

ГЕНОТИПОВІ ТА КЛІНІКО-ЕПІДЕМІОЛОГІЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ ІЗОЛЯТІВ

Mycobacterium tuberculosis, що циркулюють в м. Києві

ДУ «Національний інститут фтизіатрії і пульмонології

імені Ф. Г. Яновського НАМН України» (м. Київ)

Інститут молекулярної біології і генетики НАН України (м. Київ)

**Національна медична академія післядипломної освіти імені П. Л. Шупика МОЗ України
(м. Київ)

Публікація є фрагментом науково-дослідної роботи «Визначити фактори ризику рецидивів туберкульозу легень та розробити оптимальні методи їх діагностики» відділення фтизіопульмонології НІФП, № держ. реєстрації 0110U001212; та НДР кафедри медичної та лабораторної генетики НМАПО імені П. Л. Шупика «Роль генетичних та середовищних факторів у виникненні та перебігу спадкової та набутої патології в онтогенезі», № держ. реєстрації 0109U002634.

Вступ. Методи молекулярної епідеміології, які базуються на інтеграції молекулярно-генетичного аналізу штамів *Mycobacterium tuberculosis* complex (МТК) і клініко-епідеміологічного аналізу характеристик хворих на туберкульоз дозволяють вирішувати практичні питання як короткострокової, так і довгострокової перспективи стратегії боротьби з туберкульозом. На рівні суспільного епідемічного контролю молекулярна епідеміологія дає змогу встановлювати найбільш клінічно- та епідеміологічно-небезпечні штами, виявляти групи ризику серед населення щодо зараження такими штамми, складати прогнози розвитку захворювання для різних груп пацієнтів та прогнозувати зміни епідеміологічної ситуації [9]. У більш глобальному контексті широкомасштабні дослідження структур локальних популяцій мікобактерій на основі молекулярно-генетичного аналізу, роблять вклад у вивчення еволюції їх патогенності, та встановлення джерел клональної експансії штамів мікобактерій у світі [4]. Дослідження як на регіональному, так і на глобальному рівнях серед багатьох груп МТК впевнено виділяють сімейство W-Beijing *M. tuberculosis* як групу найбільш вірулентних і еволюційно-успішних штамів [3, 8, 11]. Широкомасштабне дослідження коєволюції людини і МТК на основі повногеномного сиквенсу 259 штамів МТК встановило, що здатність вражати людину виникла у предкових штамів МТК майже одночасно з формуванням сучасного людського типу (70 000 років тому) [4]. Тоді як експансія сімейства Beijing пов'язана зі змінами у структурі популяції людини, вираженими у збільшенні чисельності та щільності популяції і пов'язаними з виникненням перших

осілих поселень і розповсюдженням землеробства (3000-5000 років тому). Ці дані відображають характер та напрямок адаптації представників МТК до змін у людській популяції і є важливими для формування довгострокової стратегії боротьби з туберкульозом. На регіональному рівні важливим для встановлення значущих асоціацій між генотипом мікобактерії та її проявами є стратегії генотипування та використані у них маркери, які дозволяють виділяти специфічні сімейства та сублінії МТК.

Структура популяції клінічних штамів МБТ, що циркулюють у м. Києві, була встановлена нами у попередньому дослідженні на основі SNP (single nucleotide polymorphism) – типування трьох «принципових генотипових груп» (ПГГ), ETR-VNTR (Varied Number of tandem repeats)-типуювання та делеційного аналізу [2, власні неопубліковані дані]. Було виявлено превалювання у популяції сучасних штамів МБТ ПГГ-1 і сімейства Beijing.

Метою даної роботи було виявлення асоціацій між генотипами МБТ і клініко-епідеміологічними характеристиками хворих на туберкульоз легень м. Києва для встановлення клінічно- і епідеміологічно-небезпечних штамів МБТ і подальшого вдосконалення стратегії генотипування клінічних ізолятів МБТ київського регіону.

