

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ХАРКІВСЬКА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ ПІСЛЯДИПЛОМНОЇ ОСВІТИ

На правах рукопису

РОГОЖИН АНТОН ВІКТОРОВИЧ

УДК 616.24-002.5-036:575.113]:616.9-022.6-07

**ПРОГНОЗУВАННЯ ТЯЖКОСТІ ПЕРЕБІГУ ТА ЕФЕКТИВНОСТІ
ЛІКУВАННЯ ХІМІОРЕЗИСТЕНТНОГО ТУБЕРКУЛЬОЗУ ЛЕГЕНЬ В
ЗАЛЕЖНОСТІ ВІД РІЗНИХ ГЕНОТИПІВ МІКОБАКТЕРІЙ
ТУБЕРКУЛЬОЗУ**

14.01.26 – фтизіатрія

Дисертація на здобуття наукового ступеня
кандидата медичних наук

Науковий керівник
Потейко Петро Іванович
кандидат медичних наук, доцент



Харків 2018

ЗМІСТ

	Стор.
ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ.....	4
ВСТУП.....	6
РОЗДІЛ 1. Огляд літератури та вибір напрямків досліджень.....	12
1.1. Загальна характеристика M. Tuberculosis.....	13
1.2. Молекулярно генетичні дослідження M. Tuberculosis в Україні.....	15
1.2.1. Генотипування клінічних ізолятів M.Tuberculosis. Метод VNTR-типування M.Tuberculosis.....	15
1.2.2. Лікарська чутливість різних генотипів M. Tuberculosis до антимікобактеріальних препаратів.....	20
1.2.3. Геномний поліморфізм, клінічна та епідеміологічна значимість різних генотипів M.Tuberculosis.....	25
1.3. Клініко-рентгенологічні особливості перебігу туберкульозу легень, викликаного різними генотипами M.tuberculosis.....	28
1.4. Основні методи лікування туберкульозу легень в залежності від генотипів M.Tuberculosis	30
1.5. Зміни генотипів M.Tuberculosis в процесі лікування у протитуберкульозних установах.....	34
РОЗДІЛ 2. Об'єкт і методи дослідження.....	40
2.1. Клінічна характеристика хворих на хіміорезистентний туберкульоз легень на етапі діагностики.....	40
2.2. Методи дослідження.....	51
2.2.1. Клініко-рентгенологічні та лабораторні методи дослідженн.....	51
2.2.2. Молекулярно-генетичні методи дослідження.....	52
2.2.3. Статистична обробка отриманих даних.....	56
РОЗДІЛ 3. Характеристика генотипів M. Tuberculosis, виділених від хворих на хіміорезистентний туберкульоз легень.....	57
3.1. Результати VNTR типування M. Tuberculosis у хворих на хіміорезистентний туберкульоз легень до початку лікування....	57
3.2. Результати дослідження змін генотипів M. Tuberculosis у хворих на хіміорезистентний туберкульоз легень у процесі інтенсивної фази лікування.....	64
РОЗДІЛ 4. Клініко-рентгенологічна характеристика хіміорезистентного туберкульозу легень, викликаного різними генотипами M.Tuberculosis.....	69
4.1. Клініко-рентгенологічна характеристика хіміорезистентного туберкульозу легень у пацієнтів зі змною генотипів M.Tuberculosis.....	81
РОЗДІЛ 5. Оцінка ефективності лікування хворих на	

хіміорезистентний туберкульоз легень в залежності від генотипів	
M.Tuberculosis.....	91
5.1. Оцінка ефективності лікування хворих зі зміною генотипів	
M.Tuberculosis.....	100
АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ ОТРИМАНИХ ДАНИХ.....	113
ВИСНОВКИ.....	126
ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ.....	128
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	129
ДОДАТОК А. КОПІЇ АКТІВ ВПРОВАДЖЕННЯ.....	154

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ

АМБП	—	антимікобактеріальні препарати
АМБТ	—	антимікобактеріальна терапія
ВДТБ	—	вперше діагностований туберкульоз
ВІЛ	—	вірус імунодефіциту людини
ВООЗ	—	Всесвітня організація охорони здоров'я
ГП	—	генотипи індивідуального профілю
ГІСТ+	—	гістологічне дослідження, результат позитивний
Дестр+ або Дестр-ІС	—	наявність або відсутність деструкції у легенях
ІФ	—	інтоксикаційний синдром
КСП	—	інтенсивна фаза
МЛС	—	кислотостійкі палички
	—	множинна лікарська стійкість
МРТБ (MDR TB)	—	мультирезистентний туберкульоз
ПТП	—	протитуберкульозні препарати
РРТБ	—	туберкульоз з розширеною резистентністю
Резист	—	резистентність МБТ до протитуберкульозних препаратів
РТБ	—	рецидив туберкульозу
СНІД	—	синдром надбаного імунодефіциту
ТБ	—	туберкульоз
ТМЧ	—	тест медикаментозної чутливості
ХРТБ	—	хіміорезистентний туберкульоз
ШОЕ	—	швидкість осідання еритроцитів
Am	—	Амікацин
Cm	—	Капреоміцин
Cs	—	Циклосерин
ETR	—	exact tandem repeat (крапкові тандемні повтори)
E	—	Етамбутол
Et	—	Етіонамід
H	—	Ізоніазид
K	—	Канаміцин
LAM	—	Latin American and Mediterranean, генотип МБТ
Lfx	—	Левовфлоксацин
Mfx	—	Моксифлоксацин
M. tuberculosis, МБТ	—	мікобактерії туберкульозу

M. tuberculosis complex	—	MTBC
Ofx	—	Офлоксацин
PAS	—	Парааміносаліцилова кислота
Pt	—	Протионамід
R	—	Рифампіцин
S	—	Стрептоміцин
VNTR	—	(variablenumbersoftandemrepeats)
Z	—	Піразинамід

ВСТУП

Актуальність теми. Туберкульоз (ТБ) на сьогодні є актуальною медико-соціальною проблемою в усьому світі. Згідно світовій статистиці, щорічно у всьому світі від ТБ захворює 7-10 млн., а вмирає 2 млн. осіб [209]. Все більшого значення набуває проблема стійкості *Mycobacterium tuberculosis* (МБТ) до протитуберкульозних препаратів (ПТП), що приводить до зниження ефективності лікування хворих та розповсюдженості хіміорезистентного туберкульозу (ХРТБ) [40, 111]. За результатами першого національного епідеміологічного дослідження щодо ХРТБ в Україні рівень мультирезистентного туберкульозу (МРТБ) серед хворих, яким вперше в житті встановлено діагноз ТБ, складає 24,3 %, серед хворих з повторними випадками ТБ – більш ніж у двічі вище - 58,2 %. Питома вага випадків туберкульозу з розширеною резистентністю (РРТБ) становить 13,9 % від загальної кількості хворих на ХРТБ [103].

Важливу роль у погіршенні епідемічної ситуації з ТБ грають зміна сучасних соціально-економічних і екологічних умов, зниження імунологічної реактивності людського організму, а також зміна самого збудника захворювання [96, 209].

На теперішній час з розвитком молекулярної генетики стало можливим проводити генетичне типування МБТ, що дозволяє розрізняти штами збудника та з'ясовувати їх роль у подальшому перебігу захворювання [128, 194].

У цей час доведено, що високий ступень геномного поліморфізму МБТ обумовлено наявністю широкого спектру особливих генетичних елементів - повторюваних послідовностей нуклеотидів - у складі хромосомної ДНК. Це стало основою для розробки методів геномної дактилоскопії (фінгерпринтінгу), що дозволяють диференціювати штами на основі розходжень їх нуклеотидної послідовності [86, 206].

Найбільш поширеним методом штамової ідентифікації МБТ є технологія, яка називається поліморфізмом довжин рестрикційних фрагментів (RLFP), та заснована на фрагментуванні (рестрикції) ДНК МБТ та наступній гібридизації отриманих фрагментів з визначеними специфічними послідовностями на ДНК її повторюваного елемента IS6110 [153]. Штами мікобактерій туберкульозу розрізняються по кількості та розмірам рестрикційних фрагментів. Отриманий після гібридизації на нітроцелюлозній мембрані специфічний малюнок смуг характеризує ДНК конкретного штаму МБТ. Ця технологія є дуже складною та обмеженою. Це пов'язано з необхідністю виділення чистих культур МБТ для отримання великих кількостей ДНК, тривалістю дослідження, також дорожнечою цього методу. У зв'язку з цим RLFP-аналіз є малодоступним для практичної медицини [155].

Базовим методом генетичного картування є метод варіабельного числа тандемних повторів (VNTR), знайдених в значній кількості локусів геному МБТ [164]. Цей метод дозволяє достатньо ефективно диференціювати різні види та штамми мікобактерій і є менш трудомістким ніж інші. VNTR-метод широко використовується у всьому світі для рішення епідеміологічних задач у фтизіатричній службі [106].

Раніше вважалося, що організм, який інфікований МБТ, відносно стійкий до зараження новими штамми МБТ, а головною причиною захворювання пацієнта є ендогенна реактивація. Відомо, що в країнах з високим рівнем захворюваності основною причиною ТБ є екзогенна реінфекція [154]. Дотепер залишається відкритим питання: чи витісняє у випадку захворювання вторинний штам свого попередника повністю або ж можливе одночасне співіснування в організмі хворого на ТБ штамів МБТ з різними генотипами. Відповідь на це питання може сприяти кращому розумінню механізмів взаємодії мікобактерій з імунною системою хворого, а також еволюційної мінливості штамів МБТ у межах одного організму. Для клініки це може мати значення при визначенні лікарської стійкості ізолятів

МБТ (у випадку коінфекції дані про чутливість можуть бути неоднорідними) [199].

Враховуючи недостатність даних про генетичну структуру МБТ в Україні, відсутність чітких уявлень про зміни генотипів МБТ в умовах стаціонарного лікування та особливостей клініко-рентгенологічної динаміки ХРТБ легень, проведення цього дослідження є актуальним.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота виконана згідно з планом науково-дослідної роботи кафедри фтизіатрії, пульмонології та сімейної медицини Харківської медичної академії післядипломної освіти «Клінічна картина туберкульозу легень у ВІЛ-інфікованих хворих з генотипічно різними штамми МБТ» (№ державної реєстрації 112U000983).

Мета дослідження. Розробка методів прогнозування тяжкості перебігу та ефективності терапії хіміорезистентного туберкульозу легень на етапі інтенсивної фази лікування в залежності від генотипів МБТ та їх змін.

Завдання дослідження.

1. Встановити генетичну структуру МБТ у хворих на хіміорезистентний туберкульоз легень в Харківській області та виявити генотипи МБТ, які найбільш часто зустрічаються в цьому регіоні.

2. Вивчити особливості клінічного перебігу хіміорезистентного туберкульозу легень, викликаного різними генотипами МБТ, та визначити можливості використання методу VNTR-генотипування для прогнозування його тяжкості.

3. У хворих на хіміорезистентний туберкульоз легень вивчити зміни генотипів МБТ, які діагностуються протягом інтенсивної фази лікування.

4. Визначити клініко-лабораторні параметри, які асоційовані зі змінами генотипів МБТ у хворих на хіміорезистентний туберкульоз легень.

5. Вивчити ефективність лікування хіміорезистентного туберкульозу легень у хворих з різними генотипами МБТ та розробити методи її прогнозування.

Об'єкт дослідження. Хіміорезистентний туберкульоз легень.

Предмет дослідження. Клінічний перебіг та ефективність лікування хіміорезистентного туберкульозу легень в залежності від генотипів МБТ та їх змін протягом інтенсивної фази лікування.

Матеріали та методи дослідження. Епідеміологічні, клінічні, рентгенологічні, мікроскопічні, мікробіологічні, біохімічні, інструментальні, молекулярно-генетичні, статистичні.

Наукова новизна одержаних результатів. Вперше за допомогою застосування молекулярно-генетичного методу VNTR по ETR A-E локусах у хворих на ХРТБ легень отримані дані про склад популяції МБТ. Генотипи МБТ сімейства Beijing були виявлені у 63,4 % хворих на ХРТБ легень, LAM – у 15,2 %, Haarlem – у 13,8 %, Africanum – у 2,8 %, генотипи індивідуального профілю (ГІП) – у 4,8 %. Велику питому вагу (51,7 % випадків) склали генотипи МБТ сімейства Beijing із профілем 42425, який має найбільш агресивні властивості. На основі отриманих даних складено генетичну карту генотипів МБТ міста Харкова.

Вперше в Україні отримані наукові дані про зміни генотипів МБТ протягом інтенсивної фази лікування серед хворих на ХРТБ легень та визначено, що менш вірулентні генотипи МБТ (Haarlem, ГІП) змінювались на більш вірулентні (Beijing, LAM). Встановлені особливості клінічного перебігу ХРТБ легень у цих хворих.

Вперше встановлена залежність динаміки клініко-лабораторних показників від генотипу МБТ у хворих на ХРТБ легень у процесі ІФ лікування та визначено, що серед пацієнтів групи Beijing конверсія посіву мокротиння спостерігається у 2,5 рази рідше, в 3 рази менше випадків загоєння порожнин деструкції легеневої паренхіми та в 3 рази більше хворих з інтоксикаційним синдромом (ІС) ніж серед хворих групи не-Beijing.

Науково обґрунтована доцільність використання молекулярно-генетичного методу VNTR у медичній практиці з метою виявлення генотипів

МБТ, їх змін у хворих на ХРТБ легень на етапі ІФ лікування, що має значення для прогнозування перебігу захворювання та ефективності лікування.

Практичне значення одержаних результатів. Розроблені методи прогнозування тяжкості перебігу ХРТБ легень. Обґрунтована доцільність використання VNTR-генотипування до початку ІФ лікування з метою визначення штаму МБТ Beijing, наявність якого асоційована з найбільш тяжким перебігом захворювання.

Обґрунтована доцільність використання повторного VNTR-генотипування штамів МБТ через місяць ІФ лікування у хворих з наявністю менш вірулентних штамів (Haarlem, ГІП), особливо, якщо у пацієнтів в цей період спостерігається загострення інтоксикаційного синдрому. У разі зміни генотипів на більш вірулентні (Beijing, LAM) доцільно призначення додаткового дослідження чутливості МБТ до АМБП, що дозволяє прогнозувати ефективність лікування.

Впровадження результатів дослідження у практику. Отримані результати наукової роботи впроваджені в практичну діяльність відділень для хворих з МРТБ легень та РРТБ легень обласної туберкульозної лікарні №1 (ОТЛ №1), обласної туберкульозної лікарні №3 (ОТЛ №3) та у навчальний процес на кафедрі фтизіатрії, пульмонології та сімейної медицини Харківської медичної академії післядипломної освіти.

Особистий внесок здобувача. Дисертантом опрацьовані дані літератури з проблеми, що вивчалася, спільно з науковим керівником розроблено дизайн дослідження та методологія. Автором самостійно проаналізовані результати клінічного обстеження та лікування хворих, організовані лабораторні та інструментальні дослідження, проведена статистична обробка матеріалів, інтерпретація результатів роботи, текстове та графічне оформлення дисертації. Автор приймав участь у проведенні молекулярно-генетичних досліджень. Разом з науковим керівником сформульовані висновки та практичні рекомендації.

Апробація результатів дисертації. Матеріали дисертації доповідались і обговорювались на IV міжнародній науковій конференції молодих вчених-

медиків (м. Курськ, 2012 р.), V з'їзді фтизіатрів і пульмонологів України (м. Київ, 2013 р.), науково-практичній конференції молодих вчених, присвяченої 90-річчю ХМАПО «Медицина XXI століття» (м. Харків, 2013 р.), XXXI Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю «Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів» (м. Харків, 2014 р.), II міжнародному медико-фармацевтичному конгресі студентів і молодих вчених «Новітні тенденції в медицині та фармації» (м. Чернівці, 2015 р.), XIII науково-практичній конференції з міжнародною участю студентів та молодих вчених «Науковий потенціал молоді – прогрес медицини майбутнього» (м. Ужгород, 2015 р.), Всеукраїнській науково-практичній конференції молодих вчених НМАПО імені П. Л. Шупика, присвяченої Дню науки «Науково-практична діяльність молодих вчених медиків: досягнення і перспективи розвитку» (м. Київ, 2016 р.), 85-й науково-практичній конференції студентів і молодих вчених із міжнародною участю «Інновації в медицині» (м. Івано-Франківськ, 2016 р.), науково-практичній конференції молодих вчених з міжнародною участю «Медицина XXI століття» (м. Харків, 2016 р.).

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 16 наукових праць: 5 статей (у тому числі 4 – у фахових виданнях, рекомендованих МОН України, 1 – у виданні, яке входить у міжнародні наукометричні бази даних Science Index та Google Scholar та 1 – у міжнародному виданні), опубліковано 11 тез доповідей у матеріалах науково-практичних конференцій та конгресів.

Структура та обсяг дисертації. Матеріали дисертаційного дослідження викладені на 158 сторінках друкованого тексту, містять 18 рисунків та 33 таблиці, складаються із вступу, огляду літератури, п'яти розділів власних досліджень, узагальнення результатів, висновків, практичних рекомендацій та списку використаних джерел, який нараховує 211 найменування (з них 86 іноземних).

РОЗДІЛ 1

ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ ТА ВИБІР НАПРЯМКІВ ДОСЛІДЖЕНЬ

ТБ є головною причиною смертності, пов'язаної з одиничним інфекційним захворюванням, у світовому масштабі. Це інфекційне та соціально залежне захворювання на сьогоднішній день є однією з найбільш актуальних проблем практичної охорони здоров'я. В першу чергу це пов'язано з тим, що з кінця минулого століття епідеміологічна ситуація з ТБ в усьому світі знову стала стрімко погіршуватися.

У 2015 р. у світі виявлено 8,8 млн. нових випадків захворювання, 1,6 млн. померли від цієї хвороби [103, 223]. Україна посідає друге місце після Російської Федерації серед країн Європейського регіону з проблеми МРТБ і четверте—за його поширеністю серед вперше діагностованих хворих. Високий рівень первинної мультирезистентності, який перевищував 6,5 %, зареєстровано в Казахстані, Росії (Томська область), Узбекистані, Естонії, Ізраїлі, Китаї (провінціях Ляонінг та Хенан), Латвії, Литві, Україні (Донецька область) [2, 80, 108].

Крім звичайних різновидів туберкульозної інфекції, у світі швидко поширюються форми МБТ, які є стійкими до дії багатьох основних АМБП: МР ТБ та РРТБ. За оцінками ВООЗ, майже 500 тис. жителів планети інфіковано МБТ, за якого стандартна терапія не ефективна, а РРТБ, як зауважують спеціалісти [49, 173], стійкий практично до всіх відомих на сьогодні препаратів і має найвищий рівень смертності осіб працездатного віку—85 %. Ймовірність успішного лікування зменшується з появою нових стійких штамів МБТ із тотальною резистентністю [17].

За даними ВООЗ, в Україні МРТБ мають 16 % хворих із ВД ТБ (від 5 % у західних регіонах до 16 % у східних) і 44 % з його рецидивом [57, 76, 99, 106]. За статистичними даними, зі 100 хворих на ТБ 15 мають стійку до першого ряду ПТП форму [41].

Підвищення ефективності лікувально-профілактичних заходів та епідеміологічного нагляду за ТБ потребує вдосконалення мікробіологічної діагностики і спостереження за популяціями МБТ на основі молекулярно-генетичних методів.

Недолік відомостей про структуру популяцій на територіях, про частоту і спектр мутацій, пов'язаних з лікарською стійкістю МБТ різних генотипів, поряд з відсутністю даних про їх епідеміологічне та патогенетичне значення зумовлюють актуальність системних досліджень генетичного різноманіття збудника ТБ в Україні.

1.1. Загальна характеристика МБТ

ТБ є широко розповсюдженим інфекційним захворюванням переважно з аерозольним механізмом передачі, яке викликається МБТ. Захворювання характеризується поліморфною клінічною картиною з утворенням специфічних гранульом в місцях локалізації збудника і розвитком імунних реакцій сповільненого типу [93, 116].

В літературі докладно описано типи мікобактерій – збудників туберкульозу [94, 118]. З більш ніж 120 різних представників роду *Mycobacterium* особливий інтерес викликає невелика група, так званий МТВС, що характеризується 99,9 % ідентичністю нуклеотидного складу геному і послідовністю 16S РНК, та включає в свій склад *M. Tuberculosis*, *M. Bovis*, *M. africanum*, *M. Microti*, *M. Pinnipedii*, *M. Canetti* [128]. Дослідники відзначають, що штами *M. Canetti*, у яких в геномі виявлено вбудовані ділянки чужорідної ДНК, відносять до таксону МТВС скоріш умовно, оскільки вважається, що *M. Canetti* розвивався окремо від інших представників даної групи [129]. Найбільш близьким, в еволюційному плані, до спільного предка є МБТ, а найвіддаленіши – *M. Bovis*, що має в своєму геномі найбільшу кількість делецій [128].

Ці види мікобактерій здатні проникати, жити і розмножуватися в організмі людини. Їх присутність обумовлює специфічні морфологічні і функціональні зміни в органах і тканинах, які клінічно проявляються як інфекційне захворювання – ТБ [116].

В Україні головну роль в етіології та епідеміології ТБ відіграє МБТ (понад 90 % випадків), значно рідше – *M. Bovis* (3-5 %). Ці два види МБТ є основними збудниками ТБ. У жителів Африки туберкульозні ураження зумовлює *M. Africanum*. При зараженні *M. Bovis* здебільшого розвиваються позалегеневі форми ТБ: ТБ лімфатичних вузлів, кісток і суглобів, сечової та статеві системи, мозкових оболонок [98, 103, 106].

До характерних рис МБТ як прокаріотичного організму можна віднести повільне клітинне ділення, здатність перебувати в латентному стані, складну структуру клітинної стінки, внутрішньоклітинний характер патогенезу. Незважаючи на відсутність горизонтального переносу і відносно низький рівень внутрішньовидової генетичної мінливості важливою проблемою на даний момент є велика фенотипічна різноманітність популяції МБТ [179, 205].

Основна видова ознака МБТ – патогенність. Ступень патогенності проявляється в їх вірулентності. Вірулентність – важлива і досить динамічна аспецифічна властивість збудника ТБ. Основу вірулентності формують генетична структура та фізико-хімічні особливості мікробного штаму. Вірулентність може істотно змінюватися під впливом факторів зовнішнього середовища і по-різному проявлятися в залежності від стану макроорганізму, який піддається бактеріальній агресії [60, 70].

В основу класифікації мікобактерії покладено морфологічні та біологічні ознаки. Під час диференціювання видів мікобактерій враховують зовнішні ознаки колоній. Однак ідентифікувати мікобактерії дуже складно, оскільки останніми роками спостерігають випадки виділення з патологічного матеріалу атипичних мікобактерій, які є самостійним видами [114]. В літературі описано будову та основні біохімічні компоненти МБТ [113, 116].

МБТ досить стійкі до дії факторів зовнішнього середовища. МБТ, поглинені макрофагами в процесі фагоцитозу, зберігають свою життєздатність тривалий час. За певних умов вони можуть викликати захворювання після багатьох років безсимптомного існування [112, 117].

Характерною властивістю МБТ є їх мінливість (поліморфізм). Під впливом чинників навколишнього середовища, біологічних процесів у організмі людини, дії ПТП типові паличкоподібні форми МБТ можуть перетворюватися на L-форми та мати знижену вірулентність. Це перетворення слід розглядати як один із варіантів захисту для виживання у несприятливих умовах [105].

Важливою ознакою мінливості МБТ є стійкість до одного або декількох ПТП (моно або полірезистентність). Потенційну епідемічну небезпеку становлять штами МБТ з МЛС [52, 102, 115].

Лабораторні дослідження свідчать, що виникнення резистентності в МБТ пов'язане з нуклеотидними змінами (мутаціями у генах), які кодують різні ферменти, що безпосередньо взаємодіють з лікарськими препаратами [26, 130].

