

УДК 616-002.5-055.2:575 (477.085)

С.П.Польова

ГЕНЕТИЧНІ РІЗНОВИДИ MICOBACTERIUM TUBERCULOSIS. ПРОБЛЕМИ І ПЕРСПЕКТИВИ ЇХ ІДЕНТИФІКАЦІЇ У ЧЕРНІВЕЦЬКІЙ ОБЛАСТІКафедра акушерства і гінекології з курсом дитячої та підліткової гінекології (зав. – проф. О.М.Юзько)
Буковинського державного медичного університету. м. Чернівці

Резюме. У статті проаналізовано епідеміологічну ситуацію, основні статистичні показники легеневого і позалегового туберкульозу в Україні та за її межами. Визначено основні тенденції із захворювання на туберкульоз у жінок репродуктивного віку, вивчено

особливості патоморфозу туберкульозу в сучасних умовах.

Ключові слова: епідеміологія, туберкульоз, генетичні різновиди мікобактерій туберкульозу, ідентифікація збудника.

Вступ. Туберкульоз останнім часом є одним із провідних інфекційних захворювань у світі, епідеміологічна ситуація на цю патологію стає дедалі загрозливішою. У світі понад 1,7 млрд. людей хворіє на туберкульоз [1,6,10]. Згідно з даними ВООЗ за період 2000-2020 рр. близько 1 млрд. людей буде інфіковано мікобактеріями туберкульозу, 200 млн. захворіють і 35 млн. помруть від туберкульозу при недостатності контролю за захворюваністю. Погіршилися показники в Європейських економічно розвинутих країнах. Не є винятком і Україна. Епідемія туберкульозу в нашій державі за критеріями ВООЗ оголошена з 1995 року і з того часу продовжує прогресувати. Щогодини в Україні реєструється чотири нових випадки захворювання на туберкульоз та один випадок смерті від цієї хвороби. З 2001 року захворюваність на туберкульоз зросла у 2,2 раза і досягла рівня 80,9 на 100 тис. населення, а смертність – у 2,7 раза і становить 22,6 на 100 тис. населення [3,5,9,10].

Аналіз показав, що приріст захворюваності на позалегеновий туберкульоз є менш уражувачим у порівнянні з легеневою туберкульозом. За період 1994-2004 роки захворюваність на позалегеновий туберкульоз збільшилася на 18,8%, а за 1995-2005 роки – на 27,6% [5,7,8]. У структурі захворюваності сечостатевої туберкульоз становить 30,5%. Аналіз досліджень свідчить, що хворі на позалегеновий туберкульоз виявляються ще недостатньо, а відсутність в Україні інфраструктури з позалегенового туберкульозу, зокрема Центру позалегенового туберкульозу, з науковими, організаційно-методичними, консультативними і лікувально-діагностичними функціями – це фактори, що призводять до несвочасного виявлення туберкульозу та низької ефективності лікування. За прогнозами в найближчі 10 років стан справ тут не стабілізується [2,4,5,11].

Матеріал і методи. Проаналізовано розповсюдженість туберкульозу за результатами діяльності протитуберкульозних закладів України, звітними матеріалами і даних відомостей літератури світового та вітчизняного значення. Виявлено зміни в структурі форм туберкульозу, частоти і характеру медикаментозної стійкості мікобактерій у структурі резистентності серед усіх категорій хворих.

Результати дослідження та їх обговорення. Згідно з аналітично-статистичними відомостями МОЗ України в Чернівецькій області серед вперше виявлених хворих на туберкульоз у 1994 році зареєстровано 359 хворих, у 2004 році – 513. Захворюваність на деструктивний туберкульоз серед вперше виявлених хворих зросла з 15,1 до 23,7 на 100 тис. населення, а абсолютна кількість хворих на активні форми туберкульозу збільшилася впродовж 10 років на 1000 чоловік. Захворюваність на фіброзно-кавернозний туберкульоз зросла з 0,3 до 0,7 на 100 тис. населення. Значно підвищилася захворюваність на туберкульоз – з 15,3 до 26,9 на 100 тис. населення, що, без сумніву, негативно впливає на поширення позалегенових форм захворювання жителів Чернівецької області.