Об'єкт і методи дослідження. *Характеристика зразків.* Культури мікобактерій туберкульозного комплексу були отримані протягом 2006-2011 років при випадковій вибірці від 120 хворих на легеневий туберкульоз (ЛТ) пацієнтів (14 жінок (11,7%) та 106 чоловіків (88,3%)), що проживають у м. Києві. Діагноз туберкульоз був встановлений за даними рентгенологічно-флюорографічних та клінічних обстежень, під час їх перебування хворих в ДУ «Національний інститут фтизіатрії і пульмонології імені Ф. Г. Яновського НАМН України» та Київській міській протитуберкульозній лікарні №1 з 2006 по 2011 роки, у відповідності до Наказу Міністерства охорони здоров'я України № 384 від 09. 06. 06. Епідеміологічна та клінічна інформація, яка включала дані про стать, вік, належність до груп вперше діагностованих випадків туберкульозу легень (ВДТБ),

рецидивуючого туберкульозу (РТБ), або хронічного туберкульозу (ХТБ), форму туберкульозного процесу, наявність деструктивних змін у легенях, коінфікування вірусом імунодефіциту людини (ВІЛ), та летальні випадки збирались з історій хвороби.

Ізоляти були генотиповані на основі ETR-VNTR (за локусами ETR A, B, C, D, E), SNP-типування групоспецифічних SNP *katG*⁴⁶³ та *gyrA*⁹⁵ за допомогою ПДРФ-аналізу, яке дозволяє встановити приналежність штаму до однієї з трьох «принципових генотипових груп» (ПГГ-1, ПГГ-2, ПГГ-3) та делеційного ПЛР-аналізу (делеція TbD1) [2].

Статистична обробка даних. Статистичний аналіз проводився в програмі Statistica 6. 0 (StatSoft inc.) і MedCalc (http://www.medcalc.org/calc/odds_ratio.php). Обробка результатів здійснювалася за допомогою пакету Microsoft Excel. Попарне порівняння частот проводилося за допомогою критерію χ^2 і точного критерію Фішера за необхідністю. Величина асоціації була розрахована з використанням показника відношення шансів (OR, odds ratio) при 95% довірчому інтервалі (95% CI). Різниця між сукупностями даних визначалася вірогідною при рівні статистичної значущості $P < 0,05$.

Результати досліджень та їх обговорення. 120 пацієнтів були за характером туберкульозного процесу розподілені на три групи наступним чином: 67 (55,8%) випадків ВДТБ, 29 (24,2%) – РТБ та 24 (20,0%) – ХТБ. Інфільтративна форма туберкульозу значимо частіше зустрічалась у пацієнтів з ВДТБ ($\chi^2=10,32$; $P=0,014$). Фіброзно-кавернозна форма домінувала серед випадків ХТБ (87,5% у порівнянні з 2,1% у групах ВДТБ й РТБ разом) (за критерієм Фішера $P=0,000$). Летальні випадки переважали у групах РТБ і ХТБ (за критерієм Фішера $P=0,01$). Група РТБ значимо відрізнялась від ВДТБ за частотою ВІЛ-позитивних випадків (відповідно 31,0% у порівнянні з 10,4%) ($\chi^2=6,18$; $P=0,013$). У групі ХТБ ВІЛ-позитивних зразків також було значно менше аніж у РТБ (2 з 24 випадків, 8,3%) проте різниця не була значущою. За генетичними характеристиками приналежності штамів

до ПГГ-1, ПГГ-2 і 3 групи ВДТБ\РТБ\ХТБ не мали статистично значущих відмінностей і розподіл був близьким до такого по всій вибірці (56,7% – штам ПГГ-1, 29,2% – ПГГ-2 і 14,2% – ПГГ-3). У групі ХТБ дещо більше були представлені штам ПГГ-2 і ПГГ-3 (37,5% і 20,8% відповідно).