Швидке визначення множинної лікарської стійкості МБТ є надзвичайно важливим для вибору ефективної методики протитуберкульозної терапії. Вирішення даної проблеми уявляється можливим на рівні генотипу, що дозволяє скоротити час проведення відповідного аналізу [42].

1.2. Молекулярно-генетичні дослідження МБТ в Україні

1.2.1. Генотипування клінічних ізолятів МБТ. Метод VNTR-типування МБТ

Сучасні молекулярні методи дозволили зрозуміти функціонування геному МБТ і оцінити еволюцію цього мікроорганізму [128, 194]. Перший повний геном МБТ (штам H37Rv) був опублікований 13 років тому [143]. На теперішній час в GenBank є інформація про повні геноми 5 штамів, а проекти

секвенування реалізуються ще для 26 штамів. У той же час, ключові особливості організації геному МБТ однакові для всіх штамів [54].

Всі методи генотипування штамів МБТ засновані на вивченні особливостей будови його генома. Однак широке застосування знайшли лише 3 методи: IS6110-RFLP-типування, сполиготипування та MIRU-VNTR-типування [86, 215].

MTBC характеризуються консервативною будовою геному з високою міжвидовою гомогенністю геному і частотою мутацій у межах 0,01-0,03 % [143], а також відсутністю фактів горизонтального переносу генів [128]; отже, алельний поліморфізм генів у них зустрічається досить нечасто [146]. Однак незважаючи на виражену консервативність у геномі MTBC відзначаються проліморфні ділянки [87].

У першу чергу, це невеликі (2,5 тисячі пар нуклеотидів) мігруючі IS-елементи, що здатні пересуватися у межах геному і переносити інформацію, необхідну їм для транспозиції переміщення. Транспозиція IS-елементів являє собою спонтанний процес і здатна порушувати цілісність генів [168]. На теперішній час їх роль у еволюції бактерій не з'ясовано, можливо, вони приймають участь у механізмах адаптації мікроба до несприятливих факторів оточуючого середовища [135].

У всіх представників MTBC у геномі було виявлено елемент IS6110, визначення якого лягло в основу першого методу генетичної класифікації MTBC – IS6110-поліморфізм довжин рестрикційних фрагментів (ПДРФ) [169], суть якого полягає в гель-електрофоретичному розділенні ДНК дроб'янки після обробки ендонуклеазою PvuII [166].

Однак через істотні недоліки повсюдне застосування даного методу в практичній роботі було обмеженим. Основними недоліками методу є: необхідність отримання великої кількості живої культури бактерій для дослідження і складність уніфікації досліджуваних генотипів. Для отримання результатів вимагалось культивування дроб'янок на рідкому поживному середовищі протягом місяців [166]. Типування штамів, що мають менше

шести IS6110-копій елемента в геномі, утруднене, оскільки роздільна здатність методу в цьому випадку виявляється недостатньо високою [133, 140, 142, 163, 170, 171, 174, 210].

Незважаючи на явні успіхи у вивченні МБТ, необхідність у пошуку нових специфічних маркерів і нових підходів у розробці методів ідентифікації і класифікації мікобактерій залишалася як і раніше актуальною.

Було встановлено, що всі представники MTBC у своєму геномі мають специфічний DR-регіон, утворений тандемно розташованими послідовностями ДНК довжиною 36 пар нуклеотидів. Самі повтори, у свою чергу, розділені невеликими унікальними послідовностями ДНК-спейсерами довжиною від 35 до 41 пари нуклеотидів [186]. Відомо, що RD-регіон відноситься до коротких паліндромних повторів ДНК, які регулярно розташовані групами (CRISPR), що відіграє важливу роль у боротьбі бактерій з інвазією чужорідних фрагментів ДНК (фагів) [167]. Спейсери CRISPR-системи в більшості унікальні і представляють собою невеликі ділянки фагової ДНК, що залишилися від попередніх фагових інвазій [167].

Вивчення DR-регіону призвело до створення ще одного методу генотипування мікобактерій – сполиготикування (англ. Spacer oligonucleotide typing), в основу якого лягло визначення 43 унікальних спейсерів MTBC [144, 211]. Специфічні профілі (сполиготипи) - SIT (англ. Shared international type) об'єднані в загальносвітову онлайн-базу SITVIT (SpolDB4), яка налічує близько 2 000 унікальних профілів, отриманих з більш ніж 120 країн світу [212]. Хоча сполиготикування є позбавленим основних недоліків ПДРФ-аналізу і допускає використання будь-якого матеріалу, що містить ДНК дроб'янки, включаючи зразки парафінових зрізів [208], його роздільна здатність знаходиться нижче ПДРФ-аналізу, та штамми, що мають ідентичні сполигопрофілі, часом дають різні IS6110-ПДРФ-фінгерпринти [159]. Наприклад, сімейству Beijing, величезній, філогенетично спорідненій групі штамів МБТ, відповідають сотні різних ПДРФ-профілів, в той час як при сполиготипуванні визначається тільки двадцять один профіль, що

характеризується протяжною делецією спейсерів 1-34 та відсутністю або мінорними делеціями в інших спейсерах [86, 153, 159, 177, 218]. Однак повсюдне застосування цього методу пов'язане з певними технічними труднощами і є досить коштовним, що скорочує його застосування на практиці [87].

З урахуванням недоліків попередніх методів генотипування мікобактерій було розроблено новий метод з роздільною здатністю ПДРФ-аналізу, результати якого корелювали з результатами сполиготипування (метод заснований на визначенні унікальних повторів із змінною кількістю копій (VNTR-повторів). Виявлені VNTR-повтори отримали назву мікобактеріальних дисперегованих одиниць змінної кількості копій (MIRU), а метод їх визначення - MIRU-VNTR-типування [176, 219].

В основу зазначеного методу покладено застосування полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) з подальшим аналізом ПЛР-продуктів у гелі-електрофорезі. Використання стандартних реактивів і приладів для ПЛР-аналізу зробило його зручним інструментом роботи будь-якої лабораторії. У залежності від кількості мішеней MIRU-VNTR-набір для MTBC поділяють на: 12-, 15- і 24-локусний MIRU-VNTR [200]. На сьогодні 12- і 15-локусний MIRU-VNTR використовується головним чином у молекулярно-епідеміологічній роботі, в той час як сполиготипування 24-локусний MIRU-VNTR – для філогенетичної класифікації мікобактерій [194].

Порівняно з IS6110 RFLP-генотипуванням, метод VNTR є більш високопродуктивним і менш трудомістким, а також значно менш вимогливим до якості ДНК [201, 220]. Він може бути автоматизований шляхом аналізу довжин ПЛР-фрагментів за допомогою автоматичних секвенаторів, що істотно підвищує продуктивність генотипування [149, 172]. Метод може з успіхом застосовуватися в центральних та обласних референс-лабораторіях, обладнаних ПЛР-ампліфікаторами і апаратурою для аналізу ПЛР-фрагментів в агарозному гелі. Дані про кількість повторів кожного такого локусу легко піддаються між лабораторному порівнянню і контролю якості. До

теперішнього часу створено та постійно оновлюються міжнародні бази даних з VNTR-профілів мікобактерій (наприклад, <http://www.miru-vntrplus.org/MIRU/index.faces>) [147].

Роздільна здатність VNTR-типування прямо пропорційна кількості оцінюваних локусів. Крім цього, значно варіює і роздільна здатність окремих локусів, згідно з якою їх запропоновано поділяти на слабо-, помірно- та високороздільні [161].

За підсумками наради європейської мережі епіднагляду за туберкульозом Європейського філії ВООЗ, що відбулася у 2009 році в місті Дубровник (Хорватія), було рекомендовано використання методу MIRU-VNTR-типування в якості референс-методу [225].

Крім перерахованих вище поліморфних маркерів у геномі мікобактерій було виявлено специфічні делеції, довжина яких варіювала від 10 до 11 985 пар нуклеотидів [158]. У загальній складності було виявлено 68 таких делецій, що охоплюють близько 4 % розміру геному дроб'янки [158]. Виявлені делеції було названо поліморфізмами протяжних геномних послідовностей (LSP) або регіонами відмінності (RD). Порівняння MIRU-VNTR-типування та LSP-типування продемонструвало, що результати обох методів корелюють між собою [139]. На сьогоднішній день LSP-типування особливо активно використовується при класифікації генотипу Beijing [144].

В.В. Ніколаєвський та співавтори провели порівняння роздільної здатності методів споліготипування та варіабельних довжин тандемних повторів (VNTR-MIRU) з використанням 15 локусів для генотипування мікобактерій в популяції з високою поширеністю штамів родини Beijing (67,9 %). Було показано більш висока ефективність і роздільна здатність методу VNTR-MIRU порівняно з методом споліготипування. Найбільшим поліморфізмом характеризувалися локуси VNTR-MIRU 10, 26, 31, 39, 40 і ETR-A, що дозволило рекомендувати їх для скринінгових досліджень, у тому числі із застосуванням електрофоретичної реєстрації результатів без використання автоматичних секвенаторів генів [58].

Таким чином, кожен з представлених методів має свої переваги та недоліки, що створює проблему вибору найбільш адекватного методу для конкретних досліджень. Всі перераховані вище методи, на жаль, мають загальний недолік: вони не дозволяють уніфікувати частоту зміни кожного маркера окремо, що, в свою чергу, ускладнює визначення еволюційних відстаней між штамми МБТ.

Геномні перебудови можуть бути найважливішими чинниками модуляції фенотипових властивостей патогенного мікроорганізму та визначати вірулентність дроб'янки, а також служити цінними, молекулярно-генетичними маркерами з діагностичною метою. Кожен з існуючих методів генетичної класифікації МТВС має переваги і недоліки, тому питання про розробку нових методик генотипування як і раніше залишається відкритим.

1.2.2. Лікарська чутливість різних генотипів МБТ до АМБП

Доведено, що розвиток ТБ залежить від низки медико-біологічних і соціальних чинників [72]. Виникнення стійкості до АМБП – закономірне явище, яке виявляє пристосування видів до навколишнього середовища.

Лікарська стійкість (резистентність) – це явище несприйнятливості бактеріального штаму до дії антибіотиків. Існує кілька видів лікарської стійкості. Монорезистентність – це наявність у штамі мікобактерій стійкості до одного протитуберкульозного препарату. Полірезистентність – це стійкість до декількох препаратів. Туберкульоз з МЛС викликається мікобактеріями, стійкими до двох основних ПТП: H та R [188]. У 2006 році вперше було зареєстровано випадки захворювання на ТБ з розширеною лікарською стійкістю. До такого типу відносять ТБ, викликаний штамми з МЛС, а також стійкість як мінімум до одного з препаратів фторхінолонового ряду (Lfx, Ofx, Mfx) та ін'єкційних препаратів другого ряду (Am, Cm, K). Вже до 2008 р. випадки РР ТБ було зареєстровано у всіх регіонах світу, що дозволило Всесвітній організації охорони здоров'я визнати це серйозною загрозою

охороні здоров'я в загальносвітовому масштабі, а особливо в країнах з високою поширеністю вірусу імунодефіциту людини (ВІЛ) [221]. Відповідно до звітів, успішність лікування пацієнтів з РР ТБ вкрай мала [151, 152, 224]. Ще більше погіршує прогноз поєднане інфікування резистентними мікобактеріями та ВІЛ [131].

Лікарська стійкість мікобактерій, як правило, обумовлена точковими мутаціями в генах [59, 79, 96, 122], які, на відміну від переважної більшості бактерій, що виникають *de novo* у чутливих штаммах у процесі селективного тиску при прийомі ПТП (так як у мікобактерій повністю відсутній горизонтальний перенос генів за допомогою плазмід). До теперішнього часу ідентифіковано більше трьох десятків генів, мутації в яких обумовлюють стійкість до ПТП. Найбільше значення мають мутації в таких генах: *katG* (кодон 315) і *inhA* (в кодонах 8, 15 і 16 регуляторного регіону), асоційованих зі стійкістю до Н [21, 189, 191, 214], *groV* (в кодонах 531, 526, 513 та інших), що відповідає за більшість випадків стійкості до R [189, 209], *embB306*, відповідальному за стійкість до Е [146, 203], *rpsA*, що обумовлює стійкість до Z [146, 190], *rrs* і *rrsL*, асоційованих зі стійкістю до S [164, 190]. Крім того, відомі мутації, асоційовані зі стійкістю до препаратів резервного ряду: фторхінолонів – в різних кодонах генів *gyrA* і *gyrB* [10, 150, 154, 192], аміноглікозидів – *rrs1400*, вставки в *tlyA* і точкові мутації в різних ділянках гена *eis* [180, 181, 195]. Сучасні методи швидкої молекулярно-генетичної діагностики лікарсько-стійкого ТБ засновані на визначенні поліморфізмів в цих генах [11, 65, 88, 95, 184, 198, 204].

Аналіз літературних джерел [49, 82, 99, 197] дає підстави стверджувати, що існує ціла плеяда теорій щодо формування та сутності лікарської стійкості МБТ.

Теорія адаптації припускає зміни властивостей мікроорганізму, що адекватні змінам навколишнього середовища. Відповідно до цієї теорії, розвиток лікарської стійкості МБТ вважають виявом однієї з форм мінливості бактеріальної клітини під впливом АМБП [27, 111]. Тобто виникнення

стійкості МБТ до АМБП зумовлено самим лікуванням, оскільки співвідношення популяцій чутливих і стійких форм МБТ становить 90 і 10 % відповідно, але в процесі лікування, у разі неправильної схеми хіміотерапії, значна кількість чутливих МБТ гине, через що порушується співвідношення в мікробній популяції і кількість стійких МБТ перевищує таку чутливих.

За теорією спонтанних мутацій [96, 141], у популяції МБТ існують стійкі мутанти. При цьому АМБП можуть виконувати роль чинника подальшої селекції резистентних видів або, на думку деяких дослідників, мутантів. Однак високою частотою спонтанного мутагенезу не завжди можна пояснити швидкість поширення мутацій, що сприяє розвитку резистентності збудників до АМБП.

Численні дослідження свідчать про можливість генетичної транслокації мутантних генів від однієї клітини до іншої і навіть міжродового обміну генетичною інформацією. Такий шлях поширення генетичної інформації описаний щодо бактерій, але для МБТ і деяких субштамів *E. Coli* визначено лише непрямі ознаки міжродового передавання генів, що кодують резистентність до лікарських препаратів [202].

Окремі зарубіжні дослідники стверджують, що причиною виникнення і поширення резистентних до АМБП штамів є природні біохімічні та генетичні механізми життєдіяльності бактеріальної клітини, і обговорюють шляхи поширення генетичної інформації, яка призводить до розвитку стійкості МБТ [178]. Із 3,8-4,2 тис. генів МБТ понад половина забезпечує синтез клітинної стінки і в несприятливих умовах змінює її структуру й переводить обмінні процеси на шляхи дублювання. Це у більшості випадків пояснює існування морфологічно змінених форм МБТ, які розглядають як закономірні стадії життєвого циклу.

Фактично від самого початку застосування антибіотикотерапії виник феномен лікарської стійкості. Особливість його в тому, що МБТ не має плазмід, а популяційну стійкість мікроорганізмів до антимікробних препаратів традиційно описували в мікробній клітині наявністю R-плазмід

(від англ. Resistance—стійкість). Однак, попри цейфакт, вказували на появу або зникнення лікарської стійкості в одному штамі МБТ. З'ясувалося, що за активацію або дезактивацію генів, які відповідають за резистентність, відповідають IS-послідовності [196].

МБТ за природою нечутливі до багатьох антибіотиків. Головна причина стійкості закодована в структурі генома туберкульозної палички. Ця властивість передусім пов'язана з тим, що високо гідрофобна клітинна поверхня служить своєрідним фізичним бар'єром для терапевтичних агентів і антибіотиків. Повідомляють також, що культури форм МБТ не завжди містять специфічний для МТВС інсерційний елемент IS6110 і деякі інші, що призводить до відсутності синтезу відповідних білків [119].

Підґрунтям значного збільшення кількості випадків первинної лікарської стійкості МБТ може бути широке застосування нечисленних антибіотиків, що їх можна використовувати у фтизіатрії для лікування хвороб нетуберкульозної етіології. У зв'язку з цим особливу стурбованість зумовлюють рекомендації призначати один із ПТП— R як препарат I ряду— під час лікування так званих проблемних інфекцій, спричинених грам позитивними організмами. Актуальним залишається питання раціонального застосування препаратів II ряду — респіраторних фторхінолонів [91, 99, 165].

На думку багатьох дослідників [145, 182, 207], через розмаїття чинників (демографічні, соціально-економічні, недостатня увага до проблеми боротьби з ТБ у багатьох країнах, епідемія ВІЛ-інфекції) значно зростає кількість хворих із абактеріальними формами ТБ легень, причому багато з цих пацієнтів не буде виявлено й залишаться без лікування. Навіть під час терапії ТБ нераціональний вибір лікарських засобів і слабкий контроль за прийомом їх призведуть до збільшення кількості хворих, які виділяють резистентні МБТ.

Також дослідники прийшли до висновку, що основними механізмами розвитку лікарської стійкості є неадекватна або помилково вибрана схема лікування, яка спричинює домінування лікарської стійкості штаму (відбувається селекція значимо стійких штамів) [3, 100]. Хворі, в яких

розвинулася лікарська стійкість до одного препарату, у подальшому більше схильні до набуття стійкості до інших засобів (ефект ампліфікації лікарської стійкості) [89]. Як стверджують окремі автори [26, 89], ймовірність передачі стійких штамів аналогічна ступеня передачі чутливих штамів. Отже, основна причина феномену лікарської стійкості—людський чинник. Все перераховане вище підтверджують результати пілотного наукового дослідження, проведеного Національним інститутом фтизіатрії та пульмонології ім. Ф. Г. Яновського та Ілінойським університетом (США), які засвідчили, що тільки 12,8 % хворих на ТБ лікували згідно зі стандартами, визначеними наказами МОЗ; 71,1 % пацієнтів призначили невірний режим лікування; 31,6 % самотійно перервали лікування [2, 178].

Виявлення механізмів дії більшості ПТП на молекулярному рівні та ідентифікація мутацій в генах, відповідальних за розвиток лікарської стійкості у мікобактеріях, зробило ефективним застосування молекулярно-генетичних методів для діагностики лікарської стійкості мікобактерій.

Застосування генотипування в клініко-епідеміологічних дослідженнях є визначальним у тих випадках, коли потрібно розрізнити первинну і вторинну медикаментозну резистентність. Якщо генотипові зразки МБТ до і під час лікування збігаються, це свідчить про формування стійкості в процесі лікування.

Генотипування може знадобитися під час клініко-епідеміологічних досліджень, коли потрібно вирішити питання генезу рецидиву: або це результат активації МБТ, що вже потрапила в організм людини, або інфікування новим штамом. Також цей метод дає змогу виявити лабораторну кросконтамінацію.

1.2.3. Геномний поліморфізм, клінічна та епідеміологічна значимість різних МБТ

Значні зусилля у напрямку боротьби з однією з найнебезпечніших хвороб людини – ТБ привели до того, що ТБ став не тільки виліковним захворюванням, а й контрольованим за допомогою комплексу заходів, що поєднують ефективну діагностику, адекватне повнооб'ємне лікування та соціально-епідеміологічний моніторинг [19]. На новому рівні усвідомлення важливості та небезпечності ТБ як суспільної загрози пов'язане з коепідемією ТБ з ВІЛ/СНІД, виникненням і поширенням мультирезистентних штамів ТБ та посиленням міграційних потоків.

Для вирішення завдань епідеміологічного моніторингу захворювання в останні роки все частіше використовуються методи молекулярно-генетичного типування патогена. Методи генетичного типування клінічних штамів МБТ довели свою ефективність у контролюванні ТБ. Отримані дані дозволяють вивчати динаміку і закономірності географічного поширення ТБ, як у популяції в цілому, так і серед певних груп населення.

У науковій літературі є роботи, присвячені характеристиці популяцій збудника ТБ в Республіці Казахстан, Киргизькій Республіці та різних регіонах Російської Федерації [22, 23, 24, 53]. Було проведено дослідження молекулярно-генетичного різноманіття штамів МБТ, що циркулюють на території цих держав, як за географічним охопленням вибірки, так і за кількістю варіабельних локусів геному ізолятів МБТ, виявлені генетичні сімейства МБТ, які асоційовані з множинною лікарською стійкістю, що дало можливість визначити клініко-епідеміологічне значення тих чи інших штамів [33].

На сучасному етапі Україна віднесена до групи країн з високим рівнем захворюваності на ТБ 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 ТБ легенів – 73,7 випадків

на 100 населення у 2006 році і 69,4 та 59,6 відповідно у 2008 та 2011 роках [104]. Проте збільшується захворюваність на активний ТБ у поєднанні з хворобою, зумовленою ВІЛ (СНІД) [40, 77, 97].

Ще до недавнього часу штами, що циркулюють на території України, майже не досліджувалися з точки зору молекулярної епідеміології, інформація про молекулярно-генетичні характеристики штамів МБТ представлена поодинокими дослідженнями, фрагментарна і не системна [6, 43, 64].

В останні роки спостерігається все зростаючий інтерес вітчизняних дослідників до проблеми геномного поліморфізму МБТ і використання генотипування у клініко-епідеміологічних дослідженнях [26, 55, 132].

В.В. Ніколаєвський та співавт. вперше провели дослідження з виявлення мутацій у генах, асоційованих з розвитком стійкості до R та H і вивчили поширеність штамів родини Beijing серед ізолятів МБТ, виділених від хворих в Одеській і Миколаївській областях України. Отримані попередні дані про поширеність штамів родини Beijing, асоційованих з високими рівнями лікарської стійкості, є суттєвим етапом програми створення баз даних генотипів МБТ, циркулюючих в Україні, на підставі різних молекулярно-епідеміологічних методів з подальшою інтеграцією їх в міжнародні бази даних [61, 65, 66, 185].

В Одеській області профілюючим виявився патерн, характерний для збудників родини Beijing (39,6 %), Haarlem 2, T, LAM та ін. [4, 47]. У Миколаївській області розповсюдженість штамів родини Beijing була вдвічі меншою та становила 17,5 % [6.]. Фактором ризику інфікування штамами генотипу Beijing у регіоні виявилися проживання в місті (у порівнянні з мешканцями області), перебування вмістях позбавлення волі, вживання наркотиків [123].

Ю.А. Чередник та співавт. дали оцінку доцільності та перспективності використання в Україні методу IS6110-RFLP для типування МБТ у порівнянні з іншими молекулярно-генетичними методами. Було запропоновано стратегію для проведення порівняльної молекулярно-генетичної характеристики

поширених на території України штамів ПЛР-методами в якості експрес-методів і IS6110-RFLP як обов'язкового референтного [121].

Дослідники визначили генетичні профілі штамів МБТ, які циркулюють у м. Києві, за допомогою VNTR-типування, SNP-типування та делеційного аналізу та оцінили ефективність обраної комплексної стратегії генотипування. Виявлено найбільш розповсюджені генетичні варіанти МБТ, які відповідають родинам Beijing и LAM. На думку авторів, стратегія генотипування штамів МБТ на основі комбінації SNP-типування і VNTR-типування більш адекватно відображає еволюційну спорідненість штамів, ніж VNTR-типування на основі ETR та MIRU, і є ефективнішою для вивчення локальних і глобальних епідеміологічних зв'язків та еволюційного аналізу МБТ. Таким чином, сімейства Beijing та LAM є найбільш епідеміологічно-значущими групами штамів київської популяції МБТ [25, 30].

В доступній літературі ми знайшли нечисленні роботи, присвячені вивченню МБТ різних генотипів, що циркулюють на території м. Харків та області. Встановлено, що найбільш поширеними генотипами є Beijing, який зустрічався в 32,1 %, LAM – в 26,4 % і Haarlem – в 10,4 % випадках. Серед хворих на ВДТБ легень велику питому вагу складають хворі з ГПП, а серед хворих на хронічний ТБ легень і РТБ – хворі з генотипами Beijing та LAM. Виявлено залежність виразності ІС від генотипу збудника. Серед хворих з генотипами Beijing та LAM частіше розвивається придбана медикаментозна резистентність до R та K, з генотипом LAM – до E, а туберкульозний процес, який спричинено цими збудниками має схильність до хронізації [44, 45, 84].

