — 2004. — № 4. — С. 38-41.
6. Нечаєва О. Б., Скачкова Е. И., Фомина Н. И. Лекарственная устойчивость микобактерий туберкулеза в Свердловской области // Пробл. туберкулеза. — 2002. — № 9. — С. 8-11.
7. Laszlo A. The correlation between clinically resistant tuberculosis and laboratory drug resistance // Intern. J. Tuberc. and Lung Dis. — 2001. — Vol. 5, N 11. — P. 3-4.
8. Global tuberculosis control: WHO Report 2002. — Geneva, 2002. — 295 p.

9. *Наказ* МОЗ України № 318 від 24.05.2006 р. «Протокол по впровадженню ДOTS-стратегії в Україні». — К., 2006. — 47 с.

10. *Наказ* МОЗ України № 384 від 09.06.2006 р. «Протокол надання медичної допомоги хворим на туберкульоз». — К., 2006. — 87 с.

11. *Наказ* МОЗ України № 385 від 09.06.2006 р. «Інструкція про клінічну класифікацію туберкульозу та її застосування». — К., 2006. — 40 с.

12. *Фещенко Ю. І., Мельник В. М.* Стан і проблеми протитуберкульозної допомоги населенню України та шля-

хи її поліпшення // *Укр. пульмонолог. журнал.* — 2004. — № 2. — С. 6-11.

13. *Detection of Isoniazid-resistant Mycobacterium tuberculosis strains by a multiplex allele-specific PCR assay targeting katG codon 315 variation* / I. Mokrousov, T. Otten, M. Filipenko et al. // *J. Clin. Microbiol.* — 2002. — Vol. 40, N 7. — P. 2509-2512.

14. *Genotypic Analysis of Mycobacterium tuberculosis in Bangladesh and Prevalence of the Beijing Strain* / S. Banu, V. Gordon Stephen, Palmer Si et al. // *J. Clin. Microbiol.* — 2004. — N 42 (2). — P. 674-682.

15. *Показники стійкості мікобактерій туберкульозу до протитуберкульозних препаратів першого ряду в м. Одесі та Одеській області* / В. В. Николаєвський, В. Й. Кресюн, К. О. Пруднікова, О. К. Асмолов // *Одес. мед. журнал.* — 2004. — № 3. — С. 59-63.

16. *Николаевский В. В., Дробневски Ф. А., Бажора Ю. И.* Молекулярно-генетическая характеристика штаммов микобактерий, выделенных в Южном регионе Украины // *Цитология и генетика.* — 2004. — № 4. — С. 29-33.

УДК 616-002.5-079.4:577.21:615.015.8

В. Й. Кресюн, К. О. Антоненко, О. К. Лобанов, В. А. Штанько

ПОШИРЕНІСТЬ МЕДИКАМЕНТОЗНОЇ РЕЗИСТЕНТНОСТІ У ЗБУДНИКА ТУБЕРКУЛЬОЗУ ТА ІНФОРМАТИВНІСТЬ ЇЇ ГЕНОТИПІЧНОГО ВИЗНАЧЕННЯ

Метою даного дослідження було вивчити розповсюдженість медикаментозної резистентності збудника туберкульозу та визначити інформативність детекції резистентності до ізоніазиду на прикладі Одеського регіону за допомогою мультиплексною аель-специфічної полімеразно-ланцюгової реакції.

Протягом 2000–2006 рр. в Одеському регіоні спостерігається зростання рівня медикаментозної резистентності збудника туберкульозу до протитуберкульозних препаратів I ряду. Серед штамів, резистентних до ізоніазиду, за культуральними даними, близько 87,0 % мали мутацію у кодоні 315 гена *katG*. Належність до родини *Beijing* становила 43,1 %, що трохи перевищує дані 2003 р. (39,6 %).

Метод визначення мутації в кодоні 315 гена *katG*, відображений у статті, після деякого вдосконалення може бути рекомендований як скринінг-визначення резистентності до ізоніазиду.

Ключові слова: медикаментозна резистентність, ПЛР, туберкульоз, ген *katG*.

UDC 616-002.5-079.4:577.21:615.015.8

V. Y. Kresyun, K. O. Antonenko, O. K. Lobanov, V. A. Shtanko

SPREADNESS OF DRUG-RESISTANCE OF TUBERCULOSIS AGENT AND MEANING OF ITS GENOTYPING DETECTION

The goal of the present study was to evaluate the spreadness of drug-resistance and meaning of genotyping detection of isoniazide-resistance on the example of the Odesa region with the help of a simple multiplex allele-specific polymerization chain reaction.

During 2000–2006 in the Odesa region there is a significant rise of drug-resistance to the I line antituberculosis agents. Among isolates that are resistant to isoniazid approximately 87.0 % had mutation in codon 315 *katG*. Spreadness of *Beijing* family was 43.1 %, that exceeds a bit the data of 2003 (39.6 %).

Detection of isoniazid-resistance at codon 315 gene *katG*, given in the article, after certain improvement, can be recommended as screening-test for isoniazid-resistance.

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