Аналіз принципових генотипічних груп за клініко-епідеміологічними показниками не виявив значущих асоціацій. У ПГГ-1 дещо більшою була доля осіб молодого віку (16\24 роки) – 11,8% (8 випадків) у порівнянні з 2,8% (1 випадок) для ПГГ-2 і 5,9% (1 випадок) для ПГГ-3. Беручи до уваги виявлені тенденції, нами аналізувалися основні сімейства, представлені у популяції – Beijing і LAM (Latin American-Mediterranean) (табл. 1). Сімейство Beijing представлено щонайменш 4-ома

Таблиця 1

Клініко-епідеміологічні дані пацієнтів – носіїв штамів *M. tuberculosis*, розподілених за основними сімействами і групами МБТ

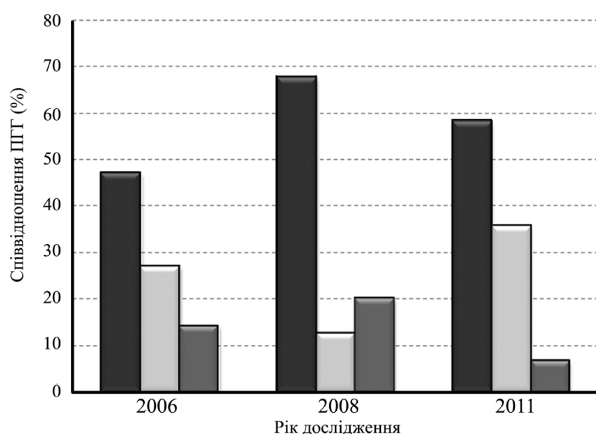
	Сімейства і групи штамів МБТ					
	Beijing N=65, (%)	Інші сімейства N=55, (%)	P ⁺	LAM N=10, (%)	Інші сімейства N=110, (%)	P ⁺
Рік дослідження						
2006	23 (35,4)	28 (50,9)		4 (40,0)	47 (42,7)	
2008	26 (40,0)	14 (25,5)	0,094	1 (10,0)	39 (35,5)	0,136
2011	16 (24,6)	13 (23,6)		5 (50,0)	24 (21,8)	
Стать						
Чоловіча	60 (92,3)	46 (83,6)		8 (80,0)	98 (89,1)	
Жіноча	5 (7,7)	9 (16,4)	0,149	2 (20,0)	12 (10,9)	0,340
Вік						
16\24	8 (12,3)	2 (3,6)	0,106	-	10 (9,1)	
25\39	34 (52,5)	27 (49,1)		7 (70,0)	54 (49,1)	
40\54	17 (26,1)	21 (38,2)		1 (10,0)	37 (33,6)	
55\71	6 (9,1)	5 (9,1)		2 (20,0)	9 (8,2)	0,232
Групи ТБ						
ВДТБ	40 (61,5)	27 (49,0)	0,172	3 (30,0)	64 (58,2)	
РТБ	15 (23,1)	14 (25,5)		2 (20,0)	27 (24,5)	
ХТБ	10 (15,4)	14 (25,5)		5 (50,0)	19 (17,3)	0,021*
Форма ЛТБ						
ДСМ	15 (23,2)	16 (29,0)		2 (20,0)	29 (26,4)	
ІНФ	40 (61,5)	25 (45,5)		3 (30,0)	62 (56,3)	
Вогн.	1 (1,5)	-		-	1 (0,9)	
ФК	9 (13,8)	14 (25,5)	0,112	5 (50,0)	18 (16,4)	0,017*
Деструкція						
Є	52 (80,0)	45 (81,8)		10 (100,0)	87 (79,1)	
Відсутня	13 (20,0)	10 (18,2)		-	23 (20,9)	0,238
ВІЧ						
Поз.	9 (13,8)	9 (16,4)		1 (10,0)	17 (15,5)	
Нег.	56 (86,2)	46 (83,6)		9 (90,0)	93 (84,5)	
Летальн. вип.						
так	5 (7,7)	4 (7,3)	0,930	2 (20,0)	7 (6,4)	0,139
ні	60 (92,3)	51 (92,7)		8 (80,0)	103 (93,6)	

Примітка: * Значення P розраховані для параметру OR, наведені найбільш значущі числа, * – статистично значимі відхилення при $P < 0,05$; ДСМ – дисемінований туберкульоз легень; ІНФ – інфільтративний туберкульоз легень; Вогн. – вогнищевий туберкульоз легень; ФК – фіброзно-кавернозна форма туберкульозу легень.