Вперше проведено молекулярно-генетичне дослідження методами VNTR - і IS6110 RFLP-типування ізолятів МБТ, виділених від 98 хворих на ТБ легень, які проживають на території Харківської області. Ідентифіковано 75 різних генетичних профілів. Переважали ізоляти сімейства Beijing, склали 34 %, і сімейства LAM – 23 %. Кластер ізолятів, що належать до сімейства LAM, відрізнявся значною генетичною гетерогенністю, що свідчить про давнє поширення і циркуляцію цього сімейства на досліджуваній території. Також

виявлено асоціацію між приналежністю до сімейства LAM і множинною лікарською стійкістю ізолятів. Крім того, було виявлено й значний відсоток ізолятів (36 %), які належать до поки неідентифікованих сімейств МБТ або мають індивідуальні некластеруючі генотипи [28, 160].

Таким чином, на підставі літературних даних можна зробити висновок про зв'язок між приналежністю мікобактерій певного сімейства і наявністю мутацій, яка визначає лікарську стійкість. Це підтверджує гіпотезу, що в епоху активної терапії ТБ, лікарська стійкість може сприяти поширенню певного генотипу МБТ. У сучасній літературі є мізерні відомості про клінічну характеристику процесів, викликаних МБТ різних генотипів, недостатньо висвітлені і властивості МБТ (вірулентність, лікарська стійкість) різних генотипів.

1.3. Клініко-рентгенологічні особливості перебігу ТБ легень, викликаного різними генотипами МБТ

Особливу тривогу викликає неухильне зростання числа вперше виявлених хворих, що виділяють МБТ з МЛС.

На думку багатьох авторів, розповсюдження ТБ з МЛС та низька ефективність лікування пов'язані з генотипом МБТ, зокрема з генотипом Beijing [7, 8, 31, 35, 68].

Проте дотепер не визначено залежність тяжкості туберкульозного процесу і ефективності терапії у вперше виявлених хворих від генома збудника. Вивчення особливостей захворювання: поширеності і тяжкості процесу, спектру лікарської стійкості мікобактерій, можливостей ефективного лікування хворих на ТБ, які виділяють МБТ різних генотипічних кластерів, представляється вельми актуальним [39, 187].

На думку Т. Х. Ісаєвої, існує прямий взаємозв'язок між споліготипом збудника ТБ і тяжкістю перебігу викликаного їм захворювання. Найбільш важкі форми захворювання виявляються при ТБ, викликаного мікобактеріями

штамів Beijing. МЛС і полірезистентність виявляються у хворих на ТБ, що виділяють мікобактерії сімейства Beijing в 2 рази частіше, ніж у хворих, що виділяють МБТ інших генотипічних варіантів (Haarlem, LAM). Показники ефективності терапії (припинення мікобактеріовиділення, загосення деструктивних змін) у хворих, що виділяють штами МБТ з генотипом Beijing, в півтора рази нижче, ніж у пацієнтів з мікобактеріями інших сімейств, не-Beijing [36].

Порівняння поширеності процесу у хворих двох груп показало, що у хворих групи, в яку були включені всі хворі із захворюванням, викликаним мікобактеріями сімейства Beijing (I) достовірно частіше, ніж у хворих, що виділяли мікобактерії інших генотипічних сімейств (LAM, Haarlem) (II) реєструвалися поширені процеси, що зачіпають 3-5 часток (49,4 % і 29,6 % відповідно, $p < 0,05$).

Характер деструктивних змін за даними рентгенологічного методу дослідження також залежав від генотипу збудника. З 87 хворих I групи розпад, що починається, визначався в 20,7 % випадків, а каверни, що формуються, – лише в 6,95 % випадків. Таким чином, у більшості хворих I групи виявлялися сформовані каверни - в 72,4 %. Разом з тим у хворих II групи розпад, що починається, і каверни, що формуються, були виявлені більш, ніж в половині випадків (57,4 %), а сформовані каверни виявлялися значно рідше, ніж у хворих I групи – у 23 з 54 хворих (42,6 %), $p < 0,05$. Невеликі розміри деструкції (до 2 см) були виявлені в 36,8 % в I групі і в 66,7 % - в II групі, $p < 0,05$. Деструкції розмірами 2-4 см в діаметрі візуалізувалися в 36, 8% і 24,1 % відповідно у хворих I і II групи, деструкції розмірами більше 4 см значно частіше наголошувалися у хворих I групи (26,4 %), ніж другий (9,3 %), $p < 0,05$ [35].

На думку Ю.М. Маркелова, особливістю клініко-рентгенологічних проявів і перебігу ТБ з МЛС виявилася достовірно частіша наявність деструктивних змін легеневої тканини, яка супроводжувалася масивним і тривалим мікобактеріовиділенням [46].

У своєму дослідженні О.Т. Титаренко та співавт. відзначають, що хворі тієї групи, в яку були включені всі пацієнти із захворюванням, викликаним мікобактеріями сімейства Beijing (I) і хворі, що виділяли мікобактерії інших генотипічних сімейств (II) розрізнялися за поширеністю ураження легенів: у I групі частка осіб з ураженням трьох і більше сегментів виявилася більшою, ніж в II (82 проти 35 %; $p = 0,009$) [12].

Встановлений генотип МБТ у хворих на легеневий ТБ дозволяє робити висновки про перебіг і наслідки хвороби. Визначення споліготипа збудника дає можливість прогнозувати перебіг процесу і визначати тактику лікування хворих. Вивчення особливостей клінічного перебігу ТБ легенів залежно від генотипу, вірулентності і лікарської стійкості збудника, своєчасного рентгенологічного дослідження і оптимізації протиепідемічних заходів представляється актуальним.

1.4. Основні методи лікування ТБ легень в залежності від генотипів МБТ

Історія лікування ТБ є свідком поступового формування резистентності до ПТП протягом багатьох десятиліть. До основних чинників, що призводять до зростання смертності, зниженню ефективності лікування і сприяючих розповсюдженню туберкульозної інфекції, належить лікарська стійкість МБТ, особливо МЛС. Розповсюдження ТБ з МЛС є наслідком незадовільного проведення протитуберкульозних заходів [36].

Встановлений генотип МБТ у хворих на легеневий ТБ дозволяє робити висновки про перебіг і наслідки хвороби. Виділення генотипів Harlem та ГІП дають підстави прогнозувати сприятливий перебіг хвороби, виділення Beijing та LAM – затяжний і менш сприятливий перебіг процесу. Визначення генотипу дозволяє своєчасно проводити корекцію АМБТ [45].

АМБТ вже більше 60 років, безперечно, займає провідне місце в лікуванні хворих на ТБ як етіотропний метод, суть якого полягає в знищенні або придушенні розмноження МБТ в організмі хворого [40, 81, 120].

Проте на даний час її ефективність знижується, що пояснюється тривалим застосуванням ПТП і зростанням лікарської стійкості МБТ, причому не тільки до окремих ліків, але і їх поєднанню в режимах лікування хворих на ТБ легенів. Важливим чинником також є відсутність нових класів ПТП [13].

Згідно класифікації ВООЗ 1998 р. розрізняють наступні види лікарської стійкості: монорезистентність (стійкість до одного ПТП), полірезистентність (стійкість до >2 ПТП, але не до поєднання Н і R) і множинну лікарську стійкість (МЛС), тобто стійкість до поєднання Н і R незалежно від наявності стійкості до іншого ПТП [48].

У 2006 р. експерти ВООЗ виділили так звану extensively drug-resistance (XDR), що включає окремо МЛС МБТ в поєднанні з фторхинолонами або з одним з 3 ін'єкційних ПТП – К, Am або Cm. У 2007 р. в поняття XDR додалася МЛС в поєднанні з тиамідами, Cs і ПАСК, крім того, окрему групу склали хворі, що виділяють extremely drug-resistance (XXDR) МБТ з тотальною лікарською стійкістю до всіх відомих ПТП [136].

Для клініциста дана класифікація носить досить розпливчатий характер, при цьому особливий акцент робиться тільки на МЛС МБТ, а полірезистентності МБТ абсолютно не приділяється уваги. Проте до пацієнтів з полірезистентністю з позицій епідеміологічної небезпеки, тяжкість клінічних проявів і ступеня ефективності повинні застосовуватися такі ж протиепідемічні, лікувальні і профілактичні заходи, як і до хворих з МЛС [52, 71].

У 2001 р. В.Ю. Мішин на підставі контрольованих клінічних досліджень довів, що полірезистентність і МЛС МБТ може поєднуватися не тільки з іншими основними (S, Z і E), але і резервними ПТП (Pt, К, Am, Cm, Cs, ПАСК і фторхінолонами) [51].

Було запропоновано клінічну класифікацію лікарської стійкості і виділені 2 групи хворих: 1-а група – хворі, що виділяють МБТ, стійкі до основних ПТП (зокрема до поєднання Н і/або R з іншими основними

препаратами), 2-а група – пацієнти, що виділяють МБТ, стійкі до поєднання основних і резервних ПТП (зокрема до поєднання H та/або R з резервними препаратами). При цьому було встановлено, що виявлення лікарської стійкості МБТ до поєднання основних і резервних ПТП визначає новий якісний стан хворих як в плані течії і прогнозу захворювання, так і в плані проведення АМБТ і всієї подальшої терапії. У хворих 1-ї групи резервні ПТП можуть надавати бактеріостатичну дію на МБТ. В той же час у пацієнтів 2-ї групи ефективність АМБТ резервними препаратами знижується, а при тотальній лікарській стійкості до всіх відомих ПТП лікування буває повністю неефективним, і хворі залишаються постійними мікобактеріовиділювачами [183, 216].

Стандартні режими хіміотерапії для лікування вперше виявлених хворих були розроблені після досліджень G. Canetti, N. Rist, J. Grossety 60-х рр. XX ст., при цьому автори виходили з припущення, що у даних пацієнтів МБТ в зоні ураження легенів чутливі до всього ПТП. Було показано, що у великій і такій, що активно розмножується, мікобактеріальній популяції, яка розвивається з лікарські чутливих МБТ, завжди є невелика кількість лікарські стійких спонтанних мутантів (до 5 %). Співвідношення 1 клітина-мутант на 10^{-8} указує на резистентність до R, 1 клітина-мутант на 10^{-5-6} – до H, E, S, K і ПАСК, 1 мутанта на 10^{-3} – до Z, Pt (Et), Cm та Cs. З урахуванням того, що в каверні величина мікобактеріальної популяції складає 10^{-8-11} , там є МБТ, стійкі до всіх ПТП, тоді як у вогнищах знаходиться 10^{-2-5} клітин, стійких до ПТП [78, 155, 136].

Розвиток спонтанних мутацій стійкості у МБТ відразу до декількох препаратів практично неможливий, оскільки немає єдиного гена, що кодує резистентність відразу до декількох ПТП, а мутації стійкості до окремих препаратів генетично не пов'язані. Вірогідність розвитку спонтанних мутантів одночасно до H і R складає $2,56 \times 10^{-10}$ [9, 125, 126].

Отже, для того, щоб подавити розмноження лікарські стійких мутантів, необхідне застосування не менше 4 основних ПТП одночасно. Це послужило

основою програми DOTS (Directly Observed Treatment Short course), запропонованої експертами ВООЗ в 1994 р., що означає лікування коротким курсом під прямим спостереженням, або контрольоване лікування коротким курсом. Рекомендована DOTS терапія хворих на ТБ легенів проводиться коротким курсом і включає 4 препарати (H, R, Z і E), що призначаються на 2 місяці, з подальшим використанням H і R протягом 4 місяців або H і E протягом 6 місяців [199].

Відмічено, що фторхінолони володіють хорошою протитуберкульозною активністю *in vitro* та *in vivo*, не маючи активності, перехресної з іншими ПТП. При цьому у даних препаратів (ципрофлоксацин, Ofx) встановлений синергідний або аддитивний ефект з R, H, Z і E [134].

Окрім високої бактерицидної активності відносно МБТ і оптимальної фармакокінетики, що забезпечує високі концентрації фторхінолонів в тканинах і рідинах легенів і в клітинах фагоцитарної системи, вони викликають небажані реакції в невеликому числі випадків, що істотно при проведенні тривалих курсів комбінованої АМБТ [127].

Показовий історичний досвід використання R в терапії пацієнтів з ТБ. Цей препарат був синтезований Maggi et al. у 1965 р. і став застосовуватися в клінічній практиці з 70-х рр. XX ст. Провідний експерт ВООЗ W. Fox рекомендував застосовувати його тільки при хронічних формах ТБ легенів, дотримуючись думки, що спочатку треба вичерпати ефективність режиму АМБТ, що включає H, S і ПАСК, – стандартного у той час для вперше виявлених пацієнтів. І лише після розвитку стійкості МБТ до цього ПТП він пропонував застосовувати R [156].

Відносно фторхінолонів історія знов повторюється, і знов експертами ВООЗ новий ефективний препарат рекомендований для лікування хронічних форм ТБ легенів з МЛС МБТ [162].

Загальна тривалість лікування визначається початковим характером і поширеністю специфічного процесу в легенях, характером лікарської стійкості МБТ, темпами і термінами розсмоктування патологічних змін і

закриття каверн в легенях, припинення микобактеріовиділення і зникнення клінічних проявів захворювання, а також можливістю застосування колапсотерапії і хірургічного лікування. Через велику небезпеку низької ефективності комбінації резервних ПТП, а також РТБ, викликаного множинно стійким збудником, АМБТ проводиться не менше 12-18 місяців [85, 116, 206, 148].

Останніми роками введений новий термін РРТБ, що має на увазі наявність у пацієнта культури МБТ, стійкої як мінімум до H і R в поєднанні із стійкістю до фторхінолонів і одному з ін'єкційних препаратів (K, Am, Cm). За наявності РР ТБ підібрати адекватну схему АМБТ украй скрутно, оскільки набір ПТП резервного ряду обмежений [71, 78].

Згідно з опублікованими даними не так давно проведеного рандомізованого контрольованого дослідження, результати випробувань нового препарату – діарилхіноліна ТМС207 – виявилися обнадійливими. У цьому дослідженні 47 пацієнтів з вперше виявленим діагнозом МЛС-ТБ шляхом випадкового відбору були розподілені по групах, одержуючих ТМС207 або плацебо в поєднанні із стандартною схемою лікування п'ятьма ПТП другого ряду. Додаткове введення ТМС207 у стандартну схему лікування МЛС-ТБ значно скоротило час до настання конверсії мокроти за наслідками культурального дослідження порівняно з групою на плацебо [217, 222].

Таким чином, в першому десятилітті ХХІ ст. відмічається зниження ефективності АМБТ, що пов'язано з неухильним наростанням рівня первинної і вторинної лікарської стійкості МБТ. Епідеміологічні умови, що створилися, диктують необхідність переглянути, в першу чергу, існуючі стандартні режими АМБТ, що дозволить добитися клінічного лікування у більшій кількості пацієнтів і тим самим запобігти формуванню невиліковних хронічних форм ТБ легенів з лікарською стійкістю МБТ, а, отже, виконати основне завдання АМБТ – запобігти розповсюдженню заразливих форм захворювання.

1.5. Зміни генотипів МБТ в процесі лікування у протитуберкульозних установах

У зв'язку з напруженою ситуацією по захворюваності ТБ і високою смертністю від нього актуальною є проблема посилення заходів профілактики цієї інфекції.

За останні роки ТБ набув рис нозокоміальної інфекції, з'явилися збудники, що характеризуються МЛС та стійкістю до дезінфікуючих засобів (ДЗ), що мають підвищену вірулентність та трансмісивність [15, 38].

Одним з напрямів профілактики ТБ є проведення дезінфекційних заходів. Складність їх здійснення при ТБ обумовлена, по-перше, різноманіттям шляхів передачі інфекції (аерогенний – легко-пиловий і повітряно-краплинний, аліментарний, фекально-оральний, контактний). Виділяючись від хворого з мокротою, фекаліями, сечею, а також з відокремлюваним з фістул, носоглотки і т.п., збудник ТБ контамінує широке коло об'єктів в оточенні хворого. Враховуючи, що основною формою ТБ є легенева, а основним шляхом передачі є аерогенний, в першу чергу дезінфекції підлягають мокрота, а також повітря і поверхні в приміщеннях, що є місцями формування вторинного аерозолі [73, 101].

Дезінфектологічною проблемою при ТБ є висока стійкість збудників до дії фізичних і хімічних чинників. Завдяки цьому вони тривало виживають в зовнішньому середовищі, і для досягнення їх загибелі на/в об'єктах потрібне застосування ефективних відносно мікобактерій методів, засобів і режимів знезараження, значно більш „жорстких”, чим для більшості інших видів мікроорганізмів [162].

Тривалість виживання мікобактерій поза організмом залежить від умов середовища, в якому вони знаходяться: у мокроті на сонці – від 4 до 15 годин; у мокроті в темному прохолодному місці – роками; на білизні в темному приміщенні – до 330 днів; на розсіяному світлі – 140 днів; у воді – до 1 року; у

культурах – до 2–3-х років; у зваженому стані в повітряному середовищі (частинки розміром 1–5 мк) – протягом багатьох днів [18].

За стійкістю до дезінфікуючих засобів мікобактерії перевершують багато мікроорганізмів, поступаючись тільки спорам бацил, цвілі і деяким вірусам. Особливо мікобактерії стійкі до дії кислот. У 7 % розчині соляної кислоти вони виживають протягом 4 год., в 20% розчині сірчаної кислоти – 6 год., 6 % азотної – 1 год. 5 % фенол або хлорамін викликають їх загибель тільки після 6 годин дії [110].

Малочутливими є МБТ до дії спиртів, деяких кисневмісних препаратів. Альдегіди не ефективні відносно мікобактерій, що знаходяться в мокроті, а загибель мікобактерій, не захищених органічними речовинами, забезпечують їх розчини в концентраціях 1–2 % діючої речовини (ДР). Четвертинні амонієві з'єднання (ЧАЗ) та полімерні похідні гуанідину (ППГ) діють на мікобактерії також у високих концентраціях – 2 % по ДР. Більш активними відносно мікобактерій є гіпохлорити, аноліти, похідні гідантоїну та хлорізоціанурових кислот, засоби на основі надощтової кислоти, третинні аміни, композиційні засоби, що містять як ДР катіонні поверхньоактивні речовини (КПАР) в комплексі з альдегідами [109, 226]

Небезпека розповсюдження ТБ залежить від:

- масивності мікобактеріовиділення у хворого;
- наявності у вогнищі сприйнятливої контингенту (дітей, підлітків, алкоголіків, наркоманів, психічно хворих, ВІЛ-інфікованих і хворих на СНІД, хворих з хронічними захворюваннями легенів, зокрема професійними – силікози та ін.);
- умов мешкання (якість вентиляції, вологість, інсоляція, температура в приміщеннях, скупченість – комунальні квартири, гуртожитки, в'язниці);
- рівня культури і дотримання гігієнічних правил і норм хворим і членами його сім'ї.

- Ці чинники визначають категорію епідеміологічної небезпеки вогнищ ТБ та об'єм дезінфекційних заходів, що проводяться в них [14].
- Однією з важливих проблем є рівень захворюваності на ТБ медичних працівників і особливо працівників протитуберкульозних організацій [5, 69].

На ризик виникнення ТБ у персоналу і хворих в лікувально-профілактичних установах (ЛПУ) впливає: концентрація збудника в навколишньому середовищі, тривалість контакту, інтенсивність вентиляції [20, 41].

Профілактика нозокоміального ТБ серед працівників медичних установ до теперішнього часу не є повною мірою розв'язаною проблемою, як в науковому, так і практичному відношенні.

Розповсюдженню інфекції сприяє неправильне і несвоєчасно розпочате лікування, проведення процедур, що викликають кашель у хворого, без відповідних запобіжних засобів. У зв'язку з цим в ЛПУ загального і фтизіатричного профілю можна виділити приміщення підвищеного ризику: лабораторії, де проводяться дослідження мокроти, приміщення для збору мокроти, відділення бронхоскопії, флюорографії, патологоанатомічні відділення і судмедекспертизи, терапевтичні пульмонологічні відділення з необстеженими хворими, лікарняні палати для хворих на туберкульоз, викликаний збудником з МЛС та ін. На основі оцінки ризику зараження в окремих приміщеннях ЛПУ розробляється план заходів щодо інфекційного контролю [69, 124].

У багатьох бактеріологічних лабораторіях загальна площа, набір і розміщення приміщень не цілком дозволяють ефективно і безпечно організувати технологічні потоки зразків і персоналу. Ефективні інженерні заходи контролю середовища незаселеного в зонах високого ризику обмежуються тільки боксами біологічної безпеки класу захисту 2, тип А, і біобезпечними центрифугами, кількість яких часто недостатня. Загально-

обмінна вентиляція для забезпечення контрольованих потоків повітря в зоні високого ризику майже повсюдно функціонує не достатньо ефективно [32, 67, 90].

Безумовно позитивну перспективну роль в справі зниження ризику розповсюдження туберкульозної інфекції грає недавнє ухвалення на рівні держави ряду важливих стратегічних документів. У серпні 2010 р. прийнятий «Стандарт інфекційного контролю за ТБ в лікувально-профілактичних заставах, місцях довгострокового перебування людей та проживання хворих на ТБ», що включає всі ключові компоненти заходів щодо зниження ризику трансмісії, рекомендовані ВООЗ [75].

У грудні 2011 р. затверджена національна Концепція, яка передбачає ряд ключових напрямів, які дозволять забезпечити зниження ризику трансмісії ТБ: впровадження швидких методів діагностики; соціальну підтримку (заохочення) хворих на амбулаторному етапі; пріоритетний розвиток амбулаторних форм надання допомоги із забезпеченням DOT; скорочення термінів стаціонарного лікування.

Реалізація вказаних документів повинна зробити істотний вплив на зниження рівня ризику, як внутрішньолікарняної трансмісії ТБ, так і його розповсюдження в популяції в цілому.

Програми інфекційного контролю у ряді регіонів пострадянського простору схожі за своїми цілями, структурі і нормативними характеристиками, проте мають відмінності, що стосуються особливостей різних країн – географічне розташування (важливо для планування інженерних заходів), підпорядкованість організацій охорони здоров'я, джерела фінансування.

Дотримання заходів інфекційного контролю є основною мірою профілактики захворюваності на ТБ медичних працівників протитуберкульозних організацій.

У сучасній епідеміології ТБ важливим компонентом є вивчення питання і закономірностей розвитку епідемії ТБ, вивчення причин і чинників, які

сприяють розповсюдженню штамів МБТ, що мають певні властивості. Для цього проводиться ідентифікація і специфічна характеристика штамів за певними ознаками, що дозволяє вирішувати такі питання, як його походження, виявлення джерела інфекції, вірогідні шляхи і чинники передачі, а так само виявляти випадки виникнення і розповсюдження стійкості до АМБТ.

Аналіз літератури свідчить про високу частоту розповсюдження в світі ТБ з МЛС. Однією з основних причин розповсюдження МБТ з МЛС є пізнє визначення лікарської стійкості. Молекулярно-генетичні методи дозволили по-новому поглянути на епідеміологію ТБ і оцінити генетичну різноманітність штамів МБТ. Використання цих методів діагностики ТБ дозволяє на етапі обстеження хворого під час надходження до стаціонару виявляти стійкість МБТ до ПТП і призначати адекватний режим АМБТ в ІФ лікування, що підвищує ефективність лікування і запобігає розповсюдженню лікарські стійких штамів МБТ.

Популяція МБТ в Україні генетично неоднорідна і представлена штамми глобально поширених генетичних груп (ліній), серед яких, превалюють Beijing, LAM і Haarlem.

