УДК 616-002.5-07

О. В. Філатова, М. Г. Бойко
ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія» м. Полтава

СВОЄЧАСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ РЕЗИСТЕНТНОСТІ МІКОБАКТЕРІЙ ТУБЕРКУЛЬОЗУ ЗА ДОПОМОГОЮ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧНОГО МЕТОДУ

Мета. Встановити за декілька годин до якого з протитуберкульозних препаратів (ізоніазиду чи/та рифампіцину) відмічається стійкість та одразу призначити адекватне лікування. Підвищити та проаналізувати якість лікування вперше діагностованого деструктивного хіміорезистентного туберкульозу легень за допомогою молекулярно-генетичного методу виділення ДНК.

Матеріали та методи. Проаналізовано результати виділення ДНК із харкотиння на стійкість до ізоніазиду та рифампіцину у 100 хворих з вперше виявленим деструктивним хіміорезистентним туберкульозом легень.

Результати та обговорення. Визначена частота стійкості до ізоніазиду та рифампіцину за допомогою молекулярно-генетичного виділення ДНК з харкотиння хворого. Проаналізовано ефективність лікування хворих, яким вже на початку лікування корегували протитуберкульозні препарати.

Висновок: Застосування молекулярно-генетичного методу виділення ДНК із харкотиння хворого перед призначенням лікування дозволить не призначати ті препарати, до яких можливо буде визначатися стійкість. Правильно підібрані препарати дозволять підвищити ефективність лікування вперше діагностованого хіміорезистентного туберкульозу легень.

Ключові слова: генетика, туберкульоз, лікування, резистентність.

Проблема резистентності збудника туберкульозу набула останнім часом важливе значення. Пізня діагностика лікарської стійкості мікобактерій туберкульозу до ізоніазиду та рифампіцину може привести до прискореного розвитку стійкості до інших раніше дієвих лікарських препаратів. Зараження людини такими штамами призводить до швидкого прогресування специфічного процесу [1, 3]. Бактеріологічні методи виявлення лікарської стійкості вимагають тривалого часу (до трьох місяців) і лікар отримує результати про лікарську стійкість МБТ практично до моменту завершення інтенсивної фази лікування. Туберкульоз – інфекційна хвороба, що викликається мікобактеріями туберкульозу (M. Tuberculosis), перебігає з періодичними загостреннями, рецидивами та ремісіями, спричиняє високу тимчасову та стійку втрату працездатності, вимагає тривалого комплексного лікування та реабілітації хворих. Негативні соціально-економічні наслідки, що спричиняються туберкульозом, дали підстави віднести цю хворобу до групи соціально-небезпечних [2, 4]. Туберкульоз відомий із давнини і до теперішнього часу залишається однією з найпоширеніших хвороб світу, що має тенденцію до зростання, особливо в країнах із слабко розвиненою економікою. Вивчення проблеми захворюваності на хіміорезистентний туберкульоз визначається в Україні та світі постійним збільшенням хворих, які виділяють стійкі до протитуберкульозних препаратів мікобактерії туберкульозу, обумовлюючи все більшу частоту виникнення туберкульозу з первинною резистентність збудника. Поширення резистентних форм штамів мікобактерій призводить до зниження клінічної ефективності лікування хворих, подовження термінів хіміотерапії та збільшення фінансових витрат. Поштовхом до погіршення епідемічної ситуації з туберкульозу є зниження життєвого рівня населення та труднощів у наданні послуг із лікування хворих на туберкульоз. Виявлення випадків туберкульозу в активній стадії захворювання, неправильне лікування, порушення режиму хворими, незадовільне постачання медикаментів, недостатнє фінансування та відсутність контролю за процесом лікування сприяли зростанню випадків резистентності МБТ до протитуберкульозних препаратів, що вважається однією з важливих причин зростання епідемії туберкульозу [5].

Молекулярно-генетична технологія виявлення стійкості МБТ до рифампіцину і ізоніазиду дозволяє визначати ДНК мікобактерій туберкульозу і ідентифікувати мутації в генах, відповідальні за стійкість збудника туберкульозу до ізоніазиду та рифампіцину [6, 7, 8].

Метою дослідження було встановити за мінімальні строки до якого з протитуберкульозних препаратів (ізоніазиду чи/та рифампіцину) відмічається стійкість та одразу призначити адекватне лікування. Підвищити та проаналізувати якість лікування вперше діагностованого деструктив-

ного хіміорезистентного туберкульозу легень за допомогою молекулярно-генетичного методу виділення ДНК.

Стаття є фрагментом науково-дослідної роботи Вищого державного навчального закладу України «Українська медична стоматологічна академія» «Вивчити ефективність організації лікування хворих на туберкульоз легень і вдосконалити заходи щодо її поліпшення» (номер держреєстрації 0108U000216).