кластерами: до ETR-VNTR типу 42435 віднесено 56 (46,7%) ізолятів, типу 42434 – 4 ізоляти (3,3%), типу 42335 – 3 ізоляти (2,5%) та типу 32432 – 2 ізоляти (1,7%) (власні неопубліковані дані). Загалом, ці штами складають 52,5% від проаналізованих ізолятів і 95,6% від кількості штамів, що належать до ПГГ-1. Сімейство LAM представлено 10 ізолятами ETR-VNTR типу 22232, які склали 28,6% у ПГГ-2 і 8,3% від усіх штамів.

Штами сімейства Beijing у порівнянні з усіма іншими штамми не виявили значущих асоціацій з клініко-епідеміологічними показниками пацієнтів. Проте аналіз вікових груп виявив збільшену частку хворих молодшої вікової групи (16\24 роки) у групі носіїв Beijing-штамів – 12,3% у порівнянні з 3,6% для інших штамів. Для штамів сімейства LAM характерна зворотна пропорція – збільшений відсоток пацієнтів похилого віку (55\71 рік) – 20,0% у порівнянні з 8,2%. Ця тенденція посилюється виявленою асоціацією між приналежністю до сімейства LAM і хронічним перебігом туберкульозу (за критерієм Фішера $P=0,026$; OR 4,789, CI(1,26-18,19), $P=0,021$) та фіброзно-кавернозною формою хвороби (за критерієм Фішера $P=0,022$; OR 5,11, CI(1,34-19,49), $P=0,017$) (табл. 1). Відповідно більшим для LAM-штамів був відсоток летальних випадків (20,0% у порівнянні з 6,4%).

Вивчення динамічних змін у популяції МБТ може виявити тенденції зміни епідемічної ситуації із захворюванням на туберкульоз. Аналіз супутніх характеристик ізолятів, розподілених за роками, не виявив значущих відхилень у пропорціях за групами ВДТБ\ХТБ\РТБ і віковими групами (табл. 2). Однак, у порівнянні з 2006 роком в більш пізні роки збільшився відсоток штамів ПГГ-1 (рис.) і також відсоток кластеризованих штамів (табл. 2).



■ ПГГ-1	46,9%	67,5%	58,0%
□ ПГГ-2	27,0%	12,5%	35,5%
■ ПГГ-3	14,1%	20,0%	6,5%

Рис. Динамічні зміни складу популяції клінічних штамів МБТ м. Києва за трьома «принциповими генотиповими групами».

На сучасному етапі Україна віднесена до групи країн з високим рівнем захворюваності на туберкульоз і має вищий рівень захворюваності, аніж у більшості країн Центральної та Східної Європи. За даними загальної статистики у період з 2006 по 2011 роки спостерігається повільне зменшення абсолютних і відносних показників захворюваності на активний туберкульоз легенів – 73,7 випадків на 100 населення у 2006 році і 69,4 та 59,6 відповідно у 2008 та 2011 роках [1]. Для Києва аналогічні дані складають відповідно – 49,9, 43,5 та 35,3 випадків. Проте збільшується захворюваність на активний туберкульоз у поєднанні з хворобою, зумовленою вірусом імунодефіциту людини (СНІД) – для України в цілому 1987 випадків за 2006 рік, 2902 – за 2008 і 4157 – за 2011 роки. Для Києва – 110 випадків у 2006 році, 143 – у 2008 та 179 – у 2011 роках.