ТБ як внутрішньолікарняна інфекція залишається недостатньо вивченим захворюванням. Разом з тим, незважаючи на очевидну актуальність проблеми, система епідеміологічної діагностики нозокоміальної ТБ інфекції не регламентована чинними нормативно-правовими документами. У зв'язку з цим, статистика, що відображає дійсний стан проблеми, відсутня [7, 8, 12]. В результаті, не представляється можливим дати об'єктивну оцінку ефективності програм щодо запобігання перехресного зараження пацієнтів протитуберкульозних установ.

Проведений пошук літератури показав, що дослідження питань змін штамів МБТ в процесі лікування недостатньо освітлені. Але цей напрям є одним з тих, які швидко розвиваються в молекулярній епідеміології ТБ, що робить дане дослідження актуальним.

Матеріал даного розділу відображений у науковій публікації:

1. Рогожин А. В. Контамінація М. Tuberculosis у внутрішньо та позалікарняних умовах / А.В. Рогожин // Світ медицини та біології. Науковий, медичний, екологічний журнал. – 2015. – 1 (48). - С. 222-224.

РОЗДІЛ 2

ОБ'ЄКТ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1. Клінічна характеристика хворих на ХРТБ легень на етапі діагностики

Робота виконана на клінічній базі кафедри фтизіатрії, пульмонології та сімейної медицини Харківської медичної академії післядипломної освіти (ХМАПО), Обласної туберкульозної лікарні №1 (ОТЛ №1) та Обласної туберкульозної лікарні №3 (ОТЛ №3).

Об'єктом дослідження стали 145 хворих на ХРТБ легень з первинною резистентністю МБТ до АМБП, підтвердженою ТМЧ. У всіх хворих був розповсюджений характер ураження легень та деструкція легеневої паренхіми, у 72,4 % хворих було уражено обидві легені. Всі хворі були масивними мікобактеріовиділювачами. Набір біологічного матеріалу проводили в бактеріологічних лабораторіях при ОТЛ №1 та ОТЛ №3 м. Харкова.

Критеріями виключення з дослідження були: вік пацієнтів молодше 25 та старше 60 років; відсутність МБТ у мокротинні за культуральним методом дослідження мокротиння на щільних поживних середовищах; відсутність деструкції легеневої паренхіми; обмежені ураження легеневої паренхіми (до 2 сегментів); супутня патологія у стадії загострення: хронічне обструктивне захворювання легень, бронхіальна астма, цукровий діабет, онкологічні захворювання, вірусні гепатити, виразкова хвороба шлунку, професійні захворювання легень, наявність ВІЛ-інфекції, прийом глюкокортикостероїдів та цитостатиків, вживання алкоголю чи наркотиків під час проведення дослідження.

Чоловіків було 66,2 %, жінок – 33,8 %. Вік хворих коливався від 25 до 60 років, середній вік становив $42,5 \pm 10$ років. Діагноз ХРТБ легень

встановлювався на підставі даних клініко-лабораторного обстеження відповідно наказу МОЗ України № 620 від 04.09.2014 р. (УКПМД «Туберкульоз»). Усі хворі дали інформовану згоду на обстеження та лікування згідно з існуючими інструкціями.

Характеристика хворих за полом та віком представлена у таблиці 2.1.

Таблиця 2.1

Розподіл хворих за полом та віком

Пол	Кількість хворих		Вік хворих							
	абс.	%	25-34		35-44		45-54		55-60	
			абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Чол.	96	100,0	42	43,7	30	31,2	15	15,6	9	9,4
Жін.	49	100,0	26	53,0	16	32,6	5	10,2	2	4,1
Усього	145	100,0	68	46,9	46	31,7	20	12,4	11	6,2

Тобто питома вага за віком між чоловіками та жінками майже не відрізнялася ($p > 0,05$ для всіх вікових груп).

Серед обстежених пацієнтів 101 (69,5 %) хворий не працював, серед яких було 90 (89,1 %) хворих працездатного віку. У 101 (69,5 %) хворого ТБ було виявлено при профілактичному огляді на флюорографії, та у 44 (30,5 %) при зверненні до лікаря.

Представляємо клініко-рентгенологічну та лабораторну характеристику обстежених хворих на ХРТБ легень.

Грудні симптоми у вигляді кашлю з мокротинням відзначалися у 131 (90,5 %) хворого, серед яких у 17 (11,4 %) з домішками крові. Скарги на задишку різного ступеня виразності пред'являли 125 (86,4 %) хворих,

непостійний біль в грудній клітці – 11 (7,6 %). Інтоксикаційні симптоми у вигляді підвищення температури спостерігалися у 59 (40,7 %), загальна слабкість у 128 (88,6 %), у 44 (30,5 %) хворих спостерігалось зниження апетиту та маси тіла.

За ступіннями інтоксикаційного синдрому (ІС), який розділяється на слабо виражений, помірно та виражений, хворі були розподілені наступним чином: перший ступінь (слабо виражений), до якого ввійшли хворі з субфебрильною температурою (до 38°C), помірною пітливістю, слабкістю та зниженням апетиту – 74 хворих (51,4 %), хворі з другим ступінем ІС (помірно виражений), в яких спостерігались фебрильна температура (до 38,5°C), виражена пітливість, слабкість, значне зниження апетиту – 52 (36,2 %), та 4 хворих (2,8 %) із третім ступінем ІС (виражений) в яких спостерігались висока температура тіла (>38,5°C), профузні поти, різка слабкість, адинамія, анорексія, порушення сну [73]. У 104 (71,7 %) хворих визначалися зміни перкуторного звуку різної виразності та протяжності у вигляді його притуплення або коробкового відтінку, у 113 (77,9 %) хворих вислуховувалися різної протяжності хрипи, у тому числі у 29 (25,6 %) вологі, у 84 (74,4 %) – сухі хрипи.

У обстежених хворих переважав інфільтративний туберкульоз легень, а саме у 108 (74,5 %) хворих, у 19 (13,1 %) пацієнтів був діагностований дисемінований туберкульоз легень, у 13 (9,0 %) хворих – фіброзно-кавернозний туберкульоз легень та у 5 (3,4 %) – казеозна пневмонія.

Всі хворі мали розповсюджений характер ураження легень та деструкцію легеневої паренхіми, у більшості хворих було уражено обидві легені.

Характеристика хворих за клінічними формами ТБ легень представлена у таблиці 2.2.

Таблиця 2.2

Характеристика клінічних форм ТБ легень у хворих на ХРТБ

Клінічні форми ТБ легень		Інфільтра- тивний	Дисемі- нований	Фіброзно- кавернозний	Казеозна пневмонія	Усього
Кількість хворих	абс.	108	19	13	5	145
	%	74,5	13,1	9,0	3,4	100,0

Характеристика розповсюдженості ураження легень представлена в таблиці 2.3.

Таблиця 2.3

Характеристика розповсюдженості ураження легень

Клінічні форми ТБ легень	Кількість хворих		Розповсюдженість ураження				
			2-3 сегмен- ти	1-2 частки	3-5 часток	Одно- бічне	Дво- бічне
Інфільтративний	абс.	108	6	44	58	39	69
	%	100,0	5,6	40,7	53,7	36,1	63,9
Дисемінований	абс.	19	-	-	19	-	19
	%	100,0	-	-	100,0	-	100,0
Фіброзно- кавернозний	абс.	13	-	3	10	-	13
	%	100,0	-	23,0	77,0	-	100,0
Казеозна пневмонія	абс.	5	-	2	3	1	4
	%	100,0	-	40,0	60,0	20,0	80,0
Усього	абс.	145	6	49	90	40	105
	%	100,0	4,1	33,8	62,0	27,6	72,4

Частіше розповсюдженість ураження займала 3-5 часток легень (62,0 %), та лише у 4,1 % хворих вона була обмежена 2-3 сегментами. Значно частіше спостерігалось двобічне ураження легень (72,4 %), ніж одnobічне (27,6 %).

За кількістю порожнин хворих було поділено на декілька груп: 1 група – 1 каверна, 2 група – 1-2 каверни, 3 група – 4 та більше каверн.

За розміром каверн, який визначався за найбільшим діаметром, а якщо каверн було декілька – за діаметром найбільшої: 1 група – до 2 см, 2 група – від 2 до 4 см, та 3 група – більш 4 см.

У 4 (2,7 %) хворих виявлена 1 каверна, у 103 (71,1 %) хворих спостерігалось від 1 до 3 каверн, у 38 (26,2 %) – їх кількість складала 4 та більше. У 27 (18,6 %) хворих розмір каверн складав до 2 см, у 86 (59,4 %) – від 2 до 4 см та у 32 (22,0 %) осіб - більш 4 см.

Характеристика деструктивних змін в легенях у досліджуваних хворих наведена у таблиці 2.4 та 2.5.

Таблиця 2.4

Кількість каверн в легенях у обстежених хворих

Клінічна форма ТБ легень	Кількість хворих		Кількість каверн					
	абс.	%	1		1-3		4 та>	
			абс.	%	абс.	%	абс.	%
Іфільтративний	108	100,0	4	2,7	77	71,3	27	25,0
Дисемінований	19	100,0	-	-	13	68,4	6	31,6
Фіброзно-кавернозний	13	100,0	-	-	8	61,5	5	38,5
Казеозна пневмонія	5	100,0	-	-	5	100,0	-	-
Усього	145	100,0	4	2,7	103	71,1	38	26,2

Таблиця 2.5

Розміри каверн в легенях у обстежених хворих

Клінічна форма ТБ легень	Кількість хворих		Розмір каверн (см)					
	абс.	%	До 2		2-4		>4	
			абс.	%	абс.	%	абс.	%
Іфільтративний	108	100,0	27	25,0	69	63,9	12	11,1
Дисемінований	19	100,0	-	-	13	68,4	6	31,6
Фіброзно-кавернозний	13	100,0	-	-	1	7,7	12	92,3
Казеозна пневмонія	5	100,0	-	-	3	60,0	2	40,0
Усього	145	100,0	27	18,6	86	59,4	32	22,0

У 117 хворих (80,7 %) при спірографії спостерігалися порушення функцій зовнішнього дихання (ФЗД), для оцінки яких використовувалися межі норми та градації відхилення показників зовнішнього дихання (у відсотках до належних величин). Інтерпритацію результатів спірометрії будували на аналізі основних параметрів – життєвої ємності легень (ЖЄЛ) та об'єму форсованого видиху за 1 секунду (ОФВ1).

Серед 145 хворих у 108 хворих (74,5 %) спостерігалися порушення показника ЖЄЛ, серед яких частіше це порушення було помірним - у 56 хворих (51,8 %), у 24 (22,2 %) – значно вираженим, у 1 (0,9 %) хворого – різко вираженим. У 27 (34,6 %) хворих з інфільтративним ТБ легень цей показник був у межах норми.

Характеристика порушень показника ЖЄЛ наведена в таблиці 2.6.

Таблиця 2.6

Порушення показника ЖЄЛ у обстежених хворих

Клінічна форма ТБ легень	Кількість хворих з Порушенням ЖЄЛ (n=108)		Показник ЖЄЛ (%)			
			85	70-84	50-69	<50
Інфільтративний	абс.	78	27	42	9	-
	%	100,0	34,6	53,8	11,5	-
Дисемінований	абс.	12	-	10	2	-
	%	100,0	-	8,3	16,7	-
Фіброзно-кавернозний	абс.	13	-	4	8	1
	%	100,0	-	30,8	61,5	7,7
Казеозна пневмонія	абс.	5	-	-	5	-
	%	100,0	-	-	100,0	-
Усього	абс.	108	27	56	24	1
	%	100,0	25,0	51,8	22,2	0,9

У всіх хворих з порушенням ФЗД спостерігалися порушення показника ОФВ1, які відображенні в таблиці 2.7.

Порушення показника ОФВ1 у більшості хворих було помірним – 74 (63,2 %), у 15 (12,8 %) - значним, у 4 (3,4 %) - різко вираженим, у 14 (12,0 %) цей показник коливався у межах умовної норми, та у 10 (8,5 %) був в межах норми. Різко та значно виражені порушення показників ЖЄЛ та ОФВ1 більш всього спостерігалися у хворих з фіброзно-кавернозним та інфільтративним туберкульозом легень.

Таблиця 2.7

Порушення показника ОФВ1 у обстежених хворих

Клінічна форма ТБ легень	Кількість хворих з порушенням ОФВ1 (n=117)		Показник ОФВ1 (%)				
			85	75-85	55-74	35-54	<35
Інфільтративний	абс.	88	8	12	62	6	-
	%	100,0	9,1	13,6	70,4	6,8	-
Дисемінований	абс.	11	2	2	7	-	-
	%	100,0	18,2	18,2	63,6	-	-
Фіброзно-кавернозний	абс.	13	-	-	-	9	4
	%	100,0	-	-	-	69,2	30,8
Казеозна пневмонія	абс.	5	-	-	5	-	-
	%	100,0	-	-	100	-	-
Усього	абс.	117	10	14	74	15	4
	%	100,0	8,5	12,0	63,2	12,8	3,4

У всіх хворих було встановлено мікобактеріовиділення, яке було підтверджено бактеріоскопічним та культуральним методами з послідуочим визначенням чутливості МБТ до АМБП.

За допомогою бактеріоскопічного методу дослідження мокротиння у 23 (15,9 %) хворих спостерігалось мікобактеріовиділення «1+» (мізерне), у 57 (39,3 %) хворих – «2+» (помірне), та у 52 (35,8 %) – «3+» (масивне). Частіше масивне мікобактеріовиділення спостерігалось при фіброзно-кавернозному ТБ легень (53,8 %), та у всіх пацієнтів (100 %) з казеозною пневмонією. У пацієнтів з іфільтративним ТБ легень масивне мікобактеріовиділення спостерігалось у 35,2 %, у пацієнтів з дисемінованим ТБ легень - лише у 10,5 %. Частота виявлення помірного та масивного мікобактеріовиділення при

інфільтративному ТБ легень склала у сумі 73,2 %, при дисемінованому – 63,1 %, при фіброзно-кавернозному та казеозній пневмонії - у 100 % хворих. У 13 хворих (9,0 %) мікобактеріовиділення методом бактеріоскопії не виявлено, у більшості з них був інфільтративний ТБ легень.

При проведенні культурального дослідження мокроти у всіх хворих був виявлен ріст колоній МБТ: у 17 (11,7 %) спостерігався ріст «1+», «2+» - у 43 (29,6 %) хворих, «3+» - у 85 (58,6 %). У 58 (40,0 %) хворих було діагностовано МРТБ, у 75 (51,7 %) – РРТБ, у 3 (2,0 %) пацієнтів – монорезистентний та у 9 (6,4 %) – полірезистентний туберкульоз легень.

Масивність мікобактеріовиділення методом бактеріоскопії відображено у таблиці 2.8.

Таблиця 2.8

Масивність мікобактеріовиділення, визначеного методом бактеріоскопії у хворих з різними клінічними формами ХРТБ легень

Клінічна форма ТБ легень	Кількість хворих		Мікоактеріовиділення							
	абс.	%	Відсутнє		Мізерне (1+)		Помірне (2+)		Масивне (3+)	
			абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Інфільтративний	108	100,0	11	10,2	18	16,7	41	38,0	38	35,2
Дисемінований	19	100,0	2	10,5	5	26,4	10	52,6	2	10,5
Фіброзно-кавернозний	13	100,0	-		-		6	46,1	7	53,8
Казеозна пневмонія	5	100,0	-		-		-		5	100,0
Усього	145	100,0	13	9,0	23	15,9	57	39,3	52	35,8

Характеристика типів лікарської чутливості МБТ до АМБП при різних клінічних формах ХРТБ легень представлена у рисунку 2.1.

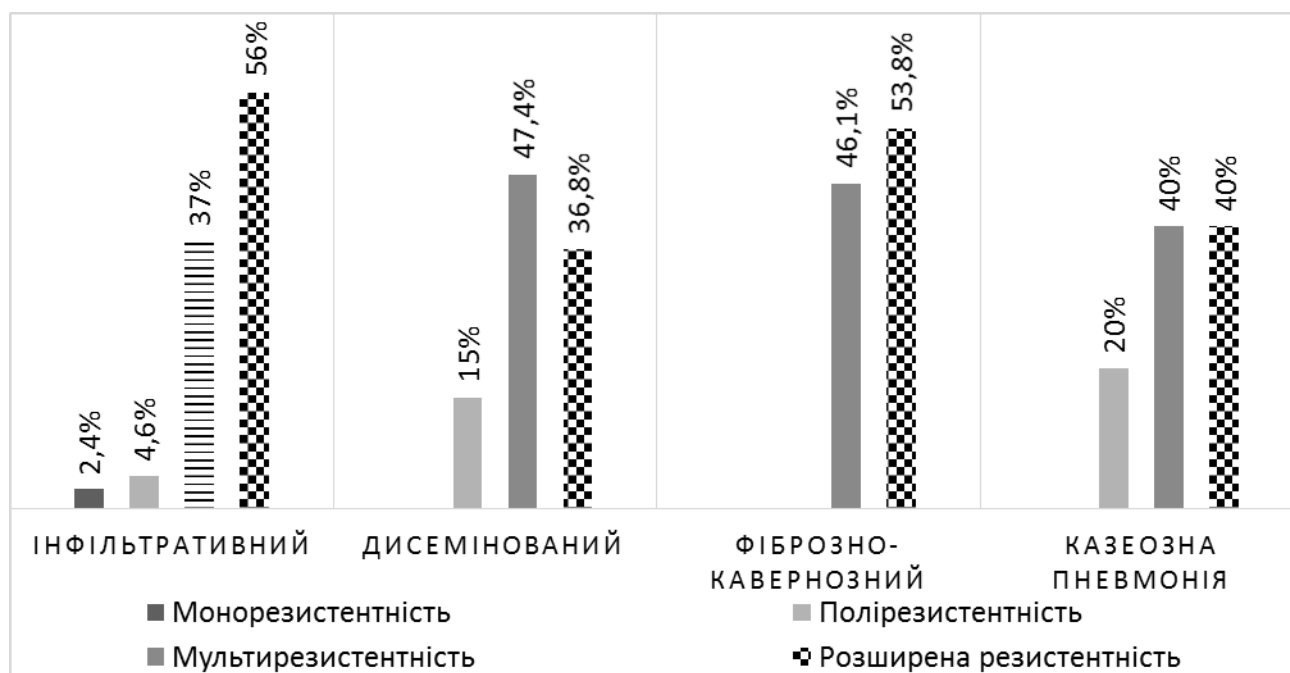


Рис. 2.1. Характеристика типів лікарської чутливості МБТ до АМБП при різних клінічних формах ХРТБ легень.

З наведеної діаграми видно, що при всіх клінічних формах значно переважав ТБ з МЛС, при цьому більш ніж у половини хворих з іфільтративним та фіброзно-кавернозним ТБ легень спостерігалась розширена резистентність МБТ до АМБП.

При вивченні чутливості МБТ до АМБП серед хворих с ХРТБ легень методом абсолютних концентрацій встановлено, що резистентність до Н виявлена у 139 (95,8 %), до R - у 133 (91,7 %) пацієнта, до S – у 142 (98,0 %), до E – у 122 (84,1 %), до K – у 99 (68,5 %), до Et - у 62 (42,7 %), до Ofx – у 88 (60,7 %), до Mfx– у 29 (20,0 %), до Lfx – у 17 (11,7 %), до Cs – у 14 (9,5 %), до Pt – 23 (15,9 %), до Am – у 30 (20,7 %), до Cm – у 43 (29,6 %), до PAS – 38 (26,2 %) хворих (рис. 1).

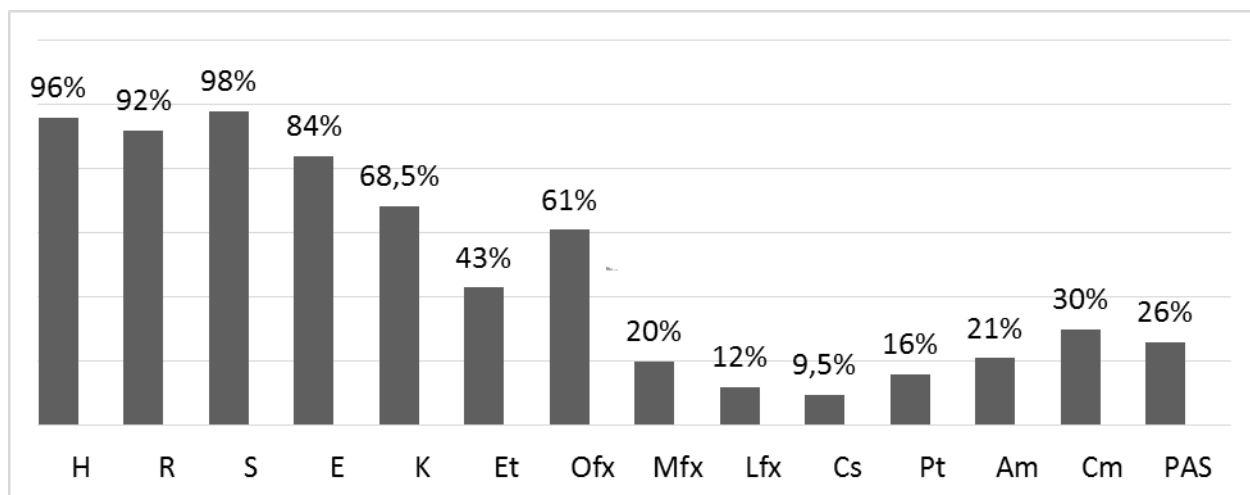


Рис 2.2. Характеристика резистентності МБТ до АМБП у хворих на ХРТБ легень

У 112 (77,2 %) хворих були виявлені зміни у клінічному аналізі крові. У 68 (46,9 %) спостерігалися виражені зміни у гемограмі у вигляді підвищення лейкоцитів з одночасною зміною формули крові за рахунок підвищення вмісту палочкоядерних нейтрофілів, моноцитів, зменшення кількості лімфоцитів та прискорення ШОЕ. Характерні зміни у гемограмі спостерігалися у всіх хворих з казеозною пневмонією, у 81 (75,0 %) хворого з іфільтративним, у 15 (79,0 %) хворих з дисемінованим, та у 12 (92,3 %) хворих з фіброзно-кавернозним ТБ легень. Зміни у гемограмі були більш вираженими при поширених ураженнях легень.

У клінічному аналізі сечі серед усіх хворих лише у 18 (12,4 %) спостерігалися зміни у вигляді помірної протеїнурії (до 0,133 г/л) та збільшення лейкоцитів (більше 5).

За результатами біохімічного аналізу крові у 32 (22,0 %) хворих були виявлені порушення у вигляді підвищення рівня загального білірубіну (більше 17,1 мкмоль/л), аланінамінотрансферази та аспартатамінотрансферази, та помірного підвищення рівня загального білка (вище 83 г/л).

Всі хворі, які увійшли до дослідження, знаходились в умовах стаціонару та отримували стандартне лікування АМБП згідно наказу МОЗ України № 620 за категорією IV (інтенсивна фаза). Всі пацієнти з ХРТБ легень на етапі

стаціонарного лікування отримували не менше 5 АМБП зі строками лікування не менше 8 місяців.

2.2. Методи дослідження

2.2.1. Клініко-рентгенологічні та лабораторні методи дослідження

Всі хворі в умовах стаціонару проходили детальне клініко-рентгенологічне обстеження, лабораторні тести, а також, у разі необхідності, використовувалися інструментальні методи дослідження. Докладно вивчалися скарги, анамнез та фізикальні дані.

Рентгенологічні методи діагностики включали флюорографію, рентгенографію, томографію, при необхідності - комп'ютерну томографію органів грудної порожнини. За необхідністю рентгенограми здійснювали задні та прицільні, а томограми у бокових та задніх проекціях. Рентгенологічні дослідження хворим проводили на початку лікування та кожні 4 місяці ІФ лікування.