Матеріали та методи

Проаналізовано результати виділення ДНК із харкотиння на стійкість до ізоніазиду та рифампіцину у 100 хворих з вперше виявленим хіміорезистентним туберкульозом легень на базі Полтавського обласного клінічного протитуберкульозного диспансеру за період 2012–2013 рр. Діагностична програма складалася з: виділення ДНК із харкотиння молекулярно-генетичним методом, оглядової рентгенограмми органів грудної клітини, загального аналізу крові.

Результати та обговорення

Досліджено 100 хворих – 50 з дисемінованим та 50 з інфільтративним туберкульозом легень. Захворіли вперше, у всіх була деструкція та бактеріовиділення. Всі хворі були з Полтави та Полтавської області. Серед пацієнтів домінували чоловіки – 74 (74%), жінок було 26 (26%).

Якщо мутація в генах rpoB (рифампіцин), katG (ізоніазид), була відсутня то пацієнтам призначали чотири п'ять препаратів першого ряду (ізоніазид, рифампіцин, піразинамід, етамбутол, стрептоміцин). При виявленні мутацій в генах мікобактерій туберкульозу, що відповідають за стійкість до ізоніазиду (katG), і відсутності мутацій в гені rpoB відповідальні за стійкість до рифампіцину, хворим призначалася наступна комбінація препаратів: рифампіцин, етамбутол, піразинамід, етіонамід, левофлоксацин.

Результати встановлення стійкості до рифампіцину і ізоніазиду за методом абсолютних концентрацій, показали, що у осіб з інфільтративним туберкульозом стійкість до R складає 23%, до H – 35%, у хворих з дисемінованим, стійкість до R була у 21,4%, до H у 36,7%, до H і R з інфільтративною формою 74,5%, з дисемінованою – 86% відповідно. Молекулярно-генетичний аналіз M. tuberculosis показав, що у 85% пацієнтів була резистентність до ізоніазиду та рифампіцину.

Знаючи резистентність МБТ з самого початку лікування, ми підвищили дозування етіонаміду до 1,5 г, левофлоксацину до 750 мг з урахуванням часу прийому пероральних препаратів. Через 4 години після прийому протитуберкульозних препаратів, коли бактеріостатична активність у крові досягає максимального ефекту, ми вводили левофлоксацин внутрішньовенно, а етіонамід перорально, тим самим підвищуючи їх протитуберкульозні властивості. В кінці стаціонарного лікування було з інфільтративною формою туберкульозу скарг на загальний стан ніхто з пацієнтів не виявляв, з дисемінованою скаржився на невелику слабкість тільки 1 (1%) хворий. ШОЄ від 30 до 60 мм/год і вище не визначалося. Прискорення ШОЄ (до 15 мм/год) з інфільтративним – у 35 (35%), з дисемінованим 47 – (47%) ($p<0,05$). Незначний лейкоцитоз був у 1 (1%) хворого на дисемінований туберкульоз В групі з інфільтративним туберкульозом мікроскопічно вдалося досягти абацилювання через 6 місяців лікування у 45 (45%), з дисемінованим у 41 (41%) ($p<0,05$) хворих. На 9–12 місяць лікування абацилювання припинилося у всіх хворих. Культурально абацилювання припинилося через 6 місяців лікування з інфільтративним туберкульозом у 46 (46%), з дисеміцнованим у 44 (52%) ($p<0,05$). На 9–12 місяці лікування вдалося досягти абацілювання у всіх хворих в обох групах. В першій та другій групі через 4–6 місяців лікування патологічні тіні розсмоктались у 48 (48%) та у 36 (36%) ($p<0,05$) відповідно. Через 10–12 місяців загоєння деструкції відмічалось у всіх пацієнтів.

Висновки

1. В групі з інфільтративним туберкульозом мікроскопічно вдалося досягти абацилювання через 6 місяців лікування у 45 (45%), з дисемінованим у 41 (41%) ($p<0,05$) хворих.

2. На 9–12 місяць лікування абацилювання припинилося у всіх хворих. Культурально абацилювання припинилося через 6 місяців лікування з інфільтративним туберкульозом у 46 (46%), з дисеміцнованим у 44 (44%) ($p<0,05$).

3. На 9–12 місяці лікування вдалося досягти абацилювання у всіх хворих в обох групах. В першій та другій групі через 4–6 місяців лікування патологічні тіні розсмоктались у 48 (48%) та у 36 (36%) ($p<0,05$) відповідно. Через 10–12 місяців загоєння деструкції відмічалось у всіх пацієнтів.

4. Проведені дослідження підтверджують актуальність проблеми раннього виявлення стійкості мікобактерій туберкульозу до протитуберкульозних препаратів, особливо до ізоніазиду та рифампіцину.

5. Застосування молекулярно-генетичного методу виділення ДНК із харкотиння хворого перед призначенням лікування дозволить не призначати ті препарати, до яких можливо буде визначатися стійкість.

6. Правильно підібрані препарати дозволять підвищити ефективність лікування вперше діагностованого хіміорезистентного туберкульозу легень.