Захворюваність на позалегеновий туберкульоз в області з 1994 року знизилася з 4,5 на 100 тис. населення до 4,0 у 2002 році та до 2,6 у 2004 році, проте такі цифрові характеристики і не відображають реальної частоти екстрагенітального туберкульозу, а навпаки, вказують на прогалини в лікувально-профілактичній діяльності загальної медичної мережі. Ріст захворюваності серед дорослого населення Чернівецької області спричинив зростання захворюваності на туберкульоз серед дитячого населення, у тому числі дівчаток-підлітків, яка впродовж 10 років зросла у 8,7 раза і залишилася найвищою в Україні – 15,6 на 100 тис. населення, а захворюваність на активний туберкульоз підлітків у 2004 році склала 17,5 на 100 тис. населення, що негативно впливає на становлення репродуктивної функції молодих пацієнтів.

Смертність від усіх форм туберкульозу в Чернівецькій області в 1994 році складала 6,3 на 100 тис. населення, у 2004 році – 15,6, абсолютна кількість померлих від туберкульозу зросла з 60 у 1994 році до 143 у 2004 році.

Серед завдань, спрямованих на покращання ситуації в Україні та області можна виділити такі, як досягнення позитивних соціально-економічних зрушень, забезпечення фінансування протитуберкульозних заходів; розробка і впровадження освітніх програм для медиків і населення; розвиток системи державного моніторингу туберкульозу, його профілактика та інші спрямування щодо обмеження поширення інфекції серед населення. Проте це тільки одна складова бороть-

би з туберкульозом. Захворюваність на туберкульоз останніми роками характеризується зростанням тяжкості клінічних форм патології з маніфестацією поширення, генералізованих, з гострим перебігом випадків, полідеструктивним характером ураження. Тому необхідні нові підходи щодо вивчення патогенезу цього захворювання та активного виявлення із залученням молекулярно-генетичних методів діагностики.

Найближчими заходами Міністерства охорони здоров'я України, направленими на стабілізацію епідемічної ситуації з туберкульозу, є організація покращання мікробіологічної діагностики, посилення контролю за лікуванням хворих, вирішення проблеми поєднаної патології туберкульозу та ВІЛ/СНІДу, налагодження системи епідмоніторингу та ін.

Міжнародний консорціум учених висунув проект з протеоміки – визначення повного набору і структури білків *M. tuberculosis*, вивчення взаємозв'язку між структурою білків і геном мікобактерій. Цей проект набуває не тільки наукового, але й виняткового практичного значення. Хоча мікроскопічні і бактеріологічні методи залишаються золотим стандартом у діагностиці туберкульозу, мікобактерії все рідше виявляються у хворих.

Відомо, що *M. tuberculosis* може тривалий час персистувати в організмі людей і деяких видів тварин. За певних умов відбувається активація збудника і перехід захворювання з латентної або хронічної форми в активну. Персистенція збудника – один з основних механізмів патогенезу туберкульозу. *M. tuberculosis* володіє рядом особливостей. Виявлено високий ступінь гомогенності та інертності геному, що дозволяє передбачити високу еволюційну “молодість” збудника та його агресивність за умов зміни зовнішнього середовища і розвитку захворювання.

Аналіз клінічних ізолятів дозволив виявити значну кількість мутацій окремих генів. Важливою характеристикою геному *M. tuberculosis* є наявність генів, що багаторазово дублюють функціонування основних ферментних систем. Прикладом можуть бути ферменти ацил-СоА-синтази і ацил-СоА-дегідрогенази (36 варіантів). У результаті цього виникають зміни метаболічних шляхів у *M. tuberculosis*. У *M. tuberculosis* виявлено специфічні білки, що запобігають впливу активних форм кисню, зокрема – гемоглобіновий білок, що зв'язує активні форми кисню і тим самим нейтралізує їх токсичну дію. Крім того, важливі і специфічні фактори колонізації макрофагів мікробної клітини. Їх наявність сприяє успішному заселенню макрофагів і виживання без втрати патогенних якостей.