Усім хворим проводилось дослідження мокротиння чи промивних вод бронхів методом прямої бактеріоскопії з окраскою по Циль-Нільсену, методом засіву на твердих живильних середовищах Левенштейна-Йенсена і рідких живильних середовищах (ВАСТЕС 960) та молекулярно-генетичне дослідження мокротиння. При виділенні культур робили ТМЧ МБТ до АМБП методом абсолютних концентрацій. За показаннями мокрота досліджувалася на неспецифічну флору та гриби.

Клінічні аналізи крові та сечі, за загальноприйнятими методиками, робили при надходженні хворого в стаціонар та повторювали кожен місяць. Враховувались дані біохімічних методів дослідження (загальний білок та білкові фракції, білірубін, активність ферментів – альдолази, АСТ, АЛТ).

Для оцінки особливостей ТБ процесу при різних генотипах МБТ враховували наступні параметри: стать, вік хворих, скарги хворого (кашель, виділення мокротиння, задишка різного ступеня виразності, біль у грудній

клітці, зниження маси тіла, нічні поти, зниження апетиту) ІС, тип, форму й протяжність ТБ процесу, масивність бактеріовиділення.

З метою виявлення порушень зі сторони серцево-судинної системи та вентиляційної спроможності легень хворим проводили комплекс функціональних досліджень (електрокардіографія, спірометрія).

2.2.2. Молекулярно-генетичні методи дослідження

Матеріалом для молекулярно-генетичного дослідження була культура МБТ, виділена від хворих на ХРТБ легень. Культури МБТ відбирались в бактеріологічних лабораторіях ОТЛ №1 та ОТЛ №3. Мікобактерії вирощували на середовищі Левенштейна-Йенсена. VNTR типування проводили по п'яти локусах ETR A, B, C, D, E за методикою R. Frothingham та W. A. Meeker-O'Connell [151] на базі «Інституту експериментальної і клінічної ветеринарної медицини», м. Харків.

Культури МБТ використовували для виготовлення гомогенної суспензії. Завісь мала концентрацію 2 млрд. бактеріальних тіл в 1 см³ фізіологічного розчину. Розрахунок бактеріальної суспензії проводили, враховуючи, що 1 мг бактеріальної маси містить 100 млн. бактеріальних клітин. На аналітичних вагах зважували стерильні флакони ємністю (100 – 200) см³ з бусами. Бактеріологічною петлею вносили культури у флакони. Шляхом додавання фізіологічного розчину досягали необхідна концентрація зависі. Флакони струшували на шутель – апараті впродовж 30 хв. для отримання однорідної зависі.

Для інактивації гомогенних суспензій культур до кожної з пробірок типу «Eppendorf» вносили по 100 мкл досліджуваного матеріалу, для чого використовували окремі змінні наконечники з аерозольними бар'єром. Матеріал інкубували впродовж 30 хв за температури (100±1) °С з щільно закритими корками, після чого до пробірки з досліджуваним зразком вносили 300 мкл лізуючого буфера з гуанідинтіоціонатом та інкубували впродовж 15 хв за температури (65±1) °С. При використанні вище зазначеного методу

інактивації екстракцію ДНК проводили з етапу додавання сорбенту 25 мкл.

Екстракцію ДНК проводили в пробірках об'ємом 1,5 см³. До кожної пробірки вносили 300 мкл лізуючого розчину та 100 мкл досліджуваного матеріалу з метою руйнування клітинної мембрани. Інкубували впродовж 5 хв. за температурним режимом $(65 \pm 1)^\circ\text{C}$ з щільно закритим корком. Після охолодження до кімнатної температури до кожної пробірки окремим змінним наконечником вносили по 25 мкл сорбенту, старанно перемішаного до однорідної зависі. Після дворазового перемішування на вортексі з інтервалом (2-3) хв. залишали проби за кімнатної температури на 5 хв., після чого осаджували сорбент за допомогою центрифугування за режимом 10 тис. об./хв. впродовж 30 с. Після осадження сорбенту водну фазу видаляли та в подальшому проводили відмивання сорбентного осаду та його підсушування у термостаті за температури $(65 \pm 1)^\circ\text{C}$ з відкритим корком впродовж (5-10) хв.

Після ретельного підсушування сорбентного осаду додавали по 50 мкл буферу для елюювання ДНК та залишали в термостаті за температури $(65 \pm 1)^\circ\text{C}$ з щільно закритим корком впродовж 5 хв., періодично струшуючи на вортексі. Після завершення часу елюції пробірки центрифугували за режимом 12 тис. об./хв. впродовж однієї хвилини. Отримана надосадова рідина містила очищену сумарну ДНК, яку в подальшому використовували для постановки реакції ампліфікації. ДНК можна зберігати впродовж тижня за температури $(2-8)^\circ\text{C}$ та один рік за температури мінус $(18 \pm 2)^\circ\text{C}$.

Нумерували пробірки для проведення ампліфікації об'ємом 0,5 см³ (або 0,2 см³), включаючи пробірки для позитивного та негативного контролю. За 20 - 30 хв. до готування ампліфікаційної суміші виймали комплект реагентів для ампліфікації з морозильника для розмороження вмісту. Пробірки з компонентами реакційної суміші та розчином праймерів обережно струшуюли на вортексі для перемішування.

До кожної підготовленої пробірки окремими наконечниками з аерозольним бар'єром вносили необхідну кількість кожного реагенту, згідно пропису.

Вміст пробірок ретельно перемішували шляхом піпетування. Вносили по 5 мкл досліджуваного зразка ДНК у відповідну пробірку з ампліфікаційною сумішшю. До пробірки для негативного контролю додавали 5 мкл деіонізованої води, а в пробірку з позитивним контрольним зразком - 5 мкл ДНК, отриманої з відповідного штаму мікобактерій туберкульозу чи атипівих мікобактерій. Всі пробірки переносили до програмного термостату (ампліфікатору), де відбувалась ампліфікація за відповідною програмою.

Попередньо для проведення електрофоретичного аналізу готували агарозний гель. Для його виготовлення в колбу ємністю 25 см³ вносили навіску агарози масою 2,5 г та додавали 100,0 см³ робочого розчину буфера ТБЕ (x1). Після повного розчинення агарози додавали 20 мкл броміду етидія (10x). Охолоджений до кімнатної температури отриманий розчин заливали у платформу для виготовлення агарозного гелю з встановленими гребінками необхідними для формування лунок для внесення досліджених зразків. Після застигання агарозного гелю в платформі його переносили та заливали буфером ТБЕ в електрофоретичній камері.

У відповідну лунку агарозного гелю, під шар буферу ТАЕ, вносили по 10,0 мкл ПЛР-суміші з продуктом ампліфікації так, щоб вміст одного кармана (лунок) агарозного гелю не перетікав у інший. Електрофорез проводили за напруженості електричного поля 10 В/см до того моменту, як барвник відійде від старту на 2,0-2,5 см впродовж 20-30 хв.

Інтерпретація результатів. Фрагменти аналізованої ДНК виявляли у вигляді світлих жовтогарячих смужок при проходженні УФ-випромінювання з довжиною хвилі 310 нм.

У негативному контрольному зразку (К-) смужки були відсутні. Поява смужки на рівні позитивного контролю, свідчили про контамінацію (забруднення) компонентів набору.

У позитивних контрольних зразках (К+) повинна була виявлятися одна смужка жовтогарячого кольору відповідного розміру.

Наявність смужки, що відповідає за електрофоретичною рухливістю

позитивному контролю свідчила про присутність мікобактерій відповідного виду. Отримані результати документували фотографуванням гелів з використанням комп'ютерної системи з цифровою відеокамерою (рис. 2.2)

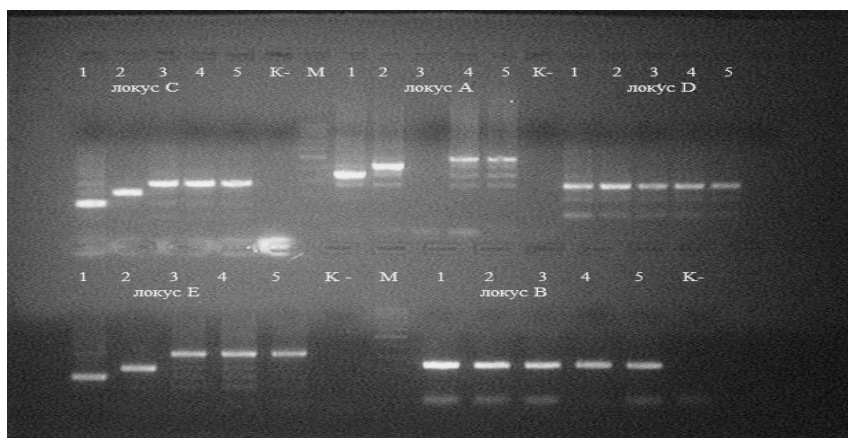


Рис. 2.2 Приклад електрофарєграми. Мектодика VNTR-типування клінічних ізолятів МБТ по ETRA, B, C, D, E локусам

Результат аналізу не вважали достовірним, якщо на доріжці будь-якого негативного контролю виявляли специфічну смужку, яка відповідала смужці позитивного контролю.

VNTR типування проводилося з використанням локусів ETR-A, -B, -C, -D, -E. VNTR-профіль для кожного ізоляту записували у вигляді набору цифр, згідно кількості повтрів у локусах A, B, C, D, E.

Локус ETR-A: довжина одного повтору становить 75 пар нуклеотид (п.н.), температура віджигу 62°C, формула для розрахунку числа повтрів у локусі $A = (n - 195) : 75$. Локус ETR-B: довжина становить 57 п.н., температура віджигу 62°C, формула для розрахунку числа повтрів у локусі $A = (n - 121) : 57$. Локус ETR-C: довжина становить 58 п.н., температура віджигу 62°C, формула для розрахунку числа повтрів у локусі $A = (n - 44) : 58$. Локус ETR-D: довжина становить 77 п.н., температура віджигу 62°C, формула для розрахунку числа повтрів у локусі $A = (n - 79) : 77$. Локус ETR-E: довжина становить 53 п.н., температура віджигу 62°C, формула для розрахунку числа повтрів у локусі $A = (n - 53) : 53$, де n - розмір ПЛР продукту, A - число повтрів.

Після ретельного визначення розміру ПЛР-фрагменту розраховувалося число копій кожного точного тандемного повтору (ETR A, B, C, D, E) по вище опублікованих формулах, і документувався для кожного ізоляту у вигляді набору цифр, згідно кількості повтрів у локусах A, B, C, D, E [45]. Також належність ізолятів до генетичної ланки встановлювали шляхом порівняння ориманних VNTR-профілів ізолятів з наявними у базі даних «MIRU-VNTR plus» (<http://www.miru-vntrplus.org>).

2.2.3. Статистична обробка отриманих даних

Статистична обробка результатів дослідження була здійснена за допомогою ліцензійної версії Excel 2013, та з використанням програми «STATISTICA» (версія 6.0; серійний номер SC14RYMMEC0001). Використовували процедури непараметричного аналізу. Для кількісних даних застосовували метод Краскела й Уолліса (Kruskal-Wallis). Якісні дані аналізували за допомогою таблиць сполученості за критерієм Пірсона ксі-квадрат (χ^2). Використовували двосторонній рівень значимості. Критичний рівень статистичної значимості (p) приймався рівним 0,05.

РОЗДІЛ 3

ХАРАКТЕРИСТИКА ГЕНОТИПІВ МБТ, ВИДІЛЕНИХ ВІД ХВОРИХ НА ХРТБ ЛЕГЕНЬ

3.1. Результати VNTR-типування МБТ, виділених від хворих на ХРТБ легень до початку лікування

За допомогою використаного методу генотипування (VNTR) всі ізоляти МБТ, отримані від хворих, були протиповані по п'яти локусах - ETR A-E. 2 ізоляти мали кілька повторів в одному локусі, що свідчить або про лабораторну контамінацію, або про змішану культуру (виділення двох і більше генотипів від одного хворого). У 3 ізолятів не вдалося встановити VNTR-профіль, тому що вони не мали повторів у якому-небудь локусі по невідомій нам причині. Такі ізоляти не увійшли в дослідження. Загальне число досліджених ізолятів, що відповідають критеріям дослідження склало 145 спостережень (табл. 3.1).

Таблиця 3.1

Кількість повторів по ETRA, B, C, D, E локусах та їх п'ятизначний патерн

№ п/п	ETR локуси					Патерн
	ETR A	ETR B	ETR C	ETR D	ETR E	
1	2	3	4	5	6	7
1.	2	2	2	2	2	22222
2.	4	2	4	2	2	42422
3.	4	2	4	2	5	42425
4.	4	2	4	2	5	42425
5.	4	2	4	2	5	42425
6.	4	2	4	2	5	42425
7.	5	2	4	2	3	52423
8.	4	2	4	2	5	42424

Продовж. табл. 3.1.

1	2	3	4	5	6	7
9.	4	2	4	2	5	42425
10.	4	2	4	2	3	42423
11.	4	2	4	2	5	42425
12.	4	2	3	2	3	42323
13.	4	2	4	2	2	42422
14.	4	2	4	2	7	42427
15.	3	1	4	2	3	31423
16.	4	2	4	2	5	42425
17.	2	2	2	2	2	22222
18.	4	2	4	2	3	42423
19.	4	2	4	2	5	42425
20.	2	2	2	2	2	22222
21.	4	2	4	2	5	42425
22.	4	2	4	2	5	42425
23.	2	2	5	2	5	22525
24.	4	2	4	2	2	42422
25.	4	2	4	2	5	42425
26.	4	2	4	2	3	42423
27.	4	2	4	2	5	42425
28.	3	2	2	2	1	32221
29.	4	2	4	2	5	42425
30.	3	2	3	2	3	32423
31.	4	2	4	2	5	42425
32.	4	2	4	2	3	42423
33.	4	2	4	2	5	42425
34.	2	2	5	2	5	22525
35.	4	2	5	2	2	42522
36.	4	2	4	2	2	42422
37.	3	1	4	2	3	31423
38.	4	2	4	2	5	42425
39.	4	2	5	2	2	42522
40.	4	2	4	2	5	42425
41.	4	2	4	2	2	42422
42.	4	2	4	2	5	42425
43.	4	2	4	2	5	42425
44.	4	2	4	2	5	42425
45.	4	2	4	2	5	42425
46.	4	2	5	2	2	42522
47.	2	2	4	2	3	22423

Продовж. табл. 3.1.

1	2	3	4	5	6	7
48.	2	2	2	2	2	22222
49.	5	2	4	2	3	52423
50.	3	2	3	2	2	32322
51.	3	2	4	2	5	32425
52.	3	2	3	2	3	32323
53.	3	2	3	2	3	32323
54.	4	2	5	2	2	42522
55.	2	2	2	2	2	22222
56.	4	2	4	2	5	42425
57.	4	2	4	2	5	42425
58.	4	2	4	2	5	42425
59.	4	2	4	2	5	42425
60.	4	2	4	2	5	42425
61.	4	2	4	2	2	42422
62.	4	2	4	2	5	42425
63.	4	2	4	2	5	42425
64.	2	2	2	2	2	22222
65.	4	2	4	2	5	42425
66.	4	2	4	2	5	42425
67.	4	2	4	2	5	42425
68.	4	2	4	2	5	42425
69.	4	2	4	2	4	42425
70.	4	2	4	2	5	42425
71.	3	2	4	2	5	22425
72.	2	2	2	2	2	22222
73.	4	2	4	2	5	42425
74.	4	2	4	2	5	42425
75.	4	2	4	2	5	42425
76.	2	2	2	2	2	22222
77.	4	2	4	2	5	42425
78.	5	2	4	2	3	52423
79.	4	2	4	2	5	42425
80.	4	2	4	2	5	42425
81.	4	2	4	2	5	42425
82.	2	2	2	2	2	22222
83.	3	2	4	2	3	32423
84.	4	2	4	2	5	42425

Продовж. табл. 3.1.

1	2	3	4	5	6	7
85.	4	2	4	2	5	42425
86.	2	2	4	2	3	22423
87.	4	2	4	2	5	42425
88.	4	2	4	2	4	42424
89.	4	2	4	2	5	42425
90.	4	2	4	2	5	42425
91.	4	2	4	2	4	42424
92.	4	2	4	2	5	42425
93.	4	2	4	2	5	42425
94.	4	2	4	2	5	42425
95.	4	2	4	2	5	42425
96.	4	2	4	2	5	42425
97.	4	2	4	2	5	42425
98.	4	2	4	2	5	42425
99.	2	2	2	2	2	22222
100.	4	2	4	2	5	42425
101.	1	2	4	2	2	12422
102.	3	2	4	2	3	32423
103.	4	2	4	2	5	42425
104.	4	2	4	2	5	42425
105.	2	2	2	2	2	22222
106.	2	2	4	2	3	22423
107.	4	2	5	2	2	42522
108.	4	2	4	2	5	42425
109.	2	2	2	2	2	22222
110.	4	2	4	2	5	42425
111.	4	2	4	2	5	42425
112.	4	2	4	2	5	42425
113.	4	2	4	2	5	42425
114.	4	2	4	2	5	42425
115.	4	2	4	2	2	42422
116.	4	2	4	2	5	42425
117.	4	2	4	2	2	42422
118.	2	2	2	2	2	22222
119.	3	2	3	2	3	32323
120.	4	2	4	2	2	42422
121.	4	2	4	2	5	42425
122.	4	2	4	2	5	42425

Продовж. табл. 3.1.

1	2	3	4	5	6	7
123.	4	2	4	2	5	42425
124.	4	2	4	2	2	42422
125.	4	2	4	2	5	42425
126.	4	2	4	2	5	42425
127.	5	2	4	2	3	52423
128.	4	2	4	2	4	42424
129.	3	2	3	2	3	32323
130.	3	2	3	2	3	32323
131.	3	1	4	2	3	31423
132.	4	2	4	2	5	42425
133.	3	2	3	2	3	32323
134.	3	1	4	2	3	31423
135.	3	2	3	2	3	32323
136.	4	2	4	2	5	42425
137.	4	2	4	2	5	42425
138.	3	2	3	2	3	32323
139.	3	2	3	2	3	32323
140.	3	1	4	2	3	31423
141.	4	2	4	2	5	42425
142.	3	2	3	2	3	32323
143.	4	2	4	2	5	42425
144.	4	2	4	2	5	42425
145.	4	2	4	2	5	42425

Результати отриманих даних VNTR-профілів, а саме їх абсолютна кількість та питома вага, вказані в таблиці 3.2.

Таблиця 3.2

Абсолютна кількість VNTR патернів та їх питома вага

Патерн	м. Харків	
	Абс.	питома вага (%)
1	2	3
22222	13	9
42422	10	6,9
42425	75	51,7

Продовж. табл. 3.2

1	2	3
52423	5	3,4
42424	4	2,7
32323	10	6,9
42323	1	0,7
42427	1	0,7
31423	5	3,4
42423	4	2,7
22525	1	0,7
32221	1	0,7
32423	3	2,1
42522	5	3,4
22423	3	2,1
32322	1	0,7
32425	1	0,7
22425	1	0,7
12422	1	0,7
ВСЬОГО:	145	100

Із отриманих нами даних видно, що деякі генетичні профілі МБТ зустрічаються неодноразово, що свідчить про утворення кластерів.

З усіх 145 ізолятів утворилося 11 кластерів. Самий великий кластер склали ізоляти із профілем 42425, які відносяться до генотипів сімейства Beijing – 75 (51,7 %) ізолятів, 13 (9,0 %) склав кластер з профілем 22222, який відносяться до генотипів МБТ сімейства LAM, також утворилося 2 кластери по 10 генотипів із профілем 42422 (Beijing), та 32323 – генотип сімейства Haarlem. Інші кластери склалися менш ніж з 10 ізолятів генотипів МБТ.

У результаті числених досліджень з паралельним використанням VNTR по 5 локусах ETRA, B, C, D, E сформована база VNTR-профілів. Згідно цієї бази встановлено, що у нашому дослідженні зустрічалися наступні профілі генотипів МБТ: 42422, 42425, 42427, 42423, 32425 та 22425, які віднесені до генотипів Beijing, та були виявлені у 92 (63,4 %) хворих, профілі 22222, 22423, 42522 та 32221 - відносяться до генотипів МБТ LAM було виявлено у 22 (15,2 %) хворих, профілі 32323, 31423, 42323, 22525 та 32322 - до генотипів

Haarlem, було виявлено у 20 (13,8 %) осіб, 42424 – до генотипу Africanum, було виявлено у 4 (2,8 %) хворих, профілі 52423, 32423 та 12422 віднесені до генотипів індивідуального профілю (ГП) та були виявлені у 7 (4,8 %) хворих на ХРТБ легень. Деякі генотипи ГП було ідентифіковано за допомогою бази даних «MIRU-VNTR plus», а саме генотип 52423 (у 4 пацієнтів), який належить до генотипу МБТ URAL.

На рисунку 3.1 вказано склад генотипів МБТ, які були виділені у хворих на ХРТБ легень до початку лікування.

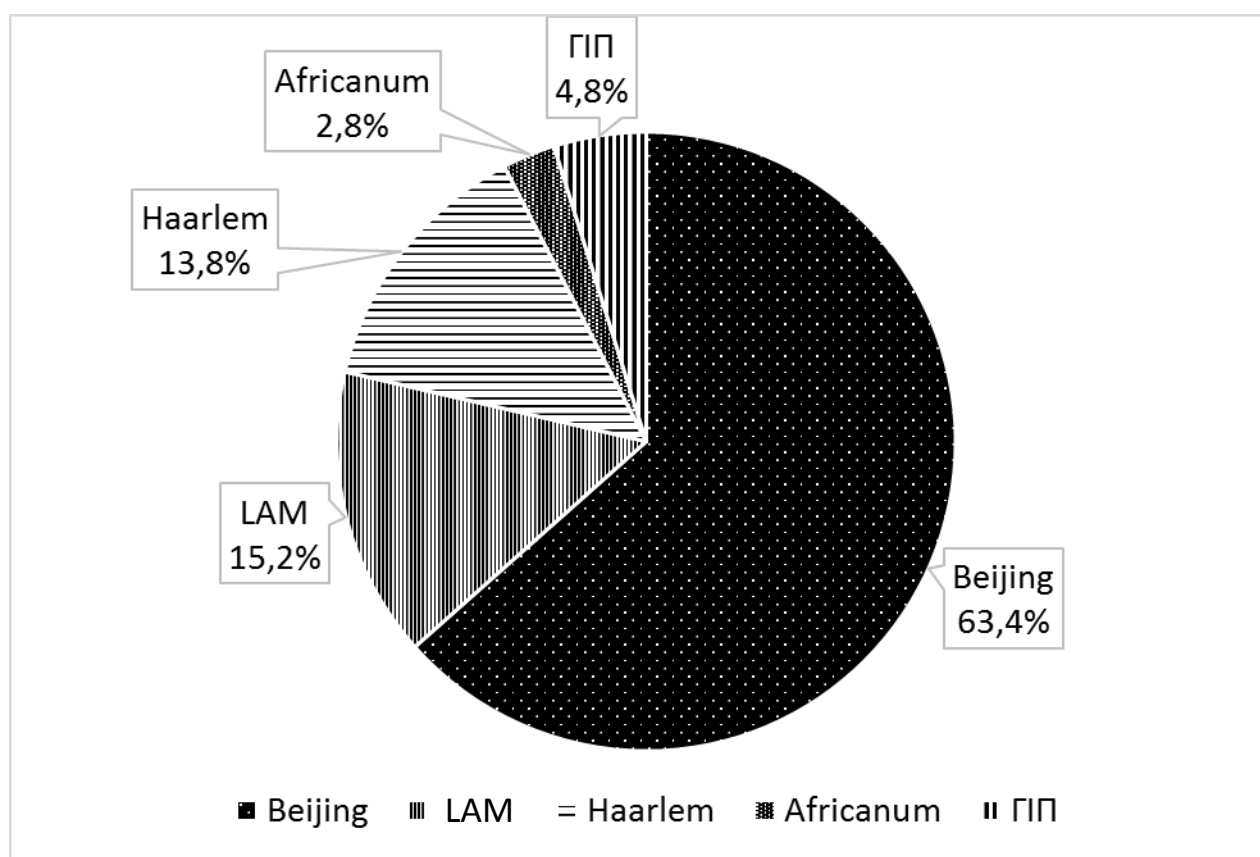


Рис. 3.1. Розподіл генотипів МБТ, які були виділені від хворих ХРТБ легень до початку лікування

За результатами VNTR-типування серед хворих на ХРТБ легень значну кількість складають генотипи сімейства Beijing – 63,4 %, також виявлені генотипи сімейства LAM – 15,2 %, та Haarlem – 13,8 %. Генотипи індивідуальних профілів, та генотипи МБТ Africanum виявлялися дуже рідко -

менш ніж у 10 % хворих.