Список літератури

1. Агаев Ф. Ф. Молекулярно-генетические и бактериологические методы диагностики M. Tuberculosis с множественной лекарственной устойчивостью [Текст] / Ф. Ф. Агаев [и др.] // Туберкулез и болезни легких. – 2009. – № 9. – С. 32–35.
2. Журавлев В. Ю. Молекулярно-генетические технологи в этиологической диагностике диссеминированного туберкулеза легких [Текст] / В. Ю. Журавлев О. В. Нарвская, А. А. Вязовая [и др.] // Журнал микробиологии эпидемиологии и иммунобиологии. – 2010. – № 3. – С. 77–81.
3. Мякишева, Т. В. Сравнительная характеристика течения лекарственно–устойчивого и лекарственно–чувствительного туберкулеза легких у впервые вывленных больных молодого возраста [Текст] / Т. В. Мякишева, В. Ю. Мишин // Пульмонология. – 2009. – № 3. – С. 96–100.
4. Філатова О. В. Значення молекулярно-генетичного методу виділення ДНК у лікуванні вперше діагностованого хіміорезистентного туберкульозу легень [Текст] / О. В. Філатова // Проблеми екології та медицини. – 2013. – Т. 17 № 1–2. – С. 83–92.
5. Філатова О. В. Роль генетичних досліджень в лікуванні туберкульозу [Текст] / О. В. Філатова, М. Г. Бойко // Вісник проблем біології і медицини. – 2013. – Вип.1, Т.2 (99) – С. 221–223.
6. Dixie E. S. The global treat of Drug-Resistant Tuberculosis / E. S. Dixie, G. G. Kenneth // The New England Journal of Medicine. – 1998. – Vol. 338, № 23. – P. 1689–1690.
7. Iseman M. D. Drug-resistant tuberculosis / M. D. Iseman, L. A. Madsen // Clinics in Chest Medicine. – 1993. – Vol. 10, № 3. – P. 65–70.
8. Willcox P. A. Drug-resistant tuberculosis / P. A. Willcox // Curr Opin Pulm Med. – 2000. – May, Vol. 6 (3). – P. 198–202.

Стаття надійшла до редакції 11.03.2014 р.

Е. В. Филатова, Н. Г. Бойко
ВГУЗУ «Украинская медицинская стоматологическая академия» г. Полтава

СВОЕВРЕМЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ РЕЗИСТЕНТНОСТИ МИКОБАКТЕРИЙ ТУБЕРКУЛЕЗА С ПОМОЩЬЮ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОГО МЕТОДА

Цель. Установить за несколько часов, к какому из противотуберкулезных препаратов (изониазиду и/или рифампицину) отмечается устойчивость, и сразу назначить адекватное лечение. Повысить и проанализировать качество лечения впервые диагностированного деструктивного химиорезистентного туберкулеза легких с помощью молекулярно-генетического метода выделения ДНК.

Материалы и методы. Проанализированы результаты выделения ДНК из мокроты на устойчивость к изониазиду и рифампицину у 100 больных с впервые выявленным деструктивным химиорезистентным туберкулезом легких.

Результаты и обсуждение. Определена частота устойчивости к изониазиду и рифампицину с помощью молекулярно-генетического выделения ДНК из мокроты больного. Проанализирована эффективность лечения больных, которым уже в начале лечения корректировали противотуберкулезные препараты.

Вывод: Применение молекулярно-генетического метода выделения ДНК из мокроты больного перед назначением лечения позволит не назначать те препараты, к которым возможно будет определяться устойчивость. Правильно подобранные препараты позволят повысить эффективность лечения впервые диагоностованого химиорезистентного туберкулеза легких.

Ключевые слова: генетика, туберкулез, лечение, резистентность.

O. V. Filatova, M. G. Boyko
Ukrainian Medical Dental Academy, Poltava

EARLY IDENTIFICATION OF MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS RESISTANCE BY MOLECULAR GENETIC METHODS

Purpose. Set for several hours some kind protyvotuberkulesis drugs (isoniazidi and rifampicini) will stability and at once appoint correct treatment. The quality and above taken on analysis. Treatment dyahnostik first time been destructive lung tuberculosis hymyorezystentny with aid molecular-henetyk method is selected DNA.

Materials and methods. Results of sputum DNA is selected on the stability of isoniazidi and rifampicini 100 of patients with first time been hymyorezystenty tuberculosis of the lungs.

Results and discussion. In article frequency stability of isoniazidi and rifampicini aid molecular-henetyk is selected sputum DNA of the patient. Fnalysis holding efficiency treatment of patients, already in early some kind of treatment korrekting antinuberculosis preparations.

Conclusion: Application of molecular-henetyk method is selected sputum DNA of the patient before the appointment Treatment ability not assign something preparations, perhaps will there stability. Right appointment preparations more efficient treatment efficiency first time been hymyorezystentny tuberculosis of the lungs.

Keywords: genetics, tuberculosis, treatment resistance.