Таким чином, дані вибірки клінічних ізолятів МБТ у м. Києві продемонстрували в цілому відповідність даним загальній епідеміологічній ситуації захворюваності на туберкульоз у Києві у період з 2006 по 2011 роки. Тенденція до збільшення частки штамів ПГГ-1 та відсотку кластеризованих штамів вказує на те, що популяція МБТ перебуває в динамічному стані, а невирішені проблеми епідемічного характеру, сприяють поширенню найбільш епідеміологічно-небезпечних штамів. Такими проблемними факторами можуть бути запізня діагностика і неефективна ізоляція пацієнтів – носіїв найбільш трансмісивних штамів.

Дані молекулярної епідеміології дозволили зробити припущення про унікальні властивості штамів сімейства Beijing, у тому числі здатність долати захисний ефект БЦЖ-вакцинації [11], більшу трансмісивність у порівнянні з не-Beijing штамми [3], а також здатність частіше ніж інші штами набувати лікарської стійкості внаслідок виникнення SNP у генах системи ДНК-репарації [10]. Гіпотеза про асоціацію географічного поширення даного сімейства з регіонами, де широко застосовували вакцинацію BCG набула уточнень завдяки дослідженням локальних і глобальних популяцій [4, 9]. Так, у Японії вивчення динаміки популяційної структури виявило більш високий рівень трансмісії та здатність частіше вражати осіб молодшої вікової групи для штамів «сучасної» сублінії сімейства Beijing (яка має інсерцію мобільного елемента IS6110 у регіоні NTF) на відміну від «предкової» гілки, що зв'язали з введенням у певний період БЦЖ-вакцинації [9]. Таким чином більш детальне вивчення ліній та субліній сімейства, розповсюджених на певній території, з використанням більшої кількості маркерів може дати більш точну картину адаптивних змін штамів сімейства Beijing. Локуси повторювальних елементів, таких як ETR, що були використані для генотипування штамів МБТ київської популяції, загалом характеризуються вищим рівнем гомоплазії, ніж SNP- та LSP-маркери. Виходячи з вищесказаного, для вдосконалення стратегії дослідження структури сімейства Beijing київської популяції МБТ та асоціацій між генотипом

Таблиця 2
Динамічні зміни складу штамів МБТ та супутніх клініко-епідеміологічних характеристик

	2006 N = 49	2008 N = 40	2011 N = 31
Групи ТБ			
ВДТБ	27 (55,1)	22 (55,0)	18 (58,1)
РТБ	8 (16,3)	12 (30,0)	9 (29,0)
ХТБ	14 (28,6)	6 (15,0)	4 (12,9)
Вік			
16\24	4 (8,2)	3 (7,5)	3 (9,7)
25\39	25 (51,0)	20 (50,0)	16 (51,6)
40\54	16 (32,6)	11 (27,5)	11 (35,5)
55\71	4 (8,2)	6 (15,0)	1 (3,2)
Форма ТБ			
Дис.	8 (16,3)	13 (32,5)	10 (32,3)
Інф.	29 (59,2)	21 (52,5)	15 (48,4)
Вогн.	-	-	1 (3,2)
ФК	14 (28,5)	6 (15,0)	5 (16,1)
ВІЛ			
Поз.	2 (4,1)	10 (25,0)	6 (19,3)
Нег.	47 (95,9)	30 (75,0)	25 (80,7)
Кластеризація			
Подин. ізоляти	7 (14,3)	3 (7,5)	2 (6,4)
Класт. ізоляти	42 (85,7)	37 (92,5)	19 (93,6)

і клініко-епідеміологічними проявами доцільно застосувати більш одного методу генотипування і використовувати більш стабільні SNP та LSP маркери.

Штами сімейства LAM теж виявляють високий рівень виникнення резистентності до

протитуберкульозних препаратів і зокрема мультирезистентності [6]. При аналізі деяких російських популяції МБТ штами LAM також переважно виділялись від хронічних хворих на туберкульоз легенів [5]. Аналіз штамів сімейства з різних популяцій поступово виявив значну ступінь гетерогенності між його представниками [5, 7]. Для київської популяції клінічних штамів МБТ пошук та застосування нових надійних SNP та LSP маркерів субліній цього сімейства буде сприяти епідеміологічним дослідженням на новому рівні.