За цих умов набуває виняткового значення ПЛР – рестриктазний аналіз виділених з клінічних зразків штамів мікобактерій та явища персистенції. Виявлено ген ізоцитратліази (*icl*), який бере участь у переході *M. tuberculosis* у персистувальний стан. Залежність такого переходу забезпечують компоне-

нти макроорганізму – хазяїна. Застосування ПЛР стало великим досягненням у лабораторних технологіях останнього десятиліття. Найбільш відома сертифікована американська FDA (Food and drug administration) тест-система – “Amplicor MTB”, “Roche” та напівавтоматизована “Cobas Amplicor”, заснована на ампліфікації 16S рибосомальної РНК, достатньо вивчені і дозволяють виявити збудник протягом 1-2 днів. Тест-система “Gene Probe”-E-MTD ґрунтується на ізотермальній ампліфікації рибосомальної РНК, окрім високої чутливості має перевагу проведення аналізу в одній пробірці, що запобігає контамінації. Чутливість цього методу за умов специфічності сягає 99-100%. Проте значною проблемою для використання ПЛР-аналізу в клінічних зразках є проба – підготовка щодо виділення мікробактеріальної ДНК з клінічного матеріалу для ампліфікації.

Ergin et al. (2000) дослідили ген білка теплового шоку 120 штамів мікобактерій шляхом ПЛР – рестриктазного аналізу. Виявлено, що 95 із 120 штамів (79,1%) ідентифіковані як *M. tuberculosis*, а 25 (20,8%) – як не туберкульозні мікобактерії. Серед останніх ідентифіковано *M. goodii* I і IV (по 3,3%), *M. chelonae* (2,5%), *M. goodii* III, *M. avium*, *M. mucogenicum* (0,8%), *M. peregrinum* (1,6%), *M. fortuitum*, *M. flavescens*, *M. malmoense*. Сконструйовані праймери для ПЛР і олігонуклеотидний зонд дозволили видоспецифічно ідентифікувати збудника туберкульозу. Ідентифікації можна досягти також шляхом попереднього культивування фрагмента біотичного матеріалу, з наступною полімеразною ланцюговою реакцією.

Застосування молекулярних досліджень в епідеміологічних спостереженнях може дати багато цінної інформації щодо поширення *M. tuberculosis* серед населення. Так, A. Vachee et al. 1999 [11] обстежили 156 випадків туберкульозу в людей Північного Департаменту Франції. Захворюваність була підтверджена бактеріологічними методами. Застосувавши молекулярні дослідження IS 6110 – дактилоскопії показано, що 128 (82%) виділених штамів генетично різняться, а інші 28 (18%) можна згрупувати в 14 кластерів. Не виявлено прямої залежності свіжих випадків туберкульозу від таких факторів ризику, як вік хворих, ВІЛ-статус та ін.

Встановлено (R. Belammy, 2000), що геном *M. tuberculosis* впливає на перебіг захворювання, разом з тим виділені штами *M. tuberculosis* мають схожі профілі ДНК – дактилоскопії.

І хоча “атипові” або нетуберкульозні мікобактерії згідно з існуючою класифікацією не відносяться до груп *M. tuberculosis*, тим не менше, вони складають потенційну загрозу, як збудники захворювань людини і тварин [8]. Значення їх істотно підвищилися внаслідок пандемії ВІЛ – інфекції, оскільки вони виступають як важливі збудники опортуністичних інфекцій у ВІЛ-інфікованих людей.

Висновки

1. Складна епідеміологічна ситуація з туберкульозу у світі та в Україні підкреслює необхідність біомедичних фундаментальних досліджень.

2. Прогрес клінічної медицини повністю залежить від медицини молекулярної, досліджень на рівні генів і молекул.