Була створена генетична карта міста Харкова, на якій вказан розподіл генотипів МБТ по районах міста (рис. 3.2).

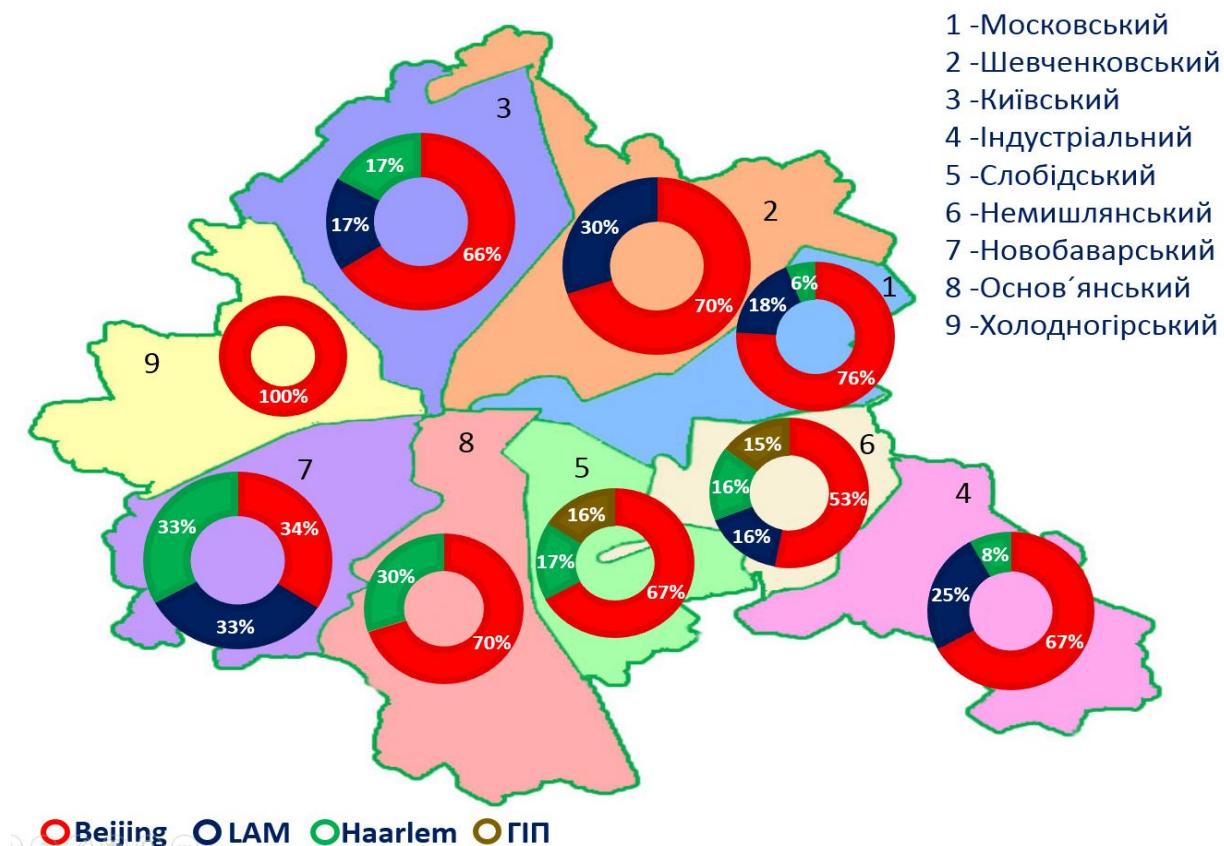


Рис. 3.2. Розподіл генотипів МБТ по районах міста Харкова

Серед 145 обстежених хворих 87 проживали у м. Харкові. З них у 58 (66,7 %) було виявлено генотипи МБТ Beijing, у 11 (12,6 %) – LAM, у 14 (16 %) – Haarlem та у 4 (4,6 %) – ГІП. Більша кількість хворих була виявлена в Московському та Немишлянському районах міста, а саме 17 (19,5 %) та 19 (21,8 %) відповідно.

При статистичній обробці даних достовірних кореляційних зв'язків у розподілі генотипів МБТ в залежності від районів м. Харкова, а також за рівнем захворюваності в цих районах не виявлено ($p > 0,05$) (табл 3.3).

Таблиця 3.3

Розподіл генотипів МБТ по районах міста Харкова

Райони міста	Групи хворих								Усього (n=87)	
	Beijing (n=58)		LAM (n=11)		Haarlem (n=14)		ГП (n=4)			
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Московський	13	22,4	3	27,3	1	7,1	-		17	19,5
Шевченковський	7	12,0	-		3	21,4	-		10	11,5
Київський	4	6,9	1	9,0	1	7,1	-		6	6,9
Індустріальний	8	13,8	3	27,3	1	7,1	-		12	13,8
Слобідський	4	6,9	-		1	7,1	1	25,0	6	6,9
Немишлянський	10	17,2	3	27,3	3	21,4	3	75,0	19	21,8
Новобаварський	1	1,7	1	9,0	1	7,1	-		3	3,4
Осно́в'янський	7	12,0	-		3	21,4	-		10	11,5
Холодногірський	4	6,9	-		-		-		4	4,6

3.2. Результати дослідження змін генотипів МБТ у хворих на ХРТБ легень у процесі ІФ лікування

У процесі ІФ лікування у 105 хворих на ХРТБ легень з первинною резистентністю МБТ до АМБП було відстежено наявність змін генотипів МБТ. Для цього у цих хворих було відібрано по 4 зразки культур МБТ: до початку лікування та з інтервалами 1, 4, 8 місяців (рис. 3.3).



Рис. 3.3. Результати змін генотипів МБТ у хворих на ХРТБ легень в процесі ІФ лікування

За результатами дослідження змін генотипів МБТ у 10 пацієнтів (9,5 %) хворих на ХРТБ легень у процесі ІФ лікування спостерігалась зміна генотипів МБТ.

У 7 (70,0 %) хворих зміна генотипу сталася після першого місяця лікування. Аналіз отриманих результатів показав тенденцію до зміни менш вірулентних генотипів МБТ на більш вірулентні: три випадки ГПІ на LAM і на Beijing, три випадки Haarlem на LAM і на Beijing ($p_{кз} < 0,05$) (рис. 3.4).

При аналізі розміщення пацієнтів по палатах встановлено, що у всіх пацієнтів з генотипами МБТ Haarlem та ГПІ були сусіди з генотипами МБТ Beijing та LAM, тобто встановлений зв'язок між виникненням екзогенної суперінфекції та сусідством пацієнтів в палаті.

Мінливість генотипів МБТ виглядала наступним чином: у 3 хворих на етапі діагностики було виявлено штами МБТ ГПІ з патерном 52423, у двох з яких у процесі ІФ лікування (після місяця лікування) виникла зміна на генотип МБТ LAM, в одному випадку з профілем 42522, в іншому з профілем 22222, та у одного на генотип Beijing з профілем 42425. При подальшому дослідженні, через 4 та 8 місяців ІФ лікування генотипи МБТ у цих пацієнтів не змінювалися.

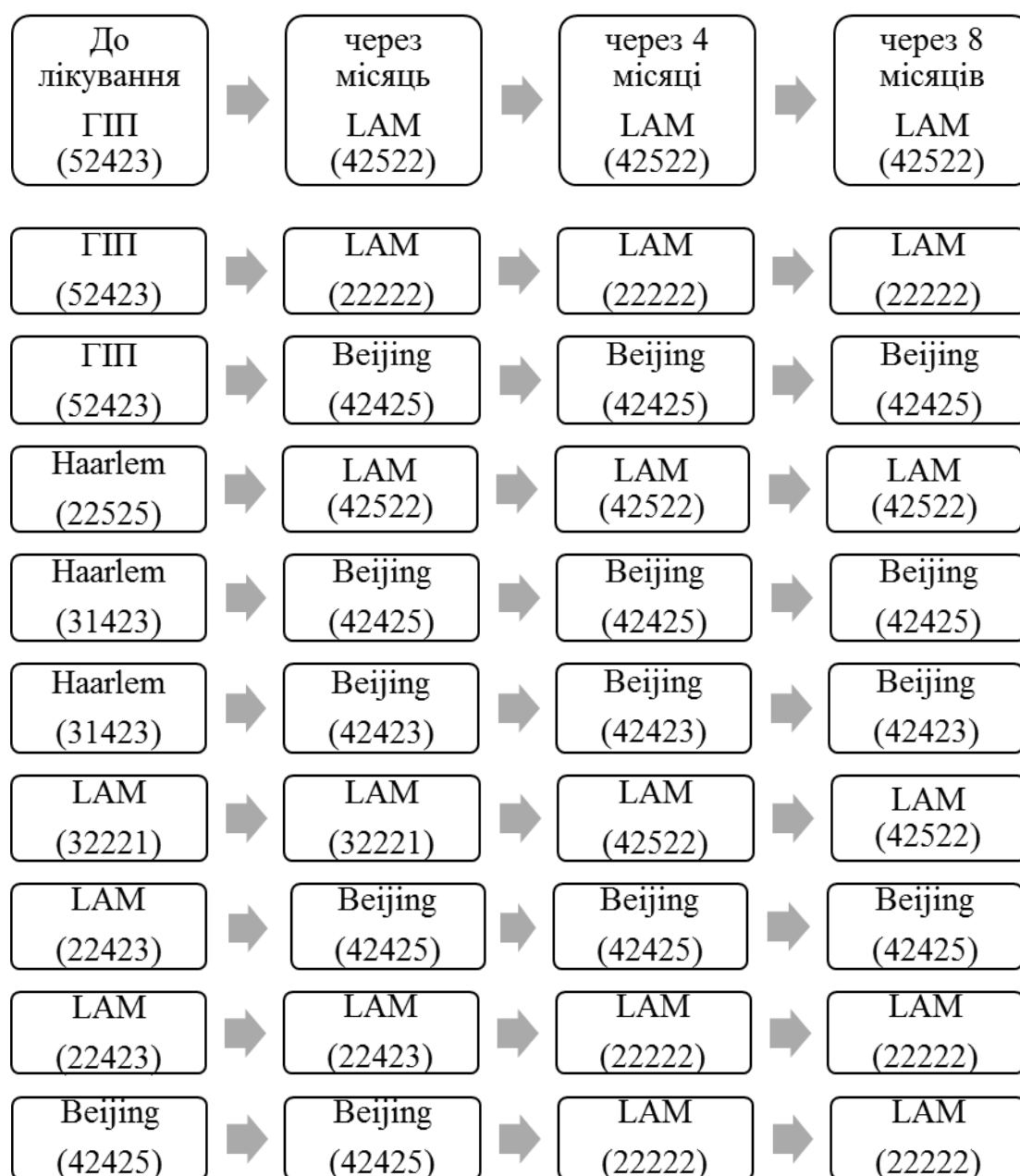


Рис 3.4. Зміни генотипів МБТ у хворих на ХРТБ легень у процесі ІФ лікування

Згідно бази даних «MIRU-VNTR plus» патерн 52423 віднесено до генотипу URAL. Тобто у 3-х з 4-х пацієнтів з цим генотипом МБТ виникла зміна генотипу, що говорить про те, що цей генотип досить нестійкий у внутрішньолікарняних умовах, та має схильність до зміни на інші генотипи.

У інших 3 пацієнтів на етапі діагностики було виявлено генотипи МБТ Haarlem, які на другому етапі дослідження (після 1 місяця лікування) змінилися: у двох випадках на генотипи МБТ Beijing з профілем 42423 та

42425, та в одному випадку на генотип МБТ сімейства LAM з профілем 22222, через 4 та 8 місяців дослідження подальших змін генотипів МБТ у цих хворих не виявилось.

У двох пацієнтів з генотипом МБТ LAM виникла зміна кількості повторів в локусах, що змінило загальний профіль генотипу, але не змінило належність до сімейства МБТ LAM. У одного хворого на початку дослідження було виявлено профіль 32221, який зберігався на другому етапі дослідження (після 1 місяця лікування), але через 4 та 8 місяців дослідження змінився на профіль 42522, який теж належить до генотипу МБТ сімейства LAM. Подібна картина виникла ще у одного хворого з генотипом LAM, а саме, на початку дослідження та через місяць ІФ лікування виявлено профіль 22423, через 4 місяці дослідження виникла зміна профілю генотипу МБТ на 22222, який зберігся і через 8 місяців спостереження.

У одного хворого з генотипом МБТ Beijing (42425), який виявлено на початку та після першого місяця ІФ лікування, виникла зміна генотипу МБТ через 4 місяці лікування на генотип МБТ сімейства LAM (22222), який не змінився через 8 місяців ІФ лікування.

У одного хворого на початку лікування виявлено генотип МБТ LAM із профілем 22423, який через місяць лікування змінився на генотип МБТ Beijing із профілем 42425, який не змінювався до кінця ІФ лікування.

Наявність контамінації штамів МБТ у внутрішньолікарняних умовах мала місце у 9,5 % хворих на ХРТБ легень, це говорить про те, що госпіталізація у відділення протитуберкульозних медичних установ є своєрідним ризиком екзогенної туберкульозної суперінфекції, викликаній збудниками з МЛС.

Матеріали даного розділу відображені у наступних наукових публікаціях:

1. Потейко, П. І. Распределение генетических профилей штаммов *M. Tuberculosis* в г. Харькове / П. І. Потейко, В. С. Крутько, Ляшенко О. О.,

Шевченко О.С., Рогожин А. В., М. Л. Філіпенко, М. А. Димова // Український пульмонологічний журнал. – 2013. - №3 (Додаток). – С. 200-201.

2. Рогожин, А. В. Контамінація М. Tuberculosis у внутрішньо та позалікарняних умовах / А. В. Рогожин // Світ медицини та біології. Науковий, медичний, екологічний журнал. – 2015. – 1 (48). - С. 222-224.

3. Poteiko, P. I. Study of drug-resistant tuberculosis in Kharkiv region, Ukraine / P. Poteiko, A. Gerilovich, O. Konstantynovska, A. Rogozhyn // Journal for Veterinary Medicine, Biotechnology and Biosafety. – 2015. - №3 – P. 30-33.

4. Рогожин А. В. Контамінація М. Tuberculosis у внутрішньо та позалікарняних умовах / А.В. Рогожин // Світ медицини та біології. Науковий, медичний, екологічний журнал. – 2015. – 1 (48). - С. 222-224.

5. Потейко, П. І. Филогенетический анализ М. tuberculosis, выделенных у больных химиорезистентным туберкулезом легких / П. І. Потейко, А. П. Герілович, О. С. Константиновська, А. В. Рогожин // Туберкулез, легеневі хвороби, ВІЛ-інфекція.– 2016. – 1 (24). - С. 27-31.

РОЗДІЛ 4

КЛІНІКО-РЕНТГЕНОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ХРТБ ЛЕГЕНЬ, ВИКЛИКАНОГО РІЗНИМИ ГЕНОТИПАМИ МБТ

За результатами VNTR-типування пацієнти розподілилися на 5 груп: хворих, які виділяли генотипи МБТ сімейства Beijing (63,4 %), LAM (15,2 %), Haarlem (13,8 %), ГПІ (4,8 %) та Africanum (2,8 %). У таблиці 4.1 представлена характеристика хворих кожної групи в залежності від клінічних форм ТБ легень.

Таблиця 4.1

Розподіл клінічних форм ТБ легень в залежності від генотипів МБТ

Штами МБТ	Кількість хворих		Клінічні форми ТБ легень							
	абс.	%	Інфільтра- тивний		Дисемі- нований		Фіброзно- кавернозний		Казеозна пневмонія	
			абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Beijing	92	100,0	62	67,4	15	16,3	11	12,0	4	4,3
LAM	22	100,0	15	68,2	4	18,2	2	9,1	1	4,5
Haarlem	20	100,0	20	100,0	-	-	-	-	-	-
ГПІ	7	100,0	7	100,0	-	-	-	-	-	-
Africanum	4	100,0	4	100,0	-	-	-	-	-	-
Усього	145	100,0	108	74,5	19	13,1	13	9,0	5	3,4

Хворих, у яких було виявлено генотипи МБТ сімейства Beijing, було віднесено до I групи – Beijing. Хворі, у яких було виявлено генотипи МБТ сімейства LAM, Haarlem, Africanum, та ГПІ, склали II групу – не-Beijing. У таблиці 4.2. відображено характеристику клінічних форм туберкульозу легень в залежності від розподілу хворих на 2 групи (Beijing, не-Beijing).

Таблиця 4.2

**Розподіл клінічних форм туберкульозу легень в залежності від
генотипу МБТ (Beijing, не-Beijing)**

Групи	Кількість хворих		Клінічні форми туберкульозу легень							
	абс.	%	Інфільтративний		Дисемінований		Фіброзно-кавернозний		Казеозна пневмонія	
			абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Beijing (I)	92	100,0	62	67,4*	15	16,3	11	12,0	4	4,3
не-Beijing (II)	53	100,0	46	86,8*	4	7,5	2	3,8	1	1,9
Усього	145	100,0	108	74,5	19	13,1	13	9	5	3,4

Примітка. * - відмінність показника між групами ($p < 0,01$).

Як видно з таблиці 4.2., важкі клінічні форми, а саме дисемінована, фіброзно-кавернозна та казеозна пневмонія, достовірно частіше виявлялися у хворих I групи – у 30 хворих з 92 (32,6 %), в той час як у пацієнтів II групи ці форми легеневого ТБ було встановлено у 7 хворих з 53 (13,2 %) ($p < 0,01$).

Таким чином, в усіх групах переважав інфільтративний ТБ легень. Тяжкі клінічні форми ТБ легень, такі як дисемінована, фіброзно-кавернозна та казеозна пневмонія зустрічалися у пацієнтів з генотипами МБТ Beijing та LAM. В свою чергу, у пацієнтів з генотипами МБТ Haarlem та ГПІ не було виявлено важких клінічних форм легеневого ТБ.

Скарги на кашель з мокротинням спостерігалися у 94,6 % хворих I групи, та у 83,0 % хворих II групи ($p < 0,05$). У 15 (16,3 %) хворих з I групи та у 2 (3,8 %) хворих II групи спостерігалось кровохаркання ($p < 0,05$). Задишка різного ступеня тяжкості спостерігалася у всіх хворих (100,0 %) з I групи та у 33 (62,2 %) пацієнтів II групи ($p < 0,001$). Біль у грудній клітці була у 10 (10,9 %) хворих з I групи та у 1 (1,9 %) з II групи ($p < 0,05$) (табл. 4.4).

Таблиця 4.4

Частота виявлення ознак бронхо-легенево-плеврального синдрому у хворих на ХРТБ легень в залежності від генотипу МБТ

Бронхо-легенево-плевральні симптоми	Групи хворих				Усього (n=145)	
	Beijing (n=92)		не-Beijing (n=53)			
	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Кашель з мокротинням	87	94,6	44	83,0	131	90,3
Кровохаркання	15	16,3*	2	3,8*	17	11,7
Задихка	92	100,0**	33	62,2**	125	86,2
Біль у грудній клітці	10	10,9*	1	1,9%*	11	7,6

Примітки:

1. * - відмінність показника між групами ($p < 0,05$);
2. ** - відмінність показника між групами ($p < 0,001$).

Інтоксикаційні симптоми у вигляді субфебрильної температури ($37-38^{\circ}\text{C}$) спостерігалися у 29 (31,5 %) хворих з I групи та у 15 (28,3 %) з II групи ($p > 0,05$). У 10 (10,9 %) хворих з I та у 5 (9,4 %) з II групи спостерігалася підвищення температури тіла вище 38°C ($p > 0,05$). Практично у всіх хворих обох груп спостерігалася слабкість різної виразності: помірна – у 56 (60,9 %) хворих I групи, та у 28 (52,8 %) II групи ($p > 0,05$). Виражена слабкість виявлялася у два рази частіше у хворих I групи – 25 (27,2 %), ніж у хворих II групи – 7 (13,2 %) ($p < 0,05$). Лімфопенія виявлена у 47 (51 %) хворих I групи, та у 21 (39,6 %) хворих II групи ($p > 0,05$). У 68 (46,9 %) із 145 було виявлено прискорення ШОЕ, з них у 30 (32,6 %) хворих I групи, та у 22 (41,5 %) хворих II групи помірне прискорення, а у 12 (13 %) хворих I групи, та у 4 (7,5 %) хворих II групи відзначалося виражене прискорення ШОЕ ($p > 0,05$) (табл. 4.5).

Таблиця 4.5

**Характеристика клініко-лабораторних показників у хворих на ХРТБ
легень в залежності від генотипу МБТ**

Групи хворих	Кількість хворих	Інтоксикаційні симптоми						
		Температура		Слабкість		Лімфоцити	ШОЕ	
	абс.	37-38	>38	помірна	виражена	лімфопенія	Помірне підвищення	Виражене підвищення
	%							
Beijing	92	29	10	56	25	47	30	12
	100,0	31,5	10,9	60,9	27,2*	51	32,6	13,0
не-Beijing	53	15	5	28	7	21	22	4
	100,0	28,3	9,4	52,8	13,2*	39,6	41,5	7,5
Усього	145	44	15	96	32	68	52	16
	100,0	30,3	10,3	66,2	22	46,9	35,7	11

Примітка. * - відмінність показника між групами ($p < 0,05$).

Згідно вищезазначених даних видно, що у пацієнтів з групи Beijing (I) значно частіше спостерігалось кровохаркання та біль у грудній клітці. По виразності інтоксикаційних жалоб у двох групах не було суттєвих відмінностей. Слід зазначити, що серед хворих групи не-Beijing (II), кровохаркання, лімфопенія та виражене підвищення ШОЕ частіше зустрічалось у хворих з генотипами сімейства LAM.

У таблиці 4.6. вказана характеристика розповсюдженості ураження легень в залежності від генотипу МБТ. Розповсюдженість ураження у межах двох часток серед хворих групи Beijing спостерігалось у 23 (25,0 %) випадках, а серед хворих групи не-Beijing - у 26 (49,0 %) випадках ($p < 0,01$). Серед хворих групи Beijing достовірно частіше зустрічалися хворі з ураженням 3-5 часток обох легень – у 69 (75,0 %), ніж серед хворих групи не-Beijing – у 21 (39,6%) ($p < 0,001$).

У хворих групи не-Beijing з генотипом МБТ Haarlem була найменша розповсюдженість ураження легень – у 5 (25,0 %) хворих у межах 2-3 сегментів та у 15 (75,0 %) - у межах 2 часток. Найбільш розповсюджені ураження легень у хворих цієї групи спостерігалися у пацієнтів з генотипами МБТ LAM – у 15 (68,2 %) хворих було уражено 3-5 часток обох легень.