Висновки. Проведений аналіз виявив збільшену частку хворих молодшої вікової групи (16\24 роки) у групі носіїв Веїїнг-штамів – 12,3% у порівнянні з 3,6% для інших штамів. Виявлена асоціація між приналежністю до сімейства LAM і хронічним перебігом туберкульозу (за критерієм Фішера $P=0,026$; OR 4,789, CI(1,261-18,192), $P = 0,021$) та фіброзно-кавернозною формою хвороби (за критерієм Фішера $P=0,022$; OR 5,11, CI(1,340-19,492), $P = 0,017$). Таким чином, сімейства Веїїнг та LAM є найбільш епідеміологічно-значущими групами штамів київської популяції МБТ.

Перспективи подальших досліджень. Розробка методів раннього виявлення найбільш небезпечних сімейств та ліній штамів МБТ за допомогою нових надійних SNP та LSP маркерів є перспективною для формування більш ефективної стратегії боротьби з туберкульозом.

Література

1. Туберкульоз в Україні. Аналітично-статистичний довідник за 2001 – 2011 роки / Головний редактор Моїсеєнко Р. О. // Міністерство Охорони Здоров'я України – Київ, 2012. – 20 с
2. Чередник Ю. О. Проблеми комплексної лабораторної ПЛР-діагностики і генотипування штамів *Mycobacterium tuberculosis* в Україні / Ю. О. Чередник, О. В. Анопрієнко, Н. Г. Горовенко, Ю. І. Фещенко // Досягнення і проблеми генетики, селекції та біотехнології: зб. наук. пр. – 2012. – Т. 3. – С. 398-403.
3. Bifani P. J. Global dissemination of the *Mycobacterium tuberculosis* W-Beijing family strains / P. J. Bifani, B. Mathema, N. E. Kurepina, B. N. Kreiswirth // Trends Microbiol. – 2002. – Vol. 10. – P. 45–52.
4. Comas I. Out-of-Africa migration and Neolithic coexpansion of *Mycobacterium tuberculosis* with modern humans / I. Comas, M. Coscolla, T. Luo [et al.] // Nat. Genet. – 2013. – doi: 10.1038/ng.2744.
5. Dubiley S. Molecular characteristics of the *Mycobacterium tuberculosis* LAM-RUS family prevalent in central Russia / S. Dubiley, E. Kirillov, A. Ignatova [et al.] // J. Clin. Microbiol. – 2007. – Vol. 45, № 12. – P. 4036–4038
6. Dymova M. A. Genetic variation of *Mycobacterium tuberculosis* circulating in Kharkiv Oblast, Ukraine / M. A. Dymova, O. O. Liashenko, P. I. Poteiko [et al.] // BMC Infect. Dis. – 2011. – Vol. 11. – P. 77-87.
7. Gibson A. L. Application of sensitive and specific molecular methods to uncover global dissemination of the major RDRio sublineage of the Latin American-Mediterranean *Mycobacterium tuberculosis* spoligotype family / A. L. Gibson, R. C. Huard, N. C. Gey van Pittius [et al.] // J. Clin. Microbiol. – 2008. – Vol. 46, № 4. – P. 1259–1267.
8. Hanekom M. A recently evolved sublineage of the *Mycobacterium tuberculosis* Beijing strain family is associated with an increased ability to spread and cause disease / M. Hanekom, G. D. van der Spuy, E. Streicher [et al.] // Clin. Microbiol. – 2007. – Vol. 45, № 5. – P. 1483–1490.
9. Iwamoto T. Population structure dynamics of *Mycobacterium tuberculosis* Beijing strains during past decades in Japan / T. Iwamoto, R. Fujiyama, Sh. Yoshida [et al.] // J. Clin. Microbiol. – 2009. – Vol. 47, № 10. – P. 3340–3343.
10. Rad M. E. Mutations in putative mutator genes of *Mycobacterium tuberculosis* strains of the W-Beijing family / M. E. Rad, / P. Bifani, C. Martin [et al.] // Emerg. Infect. Dis. – 2003. – Vol. 9 – P. 838–845.
11. van Soolingen D. Predominance of a single genotype of *Mycobacterium tuberculosis* in countries of east Asia / D. van Soolingen, L. Qian, P. E. de Haas [et al.] // J. Clin. Microbiol. – 1995. – Vol. 33. – P. 3234–3238.