Перспективи наукових досліджень. Враховуючи надзвичайну епідеміологічну ситуацію з туберкульозу в Україні та за її межами, слід розробляти принципово нові підходи до його діагностики і лікування. Найбільш доцільним є вибіркова дія на цільові клітини, що є комфортним середовищем для мікобактерій туберкульозу.

Література

1. Васильева А.М., Меметов С.С., Назарев О.В. Туберкулез как медико-социальная проблема // Медико-социальная экспертиза и реабилитация. - 2003. - № 4. - С.37-40.
2. Владимирский М.А. Методы молекулярной биологии в диагностике туберкулеза // Молек. мед. - 2003. - № 3. - С.18-23.
3. Ільницький І.Г., Костик О.П., Сахелашвілі М.І. та співавт. Туберкульоз різних вікових груп населення в умовах епідемії за даними організаційно-методичних і клініко-лабораторних досліджень // Інфекційні хвороби. - 2005. - № 2. - С.61-64.
4. Калюкіна А.С., Северин Е.С., Зыкова И.Е. Новые подходы к диагностике туберкулеза // Вопросы биологической медицинской и фармацевтической химии. - 2005. - № 3. - С.11-17.
5. Мельник В.М. Проблеми своєчасної діагностики і профілактики туберкульозу в Україні // Ж. практич. лікаря. - 2004. - № 4. - С.2-6.
6. Мельник В.М. Туберкулез на Украине. Состояние, проблемы и прогноз (медико-статистические исследования): Докл. Московской конф. «Химиотерапия туберкулеза», Москва, 6-8 апр. 2000 г. // Пробл. туберкулеза. - 2000. - № 5. - С.28-32.
7. Феценко Ю.И., Журило А.А., Барбова А.И. и соавт. Динамика изменений спектра лекарственной устойчивости микобактерий туберкулеза, выделенных от больных, находившихся на стационарном лечении в 1990-1999 г. // Укр. химиотерапевт. ж. - 2000. - № 3(7). - С.12-16.
8. Bercovic H., Vincent V. Mycobacterial infections in domestic and wild animals due to *Micobacterium marinum*, *M. fortuitum*, *M. chelonae*, *M. porcinum*, *M. farcinogenes*, *M. smegmatis*, *M. scrofulaceum*, *M. xenopi*, *M. Kansasii*, *M. simsaе* and *M. genavense*//*Rev.Sci.et techn. Off. Int. epizoot.*- 2001.- V. 20, №1.- P.265-290.
9. Kenyon T.A., Ridzon R., Luksin – Hawk R. et al. A nosocomial outbreak of multidrug-resistant tuberculosis: Abstr. APIC 25th Annual Educational Conference and international Meeting, San Diego, Calif. May 10-14, 1998 // *Amer. J.Infec.Control.*- 1998.- V.26, № 2.- P.190.
10. Steenccel Ch. Effort aims at solving full Suite of TB protein structures//*ASM News.*- 2000.- V.66, № 9.- P.515-516.
11. Vachee A., Vincent P., Savage C. et al. Molecular epidemiology of tuberculosis in the Nord Department of during 1995//*Tubercle and Lung Disease.*- 1999.- V.79, № 6.- P.361-366.

GENETIC VARIETIES OF MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS. PROBLEMS AND PERSPECTIVES OF THEIR IDENTIFICATION IN THE CHERNIVTSI REGION

S.P.Poliova

Abstract. The paper analyzes the epidemiologic situation and the basic statistical indices of pulmonary and extrapulmonary tuberculosis in Ukraine and beyond its bounds. The author has ascertained the basic trends of tuberculosis in women of reproductive age and has studied the peculiarities of tuberculosis pathomorphism under modern conditions.

Key words: epidemiology, tuberculosis, genetic varieties of tuberculosis mycobacteria, causative agent identification.

Bukovinian State Medical University (Chernivtsi)

Buk. Med. Herald. – 2006. – Vol.10, №1.- P.56-58

Надійшла до редакції 26.12.2005 року