Таблиця 4.6

Частота виявлення розповсюдженості ураження легень у хворих на ХРТБ

Групи хворих	Кількість хворих		Розповсюдженість ураження				
			2-3 сегменти	1-2 частки	3-5 часток	Одно-бічне	Дво-бічне
Beijing	абс.	92	-	23	69	24	68
	%	100,0	-	25,0*	75,0**	26,0	74,0
не-Beijing	абс.	53	6	26	21	16	37
	%	100,0	11,3	49,0*	39,6**	30,2	69,8
Усього	абс.	145	6	49	90	40	105
	%	100,0	4,1	33,8	62,0	27,6	72,4
Генотипи не-Beijing							
LAM	абс.	22	-	6	16	-	22
	%	100,0	-	27,2	72,7	-	100,0
Haarlem	абс.	20	5	15	-	15	5
	%	100,0	25,0	75,0	-	75,0	25,0
ГП	абс.	7	1	4	2	-	7
	%	100,0	14,3	57,1	28,6	-	100,0
Africanum	абс.	4	-	1	3	1	3
	%	100,0	-	25,0	75,0	25,0	75,0
Усього	абс.	53	6	26	21	16	37
	%	100,0	11,3	49,0	39,6	30,2	69,8

Примітки:

1. * - відмінність показника між групами ($p < 0,01$);
2. ** - відмінність показника між групами ($p < 0,001$).

У І групі хворих з 1 каверною не спостерігалось, тоді як, у ІІ групі таких хворих було 4 (7,5 %). Хворі з кількістю каверн 4 та більше достовірно частіше спостерігалися у групі І (33,7 %), тоді як у хворих групи ІІ кількість випадків з 4 та більше кавернами склало 13,2 % ($p<0,01$). У 61 (66,3 %) І групи та у 42 (79,2 %) хворих ІІ групи було виявлено 1-3 каверни ($p>0,05$). У всіх хворих з групи не-Beijing з 1 каверною були виявлені генотипи МБТ сімейства Haarlem, тоді як у 31 (58,5 %) хворого цієї ж групи з кількістю каверн від 1 до 3 та у 6 (11,3 %) з кількістю каверн більше 4 виявлено генотипи МБТ сімейства LAM (табл. 4.7).

Таблиця 4.7

Кількість каверн в легенях у хворих на ХРТБ

Групи хворих	Кількість хворих		Кількість каверн					
	абс.	%	1		1-3		4 та >	
			абс.	%	абс.	%	абс.	%
Beijing	92	100,0	-	-	61	66,3	31	33,7*
не-Beijing	53	100,0	4	7,5	42	79,2	7	13,2*
Усього	145	100,0	4	2,7	103	71,0	38	26,2

Примітка. * - відмінність показника між групами ($p<0,01$).

У таблиці 4.8. наведено характеристику розмірів деструктивних змін у легенях в залежності від генотипу МБТ. У 14 (26,4 %) пацієнтів ІІ групи розміри каверн не сягали 2 см, тоді як у групі Beijing їх було 9 (9,8 %) ($p<0,05$).

Розміри деструкції діаметром 2-4 см виявлено у 57 (62,0 %) хворих І групи та у 31 (58,5 %) хворих ІІ групи ($p>0,05$). Великі каверни розміром більше 4 см достовірно частіше зустрічалися серед хворих І групи – у 28,3 % (у 26 з 92), а у хворих ІІ групи – у 15,1 % (у 8 з 53) ($p<0,05$).

Таблиця 4.8

**Розміри каверн в легенях у обстежених хворих в залежності від
генотипу МБТ**

Групи хворих	Кількість хворих		Розмір каверн (см)					
	абс.	%	До 2		2-4		>4	
			абс.	%	абс.	%	абс.	%
Beijing	92	100,0	9	9,7*	57	62,0	26	28,3*
не-Beijing	53	100,0	14	26,4*	31	58,5	8	15,1*
Усього	145	100,0	23	15,7	86	59,3	32	22,0

Примітка. * - відмінність показника між групами ($p < 0,05$).

Аналізуючи рентгенологічні особливості розповсюдженості ураження, та деструктивних змін в легенях у пацієнтів з ХРТБ легень в залежності від генотипів МБТ, виявлено деякі особливості: у I групі хворих спостерігалось достовірно більше хворих з розповсюдженим ураженням легень, великою кількістю каверн (>4) та їх розміром більше 4 см у діаметрі, тоді як у II групі переважали хворі з меншим об'ємом ураження легеневої паренхіми, хворі з меншою кількістю та розміром каверн.

Оцінка порушень показника ЖЄЛ методом спірографії у обстежених хворих кожної групи наведена у таблиці 4.9.

Таблиця 4.9

Характеристика показника ЖЄЛ у обстежених групах хворих

Групи хворих	Кількість хворих з порушенням ЖЄЛ (n=108)		Показник ЖЄЛ (%)							
	абс.	%	85		70-84		50-69		<50	
			абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Beijing	68	100,0	15	22,0	37	54,4	16	23,5	1	1,5
не-Beijing	40	100,0	12	30,0	19	47,5	8	20,0	-	-
Усього	108	100,0	27	25,0	56	51,8	24	22,2	1	0,9

У хворих групи Beijing з порушенням показника ЖЄЛ частіше зустрічалося помірне відхилення цього показника – у 37 (54,4 %), у 15 хворих (22,0 %) цей показник був у межах норми, у 16 (23,5 %) спостерігалися значно виражені відхилення та у 1 (1,5 %) різко виражені відхилення показника ЖЄЛ. Серед пацієнтів групи не-Beijing у 12 (30,0 %) хворих показник ЖЄЛ був у нормі, у 19 (47,5 %) було помірне відхилення, та у 8 (20,0 %) спостерігалися значні відхилення цього показника.

Серед хворих з порушенням показника ОФВ1, які належали до групи Beijing у 46 (62,1 %) були помірні, у 10 (13,5 %) значні, у 4 (5,4 %) різкі порушення цього показника. У межах умовної норми цей показник коливався у 8 (10,8 %) хворих, та у 6 (8,1 %) цей показник був у межах норми. Серед пацієнтів групи не-Beijing у 28 (65,1%) спостерігалися помірні, у 5 (11,6 %) виражені порушення показника ОФВ1. У межах умовної норми у хворих II групи цей показник був у 6 (13,9 %), та у 4 (9,3 %) ОФВ1 був у межах норми (таблиця 4.10).

Таблиця 4.10

Характеристика показника ОФВ1 у досліджуваних груп хворих

Групи хворих	Кількість хворих з порушенням ОФВ1 (n=117)		Показник ОФВ1 (%)				
			85	75-85	55-74	35-54	<35
Beijing	абс.	74	6	8	46	10	4
	%	100,0	8,1	10,8	62,1	13,5	5,4
не-Beijing	абс.	43	4	6	28	5	-
	%	100,0	9,3	13,9	65,1	11,6	-
Усього	абс.	117	10	14	74	15	4
	%	100,0	8,5	12,0	63,2	12,8	3,4

Таким чином, досліджуючи основні параметри функцій зовнішнього дихання (ЖЄЛ та ОФВ1) у пацієнтів з двох груп, суттєвих відмінностей виявлено не було.

Серед хворих, які виділяли генотипи МБТ сімейства Beijing було 89,2 % хворих з помірним та масивним мікобактеріовиділенням (41 та 41 хворий відповідно), а серед хворих з групи не-Beijing – 51 % (16 та 11 хворих відповідно) ($p<0,001$).

Відсутнє та мізерне мікобактеріовиділення виявлялося у 10 (10,9 %) хворих I групи, та у 26 (49,0 %) хворих II групи ($p<0,001$).

Серед хворих з генотипами МБТ LAM, у 8 було масивне, у 9 хворих помірне, та у 3 мізерне мікобактеріовиділення. У 2 хворих з генотипами LAM мікобактеріовиділення бактеріоскопічним методом не виявлено. У 4 хворих з генотипами Haarlem було помірне, у 11 хворих мізерне мікобактеріовиділення, та у 5 МБТ у мокроті не знайдені. Серед пацієнтів ГП у 1 було масивне та помірне мікобактеріовиділення, у 3 хворих мізерне, та у 2 МБТ в мокроті не виявлено. У 2 пацієнтів зі штамми сімейства Africanum спостерігалось помірне, та у 2 мізерне бактеріовиділення.

У таблиці 4.11. відображено характеристику масивності мікобактеріовиділення, визначеної методом мікроскопії мокротиння серед хворих двох груп та окремо серед хворих з різними генотипами МБТ із групи не-Beijing.

Таблиця 4.11

**Масивність мікобактеріовиділення, визначеного методом мікроскопії,
у хворих на ХРТБ легень**

Групи хворих	Кількість хворих		Мікобактеріовиділення							
	абс.	%	Відсутнє		Мізерне (1+)		Помірне (2+)		Масивне (3+)	
			абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Beijing	92	100,0	4	4,3*	6	6,5 [#]	41	44,6	41	44,6**
не-Beijing	53	100,0	9	17,0*	17	32,1 [#]	16	30,2	11	20,7**
Усього	145	100,0	13	9,0	23	15,9	57	39,3	52	35,8

Продовж. табл. 4.11.

Генотипи не-Beijing										
LAM	22	100,0	2	9,1	3	13,6	9	41,0	8	36,4
Haarlem	20	100,0	5	25,0	11	55,0	4	20,0	-	
ГП	7	100,0	2	28,6	3	42,8	1	14,3	1	14,3
Africanum	4	100,0	-		2	50,0	2	50,0	-	
Усього	53	100,0	9	17,0	19	35,8	16	30,2	9	17,0

Примітки:

1. * - достовірно у порівнянні двох груп ($p < 0,05$);
2. ** - достовірно у порівнянні двох груп ($p < 0,01$);
3. # - достовірно у порівнянні двох груп ($p < 0,001$).

У 80,0 % хворих з генотипами МБТ Haarlem було мізерне або відсутнє мікобактеріовиділення, тоді як серед хворих з генотипами МБТ LAM частіше зустрічалися хворі з масивним мікобактеріовиділенням - 77,4 %. Також у хворих з ГП переважали хворі з мізерним або відсутнім мікобактеріовиділенням - 71,4 %.

Характеристика типів первинної резистентності МБТ до АМБП у хворих двох груп наведено у таблиці 4.12.

Таблиця 4.12

**Характеристика типів первинної резистентності МБТ до АМБП у
обстежених хворих**

Групи хворих	Кількість хворих		Резистентність							
	абс.	%	Моно		Полі		МРТБ		РРТБ	
			абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Beijing	92	100,0	-	-	4	4,3	38	41,3	50	54,3
не-Beijing	53	100,0	3	5,7	5	9,4	20	37,7	25	47,1
Усього	145	100,0	3	2,1	9	6,2	58	40,0	75	51,7
Генотипи не-Beijing										
LAM	22	100,0	-	-	2	9,1	8	36,4	12	54,5
Haarlem	20	100,0	3	15,0	2	10,0	5	25,0	10	50,0
ГП	7	100,0	-	-	1	14,3	4	57,1	2	28,6
Africanum	4	100,0	-		-		3	75,0	1	25,0
Усього	53	100,0	3	5,7	5	9,4	20	37,7	25	47,1

Таким чином, у 50 (54,3 %) хворих з групи Beijing спостерігався РРТБ, у 38 (41,3 %) хворих МРТБ, та у 4 (4,3 %) полірезистентний туберкульоз легень. З групи хворих не-Beijing у 25 (47,1 %) осіб спостерігався РРТБ, у 20 (37,7 %) хворих МРТБ, у 5 (9,4 %) полірезистентний, та у 3 (5,7 %) монорезистентний ТБ легень.

Серед хворих групи не-Beijing лише у пацієнтів з генотипами МБТ Haarlem зустрічалася монорезистентність, а саме у 3 (15,0 %) хворих. Але взагалі у всіх хворих II групи переважав МРТБ та РРТБ: LAM – 91,0 % хворих (8 та 12 відповідно), Haarlem – 75,0 % хворих (5 та 10 відповідно), ГП – 85,7 % хворих (4 та 2 відповідно), Africanum–100,0 % хворих (3 та 1 відповідно).

У таблиці 4.13. відображено характеристику первинної резистентності МБТ різних генотипів до АМБП.

Таблиця 4.13

**Первинна резистентність різних штамів МБТ
до АМБП у обстежених хворих**

Препарат	Групи хворих				Усього (n=145)	
	Beijing (n=92)		не-Beijing (n=53)			
	абс.	%	абс.	%	абс.	%
H	91	99,0	48	90,6	139	95,9
R	91	99,0	42	79,2	133	91,7
S	92	100,0	50	94,3	142	98,0
E	84	91,3	38	71,7	122	84,1
K	63	68,5	36	68,0	99	68,5
Et	36	39,1	26	49,0	62	42,7
Ofx	58	63,0	30	56,6	88	60,7
Mfx	17	18,5	12	22,6	29	20,0
Lfx	11	11,9	6	11,3	17	11,7
Cs	8	8,7	6	11,3	14	9,5
Pt	13	14,1%	10	18,9%	23	15,9
Am	18	19,6	12	22,6	30	20,7
Cm	29	31,5	14	26,4	43	29,6
PAS	16	22,8	17	32,0	38	26,2

Таким чином, серед хворих двох груп переважали особи з МРТБ та РРТБ (95,6 % та 85,0 % відповідно). В свою чергу серед пацієнтів групи не-Beijing, а саме хворих з генотипами МБТ Haarlem, у 25,0 % випадків було виявлено моно- та полірезистентні штами МБТ. Достовірної різниці між резистентністю МБТ до АМБП серед пацієнтів двох груп виявлено не було ($p > 0,05$).

5.1. Клініко-рентгенологічна характеристика ХРТБ легень у пацієнтів зі зміною генотипів МБТ

За результатами дослідження змін генотипів МБТ у процесі ІФ лікування у 10 (9,5 %) хворих на ХРТБ легень спостерігалась зміна генотипів МБТ, про що зазначено вище (дивись рисунок 3.3).

У трьох хворих на етапі діагностики було виявлено МБТ ГПІ з профілем 42425 (URAL), також у трьох хворих було виявлено генотипи МБТ сімейства Haarlem, у двох з яких з профілем 31423, та у одного з профілем 22525. У двох хворих було виявлено генотипи МБТ LAM з профілем 32221 та 22423, та у двох хворих було виявлено генотипи МБТ сімейства Beijing з профілем 42425.

Серед 5 пацієнтів з генотипами МБТ Haarlem у двох з профілем 31423 та у 1 хворого з профілем 22525 сталася зміна генотипу МБТ через 1 місяць ІФ лікування. Також серед 4 пацієнтів з профілем 42425 (ГПІ) у 3 хворих виявлено зміну генотипу через 1 місяць ІФ лікування.

У одного пацієнта з генотипом 32221, який належить до МБТ сімейства LAM та у одного хворого з трьох з генотипом 22423 (LAM) також виникла зміна генотипу МБТ.

Профіль 42425 виявився найчисленнішим (виявлено у 75 хворих), який належить до штаму сімейства Beijing. Серед хворих з цим патерном лише у 2 виникла зміна генотипу МБТ.

Серед пацієнтів зі зміною генотипів МБТ, було 8 чоловіків та 2 жінки. Вік коливався від 25 до 45 років.

За клінічними формами у 9 (90,0 %) хворих виявлявся інфільтративний ТБ легень, та у одного хворого з генотипом МБТ Beijing була виявлена казеозна пневмонія.

У 7 хворих спостерігався ІС І ступеня, тобто хворі пред'являли скарги на помірну пітливість, слабкість, зниження апетиту, субфебрильну температуру. У 2 хворих спостерігався ІС ІІ ступеня, ці хворі мали скарги на фебрильну температуру, виражену пітливість, слабкість, значне зниження апетиту, та у одного хворого спостерігався ІС ІІІ ступеня, цей хворий мав скарги на високу температуру тіла (піретичного типу) до 41°C, профузні поти, різку слабкість, адинамія, порушення сну, у цього хворого було діагностовано казеозну пневмонію.

Бронхо-легеневі симптоми у вигляді кашлю з мокротою, задишку різного ступеня виразності спостерігалися у всіх пацієнтів зі зміною генотипів МБТ.

За даними ФЗД у 6 хворих спостерігалися помірні порушення ЖЄЛ, у двох значно вираженими, та у двох хворих цей показник був у межах норми. Показник ОФВ1 у 8 хворих знаходився у межах помірних порушень, та у 2 хворих спостерігалися значні порушення цього показника.

Практично у всіх хворих зі зміною генотипів МБТ було розповсюджене ураження легень та лише у одного хворого розповсюдженість ураження була у межах 1-2 сегментів.

У більшості хворих, а саме у 9, кількість каверн була у межах від 1 до 3, та у одного хворого з казеозною пневмонією їх було 4. У одного хворого розмір каверни був менше 2 см, у 8 хворих знаходився у межах від 2 до 4 см, та у одного хворого з казеозною пневмонією розмір однієї з каверн був більше 4 см.

У двох пацієнтів за даними ТМЧ (первинна резистентність) була встановлена стійкість МБТ до декількох АМБП (полірезистентність), у 5 був діагностований МРТБ, та у 3 РРТБ.

У одного хворого з полірезистентним ТБ легень спостерігалась стійкість до Н, Е та у одного хворого до Н, S та Е. Серед хворих з МР ТБ у 5 спостерігалась

стійкість до H, R та S, у 4 хворих до H, R, E, у 3 хворих до H, R, K, у 2 до H, R, Lfx, у 2 до H, R, Et, у 2 до H, R, PAS. Серед хворих з РР ТБ у одного хворого з казеозною пневмонією була резистентність до H, R, E, S, Km, Ofx, у другого хворого до H, R, Am, Lfx, PAS та у третього до H, R, E, S, Am, Lfx.

У всіх хворих спостерігалися зміни у гемограмі у вигляді підвищення лейкоцитів з одночасною зміною формули крові за рахунок підвищення вмісту палочкоядерних нейтрофілів, моноцитів, зменшення кількості лімфоцитів та прискорення рівню ШОЕ. У 2 хворих ці зміни були виражені, один з цих хворих був з казеозною пневмонією, також у цього хворого спостерігалися зміни у клінічному аналізі сечі у вигляді протеїнурії (0,178 г/л) та збільшення лейкоцитів (6,0 у полі зору).

За результатами біохімічного аналізу крові рівень загального білірубіну було підвищено (більш 17,1 мкмоль/л) у 3 хворих, у 2 рівень аланінамінотрансферази та аспартатамінотрансферази (більш 40 МО), та у 1 рівень загального білка (вище 83 г/л).

Для відображення клініко-рентгенологічних особливостей ХРТБ легень у хворих зі зміною генотипів МБТ у процесі ІФ лікування, наводимо деякі клінічні спостереження:

Спостереження №1.

Хворий Н. (історія хвороби №87), 32 років, не працює, мешканець Харківської області. Зміни у легенях було виявлено при профілактичному огляді, у зв'язку з чим був направлений до туберкульозного диспансеру для дообстеження. В обласному туберкульозному відділенні у мокроті були знайдені МБТ, у зв'язку з чим хворого госпіталізовано у стаціонар.

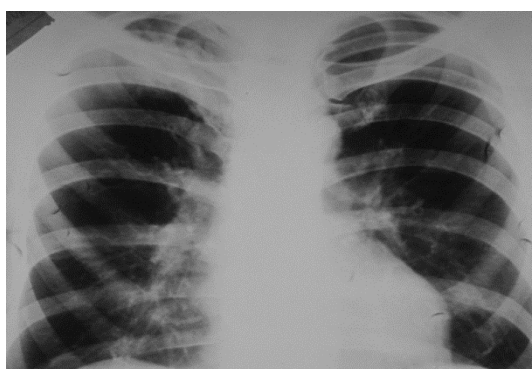
У стаціонар ОТЛ №1 хворий поступив у відносно задовільному стані. Пред'являв скарги на незначний кашель з мокротою, температуру тіла до 38°C, слабкість, швидко втомлюваність та зниження апетиту. Із анамнезу відомо, що хворий зловживає алкоголем, туберкульозний контакт не встановлено.

При аускультії над верхніми відділами правої легені дещо ослаблене дихання, незначні сухі хрипи. У хворого спостерігався І ступень ІС. Тони серця

ритмічні, патологічні шуми не вислуховуються, АТ – 125\85 мм. рт. ст., пульс 76 ударів за хвилину, ритмічний. Живіт м'який, безболісний, печінка на 2 см. виступає з під краю реберної дуги, селезінка не пальпується. Симптом Пастернацького негативний з обох сторін.

На рентгенограмі від 12.05.2014 р. – у верхній частці правої легені S1 та S2 численні інфільтративні та вогнищеві зміни, місцями зливного характеру.

На томограмі від 12.05.2014 р. зріз 6 см. – в верхній частці правої легені легені S1 та S2 інфільтрація з ділянкою просвітлення до 2 см у діаметрі (рис. 4.1).



а)



б)

Рис. 4.1. Рентгенологічне а) та томографічне б) дослідження хворого Н. від 12.05.2014 р.

При дослідженні мокроти методом бактеріоскопії при госпіталізації були знайдені КСП (від 12.05.2014, та від 13.05.2014 р.) За результатами культурального дослідження від 12.05.2014 виявлено ріст колоній «1+». За результатами ТМЧ виявлено резистентність МБТ до Н та Е (від 14.05.2014 р.) За результатами VNTR – типування у хворого виявлено генотип МБТ сімейства Haarlem з профілем 31423.

У гемограмі від 12.05.2014 р. : еритроцити – $5,4 \times 10^{12}/л$, Нб – 135 г/л, ЦП – 0,9, лейкоцити – $8,0 \times 10^9/л$, п/я – 1 %, лімфоцити – 25 %, еозинофіли – 1 %, моноцити – 2 % ШОЕ – 25 мм/г. У клінічному аналізі сечі без особливостей.

При дослідженні функцій зовнішнього дихання від 15.05.2014 р. : ЖЕЛ – 84 %, ОФВ1 – 81 %. Тобто ФЗД у межах умовної норми.

Клінічний діагноз: ХРТБ (20.05.2104) S1 S2 правої легені (інфільтративний) Дестр+ МБТ+ М+ К+Резист І+ (Н, S) Гіст 0 кат. 4 ког. 2 (2014). Хворому було розпочате лікування за 4 категорією (2 R, Z, K, Lfx / 10 R, Z, Lfx).

У клінічному випадку представлено хворого, у якого виявлені штами МБТ сімейства Haarlem. У хворого було діагностовано інфільтративний ТБ, обмежений двома сегментами, та з однією порожниною розпаду діаметром до 2 см. За результатами ТМЧ у пацієнта виявлено полірезистентний ТБ легень. Спостерігався ІС І ступеня та незначні зміни у геморгамі.

Спостереження №2.

Хворий В., 25 років, не працює, історія хвороби № 65, зміни в легенях виявлено при зверненні до лікаря у зв'язку з поганим самопочуттям 27.08.2014 р. У поліклініці в аналізі мокроти були знайдені КСП. Хворого госпіталізовано у протитуберкульозну лікарню (ОТЛ №3).

При надходженні до стаціонару стан тяжкий, виражені симптоми інтоксикації (інтоксикаційний синдром III ступеня), кашель з мокротою, задишка при незначному фізичному навантаженні, висока температура тіла (піретичного типу) до 41°C, профузні поти, різка слабкість, адинамія, порушення сну, втрата апетиту, втрата ваги тіла до 10 кг за 2 місяці.

Із анамнезу відомо, що хворий зловживає алкоголем, та не має постійного місця проживання.

Аускультативно в легенях дихання жорстке, велика кількість сухих та вологих хрипів. ЧДД 22 за хвилину. Тони серця приглушені, ритмічні. АТ 105/65 мм. рт. ст., ЧСС – 92 за хвилину. Живіт м'який, безболісний при пальпації. Печінка збільшена на 3 см. Селезінка не пальпується. Симптом Пастернацького негативний з обох сторін.

При дослідженні мокроти методом бактеріоскопії знайдені КСП (27.08.2014 р. та 29.08.2014 р.). За результатами культурального дослідження від 27.08.2014 р. виявлено ріст колоній 2+. 29.08.2014 р. отримано результат ТМЧ, та виявлена стійкість до H, R, E, S, Km, Ofx. За результатами VNTR-типування виявився генотип МБТ сімейства Beijing з профілем 42425.

На рентгенограмі від 27.08.2014 р., та томограмі від 27.08.2014 р. зріз 9 см. – у верхніх частках легень розповсюджена інфільтрація з множинними порожнинами розпаду, у лівій легені діаметром 4,5 см. (Рис. 4.2).