УДК 57. 083. 18:579. 61:579. 873. 21:616. 24-008. 8. -078

ГЕНОТИПОВІ ТА КЛІНІКО-ЕПІДЕМІОЛОГІЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ ІЗОЛЯТІВ *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS*, ЩО ЦИРКУЛЮЮТЬ В м. КИЄВІ

Чередник Ю. О., Анопрієнко О. В., Горovenko Н. Г., Фещенко Ю. І.

Резюме. Метою було виявлення асоціацій між генотипами клінічних ізолятів *M. tuberculosis* (МБТ), що циркулюють в м. Києві, та їх клінічними і епідеміологічними проявами. Були використані методи статистичного аналізу генотипічних та клініко-епідеміологічних характеристик 120 ізолятів МБТ від хворих на туберкульоз легень м. Києва, генотипованих методами ETR-VNTR типування, SNP-типування «принципових генотипових груп» (ПГГ) та делеційного ПЛР-аналізу (делеція TbD1). Виявлена асоціація сімейства LAM з хронічним перебігом захворювання на туберкульоз (OR 4,789; CI [1,261-18,192]; P = 0,021). У період з 2006 по 2011 роки спостерігалась тенденція до збільшення частки штамів ПГГ-1 та кластеризованих ізолятів. Встановлено, що сімейства Beijing та LAM є найбільш епідеміологічно-значущими групами штамів київської популяції МБТ. Розробка надійних методів раннього виявлення найбільш небезпечних сімейств штамів МБТ та їх субліній буде сприяти більш ефективній стратегії боротьби з туберкульозом в регіоні.

Ключові слова: *Mycobacterium tuberculosis*; молекулярно-генетична епідеміологія; туберкульоз.

УДК 57. 083. 18:579. 61:579. 873. 21:616. 24-008. 8. -078

ГЕНОТИПИЧЕСКИЕ И КЛИНИКО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ИЗОЛЯТОВ *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS*, ЦИРКУЛИРУЮЩИХ В г. КИЕВЕ

Чередник Ю. А., Аноприенко О. В., Горovenko Н. Г., Фещенко Ю. И.

Резюме. Целью исследования стало выявление ассоциаций между генотипами клинических изолятов *M. tuberculosis* (МБТ), циркулирующих в г. Киеве, и их клиническими и эпидемиологическими проявлениями. Были использованы методы статистического анализа генотипических и клинико-эпидемиологических характеристик 120 изолятов МБТ от больных туберкулезом легких г. Киева, генотипированных методами ETR-VNTR типирования, SNP-типирования «принципиальных генотипических групп» (ПГГ) та делеционного ПЦР-анализа (делеция TbD1). Обнаружена ассоциация семейства LAM с хроническим течением заболевания туберкулезом легких (OR 4,789; CI [1,261-18,192], P = 0,021). В период с 2006 по 2011 годы наблюдалась тенденция к увеличению доли штаммов ПГГ-1 и кластеризованных изолятов. Установлено, что семейства Beijing и LAM являются наиболее эпидемиологически-значимыми группами штаммов киевской популяции МБТ. Разработка надежных методов раннего выявления наиболее опасных семейств и сублиний штаммов МБТ будет способствовать более эффективной стратегии борьбы с туберкулезом в регионе.

Ключевые слова: *Mycobacterium tuberculosis*, молекулярная эпидемиология, туберкулез.

UDC 57. 083. 18:579. 61:579. 873. 21:616. 24-008. 8. -078

Genotypic, Clinical and Epidemiological Characteristics of *Mycobacterium Tuberculosis* Isolates, Circulating in Kyiv

Cherednyk Yu. O., Anopryenko O. V., Gorovenko N. G., Feschenko Yu. I.

Abstract. Methods of molecular epidemiology based on integration of molecular-genetic analysis of *Mycobacterium tuberculosis* complex (MTBC) strains and the analysis of patients' clinical and epidemiological characteristics can solve both short- and long-term practical problems of tuberculosis (TB) controlling programs. For searching significant associations between the genotype of mycobacteria and its manifestations of significance is the choice of a genotyping strategy and the specific markers that can correctly identify MTBC families and sublineages circulating at particular region. Population structure of clinical strains of Mtb circulating in Kyiv, has been defined in a previous study based on the SNP (single nucleotide polymorphism)-typing of three «principal genotypic groups» (pgg), ETR-VNTR (Varied Number of tandem repeats)-typing and deletion TbD1 analysis [6]. The prevalence of modern strains of *M. tuberculosis* pgg-1 and the Beijing family in population has been found. The aim of this study was to identify associations between Mtb genotypes and epidemiological and clinical characteristics of patients with pulmonary TB in Kyiv to establish clinically and epidemiologically-relevant *M. tuberculosis* strains and further improvement of genotyping strategy of Mtb clinical isolates in Kyiv region. Statistical analysis of genotypic, clinical and epidemiological characteristics of 120 Mtb isolates from Kyiv's patients with pulmonary tuberculosis has been performed. By genetic characteristics of strains assignment to pgg-1, pgg-2 or pgg-3 the groups newly diagnosed pulmonary TB(NPTB)\Relapsing TB(RTB)\Chronic TB(ChTB) had no statistically significant differences and the distribution in every group was close to that for the whole analyzed sample (56,7% – pgg-1 strains, 29,2% – pgg-2 and 14,2% – pgg-3). In pgg-1 higher was the rate of younger age group (16\24) – 11,8% (8 cases), compared with 2,8% (1 case) for pgg-2 and 5,9% (1 case) for pgg-3. Beijing family strains in comparison with the other strains did not show significant associations with clinical and epidemiological characteristics of patients. However, analysis of the age groups showed an increased proportion of patients of younger age group (16\24) in the cohort of Beijing strains bearers – 12,3% compared with 3,6% for the other strains. LAM family was characterized by the inverse proportion – increased percentage of elderly patients (55\71) – 20,0% compared with 8,2%. This trend was

increased by detected association between belonging to LAM family and chronic character of PTB (by Fisher's exact test $p = 0,026$; OR 4,789; CI (1,26-18,19), $P = 0,021$) and fibro-cavernous form of the disease (by Fisher's exact test $P = 0,022$; OR 5,11; CI (1,34-19,49), $P = 0,017$) Analysis of isolates related characteristics in dynamics showed no significant variations in proportions within groups of NP TB\RTB\ChTB and age groups. However, compared to 2006 later years has increased percentage of pgg-1 strains and clustered strains percentage. This trend could indicate rather dynamic than stable state of Mtb population, and point toward unresolved epidemic problems that could promote spreading of most epidemiologically dangerous strains. Such problems can be late diagnosing and ineffective isolation of patients – carriers of the most transmissible strains. Loci of repetitive elements such as ETR, which were used for genotyping of Mtb strains in Kyiv population, generally characterized by higher indexes of homoplasmy than more stable SNP and LSP markers. Application of more than one method of genotyping and more stable LSP and SNP markers will be useful for improving the strategy of Beijing and LAM family structure characterization in Kyiv Mtb population and determination of significant associations between the genotype and clinical and epidemiological manifestations. Based on this, development of reliable methods for early detection of the most clinically relevant families and sublineages of these families will facilitate more effective strategy of TB monitoring in Kyiv.

Key words: *Mycobacterium tuberculosis*; molecular epidemiology, tuberculosis.

Рецензент – проф. Бойко М. Г.

Стаття надійшла 11. 10. 2013 р.