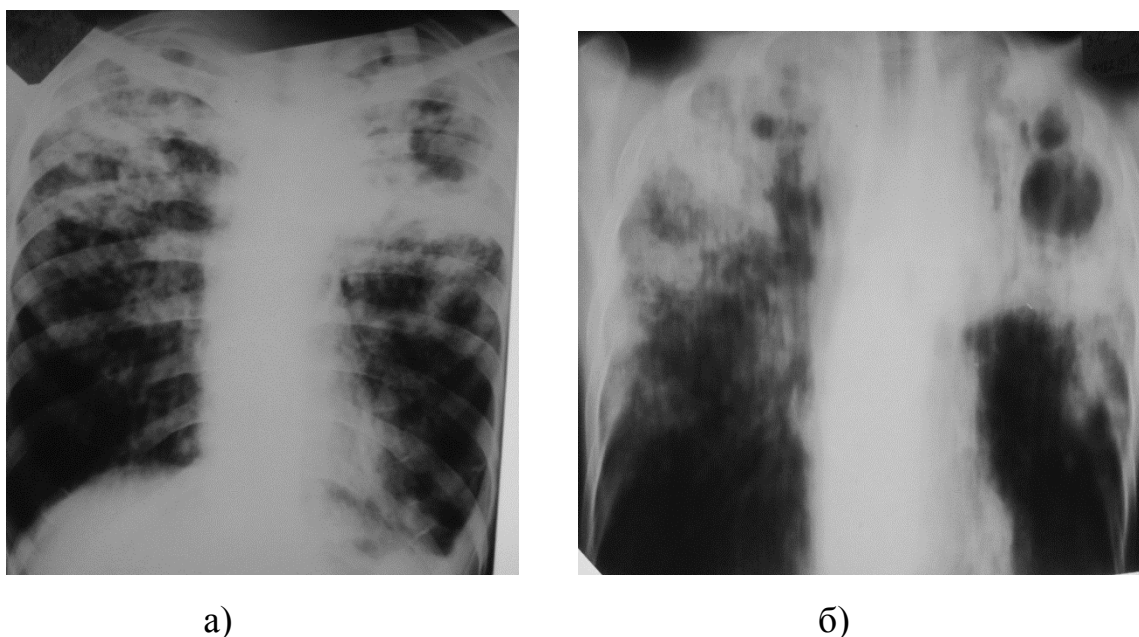


Рис. 4.2. Рентгенологічне а) та томографічне б) дослідження хворого В. від 27.08.2014 р.

У гемограмі від 27.08.2014 р.: еритроцити – $3,7 \times 10^{12}/\text{л}$, Hb – 115 г/л, ЦП – 0,9, лейкоцити – $17,2 \times 10^9/\text{л}$, п/я – 9 %, нейтрофіли – 70, лімфоцити – 12 %, еозинофіли – 1 %, моноцити – 6 % ШОЕ – 45 мм/г. Клінічний аналіз сечі від 27.08.2014 р. протеїнурія (0,178 г/л) та збільшення лейкоцитів (6,0 у полі зору).

Дані біохімічного дослідження крові від 27.08.2014 р.: білірубін – 11 мкмоль/л, АЛАТ – 0,46 мкмоль/л; креатинін – 21 мкмоль/л, лужна фосфатаза – 4 од., цукор крові – 4,5 ммоль/л.

Клінічний діагноз: РРТБ (29.08.2014 р.) верхніх часток легень (казеозна пневмонія) Дестр+ МБТ+ М+ К+ Резист I+ (H, R, E, S) Резист II+ (Km, Ofx) Гіст 0 кат. 4 ког. 3 (2014). Хворому розпочате лікування за 4 категорією (8 Z, Cm, Lfx, Et, Cs, PAS / 12 Z, Lfx, Et, Cs, PAS).

У цьому клінічному випадку у пацієнта з казеозною пневмонією, у якого виявлен генотип МБТ сімейства Beijing, був ІС III ст., виражені зміни у гемограмі, зміни у клінічному аналізі сечі. Розповсюджене ураження в легенях із численними

кавернами, одна з котрих більш 4 см у діаметрі. Культуральним методом встановлене масивне мікобактеріовиділення, за результатами ТМЧ виявлено розширену резистентність МБТ до АМБП.

Таким чином, за результатами VNTR-типування у хворих на ХРТБ легень були виділені наступні генотипи МБТ: Beijing - у 92 хворих (63,4 %), LAM – у 22 (15,2 %), Haarlem – у 20 (13,8 %), ГІП – у 7 (4,8 %) та Africanum - у 4 (2,8 %). Хворих було розділено на дві групи. До першої (Beijing) увійшли хворі із профілями генотипів МБТ 42422 42425, 42427, 42423, які належать до сімейства МБТ Beijing, до II (не- Beijing) групи було включено хворих, у яких ТБ був викликаний МБТ генотипів не-Beijing (LAM, Haarlem, ГІП та Africanum).

Тяжкі клінічні форми легеневого ТБ (дисемінована, фіброзно-кавернозна та казеозна пневмонія) достовірно частіше зустрічалися серед хворих з генотипами сімейства Beijing– у 30 хворих з 92 (32,6 %), в той час як у пацієнтів не-Beijing ці форми легеневого ТБ було встановлено у 7 хворих з 53 (13,2 %) ($p<0,01$). У 32,0 % хворих з генотипами LAM також виявлені тяжкі клінічні форми. В свою чергу у всіх пацієнтів з генотипами Haarlem не було виявлено тяжких клінічних форм легеневого ТБ.

У пацієнтів з групи Beijing значно частіше спостерігалось кровохаркання та біль у грудної клітині. По виразності інтоксикаційних скарг у двох групах не було суттєвих відмінностей. Слід зазначити, що серед хворих групи не-Beijing, кровохаркання, лімфопенія та виражене підвищення ШОЕ частіше зустрічалось у хворих з генотипами сімейства LAM.

Виявлено розбіжності у рентгенологічній характеристиці хворих двох груп. У хворих I групи достовірно частіше зустрічалась велика розповсюдженість ураження у межах 3-5 часток легень, ніж у хворих II групи (75,0 % та 39,6 %, $p<0,001$). Кількість каверн 4 та більше достовірно частіше була у групі I – 33,7 %, тоді як у хворих групи II – 13,2 % ($p<0,01$). Також великі каверни з розміром більше 4 см достовірно частіше зустрічалися серед хворих I групи – 28,3 %, у хворих II групи – 15,1 % ($p<0,05$).

Слід зазначити, що у 25,0 % пацієнтів групи не-Beijing з генотипами МБТ Haarlem була найменша розповсюдженість ураження легень (у межах 2-3 сегментів), та 75,0 % у межах 2 часток. Найбільш розповсюджені ураження легень у хворих цієї групи спостерігалися у пацієнтів з генотипами МБТ LAM – 68,2 % хворих було уражено 3-5 часток легень. Також у всіх хворих з 1 каверною з групи не-Beijing були виявлені генотипи МБТ сімейства Haarlem, тоді як серед 31 (58,5 %) хворого цієї ж групи з кількістю каверн від 1 до 3 та у 6 (11,3 %) з кількістю каверн більше 4 було виявлено генотипи МБТ LAM.

За характеристикою масивності мікобактеріовиділення встановлено, що серед хворих, які групи Beijing було 89,2 % хворих з помірним та масивним мікобактеріовиділенням, а серед хворих з групи не-Beijing – 51,0 % ($p < 0,001$). Відсутнє та мізерне мікобактеріовиділення виявлялося 10,9 % хворих I групи, та у 49,0 % хворих II групи ($p < 0,001$). У 80,0 % хворих з генотипами МБТ Haarlem було мізерне або відсутнє мікобактеріовиділення, тоді як серед хворих з генотипами МБТ LAM частіше (77,4 %) зустрічалися хворі з масивним мікобактеріовиділенням.

Серед хворих двох груп переважали хворі з МРТБ та РРТБ (95,6 % та 85,0 % відповідно). Серед пацієнтів групи не-Beijing, а саме хворих з генотипами МБТ Haarlem у 25,0 % випадках було виявлено моно-, та полірезистентні МБТ. Достовірної різниці між резистентністю МБТ до АМБП серед пацієнтів двох груп виявлено не було.

Роблячи загальний висновок із вищезазначеного, можна констатувати, що хворі на ХРТБ легень, викликаного генотипами МБТ сімейства Beijing та LAM мають більш тяжкий клінічний перебіг захворювання, у більшості є масивними мікобактеріовиділювачами, на відміну від хворих з генотипами МБТ сімейства Haarlem.

Матеріали даного розділу відображені у наступних наукових публікаціях:

1. Потейко П. И. Проблемы химиорезистентного туберкулеза в Харьковской области / П. И. Потейко, А. В. Рогожин, О. С. Константиновська,

О. О. Ляшенко // Журнал Гродненского государственного медицинского университета. – 2015. – Том 50, № 2. - С. 98-100.

2. Рогожин А. В. Контамінація штамів мікобактерій туберкульозу у хворих на туберкульоз легень / А. В. Рогожин, О. С. Константиновська, О. О. Ляшенко // Всеукраїнська науково-практична конференція молодих вчених НМАПО імені П. Л. Шупика. – Київ. - 2016 р. – С. 135.

3. Poteiko P. Genotyping of mycobacterium tuberculosis strains isolated from patients with pulmonary drug resistant tuberculosis in Ukraine / P. Poteiko, O. Konstantynovska, A. Gerilovych, A. Rogozhyn, O. Solodiantin // International Journal of Infectious Diseases 45S (2016) 1–477, - p. 89-90.

4. Poteiko P. Features of different M.tuberculosis strains that were isolated from MDR-TB patients in Kharkiv, Ukraine / P. Poteiko, O. Konstantynovska, A. Rogozhyn, O. Solodiantin // European Respiratory Journal, Sep 2016, 48 (suppl. 60) PA2750.

РОЗДІЛ 5

ОЦІНКА ПЕРЕБІГУ ТА ЕФЕКТИВНОСТІ ЛІКУВАННЯ ХВОРИХ НА ХРТБ ЛЕГЕНЬ В ЗАЛЕЖНОСТІ ВІД ГЕНОТИПІВ МБТ

Всі хворі які ввійшли до дослідження находились в умовах стаціонару та отримували стандартне лікування згідно наказу МОЗ України № 620.

Особливості динаміки клінічного перебігу ХРТБ легень оцінювали за динамікою ІС, закриттям порожнин розпаду легеневої паренхіми та припиненням мікобактеріовиділення. У таблиці 5.1 відображено динаміку деяких клініко-лабораторних показників у обстежених хворих, яка визначалася на 2, 4 та 8 місяці лікування.

За симптомом підвищеної температури тіла, на першому місяці лікування між хворими групи Beijing та не-Beijing достовірної різниці виявлено не було - 35,7 % та 28,3 % відповідно ($p>0,05$). На 4 місяці лікування була встановлена достовірна різниця за цим показником серед пацієнтів двох груп – 22,8 % у пацієнтів I групи та 7,5 % у пацієнтів II групи ($p<0,05$). На 8 місяці лікування кількість пацієнтів з підвищеною температурою продовжувала знижуватися та склала 10,7 % у хворих I групи та 5,7 % у хворих II групи ($p>0,05$).

На 8 місяці ІФ лікування було достовірно більше хворих зі слабкістю у групі Beijing ніж у групі не-Beijing, а саме 63,0 % та 43,4 % хворих відповідно ($p<0,05$).

Динаміка інших показників, а саме зниження лімфоцитів та підвищення ШОЕ, не мала достовірної різниці на протязі спостереження за хворими двох груп, хоча спостерігалася явна тенденція до зниження цих показників.

Серед пацієнтів групи Beijing, спостерігалася більш повільна динаміка нормалізації по всім досліджуваним клініко-лабораторним показникам, проте нормалізація температури тіла у хворих групи Beijing, була значно повільніше ніж у хворих з групи не-Beijing.

Таблиця 5.1

Динаміка клініко-лабораторних показників у обстежених хворих на ХРТБ легень

Симптоми інтоксикації	Групи хворих	Кількість хворих		Місяць лікування			
				До початку лікування	2	4	8
Підвищення температури	Beijing	абс.	92	39	33	21	10
		%	100,0	42,4	35,7	22,8*	10,7
	не-Beijing	абс.	53	20	15	4	3
		%	100,0	37,7	28,3	7,5*	5,7
	Усього	абс.	145	59	48	25	13
		%	100,0	40,7	33,1	18,0	9,6
Лімфопенія	Beijing	абс.	92	47	41	38	29
		%	100,0	51,0	44,6	41,3	31,5
	не-Beijing	абс.	53	21	18	16	11
		%	100,0	39,6	34,0	30,2	20,7
	Усього	абс.	145	68	59	54	40
		%	100,0	46,9	40,7	37,2	27,6
Слабкість	Beijing	абс.	92	78	72	64	58
		%	100,0	84,8	78,3	69,6	63,0*
	не-Beijing	абс.	53	38	33	28	23
		%	100,0	71,7	62,3	52,8	43,4*
	Усього	абс.	145	116	105	92	81
		%	100,0	80,0	72,4	63,4	55,9
ШОЕ	Beijing	абс.	92	42	39	27	18
		%	100,0	45,6	42,4	29,3	19,6
	не-Beijing	абс.	53	26	23	13	9
		%	100,0	49,0	43,4	24,5	17,0
	Усього	абс.	145	68	62	40	27
		%	100,0	46,9	42,7	27,6	18,6

Примітка. * - відмінність показника між групами ($p < 0,05$).

Основним критерієм ступенів виразності ІС був рівень температури тіла: І ступінь - слабо виражена (до 38°C), II ступінь – помірно виражена (до 38,5°C) та III ступінь – виражена (>38,5°C). Серед хворих з групи Beijing було 45 (49,0 %) хворих з ІС I ступеня, 36 (39,1 %) з ІС II ступеня, та 4 (4,3 %) з ІС III ступеня. Серед хворих групи не-Beijing було 29 (54,7 %) пацієнтів з ІС I

ступеня, 16 (30,2 %) з ІС II ступеня, хворих з III ступенем ІС не було. Після двох місяців лікування спостерігалось зниження кількості хворих з ІС, але у двох групах хворих статистичної різниці за цей період не виявлено. На 4 місяці лікування виявлено значно більше хворих з ІС I та II ступеня у групі Beijing у порівнянні з хворими з групи не-Beijing – 38,0 % проти 20,7 % ($p<0,05$) та 27,2 % проти відповідно 7,5 % ($p<0,001$).

У таблиці 5.2 відображено динаміку ІС серед хворих двох груп, яка визначалася на 2, 4 та 8 місяці лікування.

Таблиця 5.2

Динаміка інтоксикаційного синдрому у обстежених хворих

Ступень ІС	Групи хворих	Кількість хворих		Місяць лікування			
				До лікування	2	4	8
I	Beijing	абс.	92	45	39	35	28
		%	100,0	49,0	42,4	38,0*	30,4
	не-Beijing	абс.	53	29	22	11	10
		%	100,0	54,7	41,5	20,7*	18,9
	Усього	абс.	145	74	61	46	38
		%	100,0	51,0	42,1	31,7	26,2
II	Beijing	абс.	92	36	33	25	13
		%	100,0	39,1	35,9	27,2**	14,1
	не-Beijing	абс.	53	16	13	4	-
		%	100,0	30,2	24,5	7,5**	-
	Усього	абс.	145	52	46	29	13
		%	100,0	35,7	31,7	20,0	9,0
III	Beijing	абс.	92	4	2	-	-
		%	100,0	4,3	2,2	-	-
	не-Beijing	абс.	53	-	-	-	-
		%	100,0	-	-	-	-
	Усього	абс.	145	4	2	-	-
		%	100,0	2,7%	1,4%	-	-

Примітки:

1. * - відмінність показника між групами ($p<0,05$);
2. ** - відмінність показника між групами ($p<0,001$).

Таким чином, знайдено достовірну різницю за динамікою ІС, яка була повільніше у хворих з групи Beijing. Слід зазначити, що ІС III ступеня зустрічався лише серед хворих групи Beijing.

Динаміка зниження масивності мікобактеріовиділення визначалася за результатами бактеріоскопічного методу дослідження мокроти на 1-му, 4-му та 8-му місяцях ІФ лікування (таблиця 5.3)

Припинення мікобактеріовиділення за методом бактеріоскопії мокроти спостерігалось вже на 1-му місяці лікування - у 2 (2,2 %) хворих I групи та у 4 (7,5 %) хворих II групи ($p > 0,05$). На 4-му місяці лікування припинення мікобактеріовиділення спостерігалось вже у 8 (8,7 %) хворих I групи та у 12 (22,6 %) хворих II групи ($p < 0,05$). На 8-му місяці лікування також спостерігалася достовірна різниця за цим показником, а саме у 15 (16,3 %) хворих групи Beijing та у 18 (34,0 %) хворих групи не-Beijing ($p < 0,05$).

Кількість хворих з мізерним та помірним мікобактеріовиділенням достовірно відрізнялась 1-му на 4-му, та на 8-му місяці лікування. У хворих з мізерним (1+) мікобактеріовиділенням ця різниця виглядала наступним чином: у 12 (13,0 %) хворих I групи та у 15 (28,3 %) хворих II групи (1-й місяць лікування, $p < 0,05$); у 18 (19,6 %) хворих I групи та у 27 (50,9 %) хворих II групи (4-й місяць лікування, $p < 0,001$); у 22 (23,9 %) хворих I групи та у 31 (58,5 %) хворого II групи (8-й місяць лікування, $p < 0,001$). Серед двох груп хворих з помірним (2+) мікобактеріовиділенням також виявилась достовірна різниця: у 41 (44,6 %) хворого I групи та у 13 (24,5 %) хворих II групи (4-й місяць лікування, $p < 0,001$); у 34 (37,0 %) хворого I групи та 4 (7,5 %) хворих II групи (8-й місяць лікування, $p < 0,001$). Кількість пацієнтів з масивним (3+) мікобактеріовиділенням також достовірно відрізнялась на 4-му місяці ІФ лікування, та склала відповідно 25 (27,1 %) у групі хворих Beijing та 1 (1,9 %) - у групі хворих не-Beijing ($p < 0,001$). Слід зазначити, що на 8-му місяці лікування серед хворих II групи не було пацієнтів з масивним мікобактеріовиділенням, а у I групі таких хворих було 21 (22,8 %).

Таблиця 5.3

**Динаміка припинення або зниження масивності
мікобактеріовиділення у хворих на ХРТБ легень**

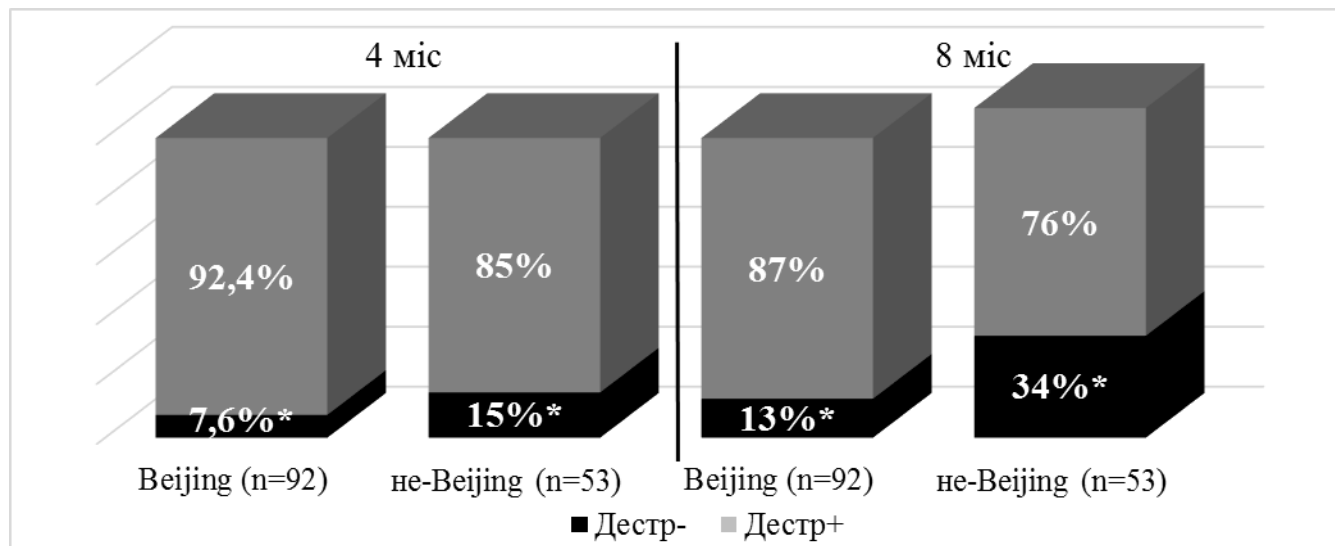
Мікобактеріо- виділення	Групи хворих	Кількість хворих		Місяць лікування			
				До лікування	1	4	8
Відсутнє	Beijing	абс.	92	-	2	5	8
		%	100,0	-	2,2	8,7*	16,3*
	не- Beijing	абс.	53	-	4	12	18
		%	100,0	-	7,5	22,6*	34,0*
	Усього	абс.	145	-	6	17	26
		%	100,0	-	4,1	11,7	17,9
Мізерне	Beijing	абс.	92	9	12	18	22
		%	100,0	9,8	13,0*	19,6**	23,9**
	не- Beijing	абс.	53	8	15	27	31
		%	100,0	15,1	28,3*	50,9**	58,5**
	Усього	абс.	145	17	27	45	53
		%	100,0	11,7	18,6	31,0	36,5
Помірне	Beijing	абс.	92	25	45	41	34
		%	100,0	27,2	44,9	44,6**	37,0**
	не- Beijing	абс.	53	18	22	13	4
		%	100,0	34,0	41,5	24,5**	7,5**
	Усього	абс.	145	43	67	54	38
		%	100,0	29,6	46,2	37,2	26,2
Масивне	Beijing	абс.	92	58	33	25	21
		%	100,0	63,0	35,9	27,1**	22,8
	не- Beijing	абс.	53	27	12	1	-
		%	100,0	50,9	22,6	1,9**	-
	Усього	абс.	145	85	45	29	21
		%	100,0	58,6	31,0	20,0	14,5

Примітки:

1. * - відмінність показника між групами ($p < 0,05$);
2. ** - відмінність показника між групами ($p < 0,001$).

Таким чином, припинення мікобактеріовиділення та динаміка зниження масивності бактеріовиділення на фоні антимікобактеріальної терапії відбувалася значно повільніше у пацієнтів з групи Beijing ніж у пацієнтів з групи не-Beijing.

Ефективність лікування за закриттям каверн та рентгенологічною динамікою оцінювали на 4-му та 8-му місяці лікування, згідно наказу МОЗ України № 620 (Рис. 5.1).



Примітка. * - відмінність показника між групами ($p < 0,01$).

Рис. 5.1 Динаміка загоєння порожнин розпаду легеневої паренхіми у хворих на ХРТБ легень

Загоєння порожнин деструкції у пацієнтів групи Beijing відбувалося значно повільніше, ніж серед пацієнтів групи не-Beijing, особливо наглядно це мало місце на 8-му місяці ІФ лікування, а саме у 13,0 % проти 34,0 % відповідно ($p < 0,01$). На 4-му місяці лікування хворих з позитивною рентгенологічною динамікою серед І групи було 18 (19,6 %), серед II групи 17 (32,0 %) ($p > 0,05$). На 8-му місяці лікування хворих з позитивною рентгенологічною динамікою було достовірно менше серед хворих з групи Beijing, ніж серед хворих з групи не-Beijing – 29 (31,5 %) та 33 (62,3 %) відповідно ($p < 0,001$).

Негативна рентгенологічна динаміка на 4 місяці лікування спостерігалась у 16 (17,4 %) хворих І групи та у 5 (9,4 %) хворих II групи ($p > 0,05$). На 8-му місяці лікування було 23 (25,0 %) хворих з І групи та 8 (15,1 %) хворих II групи, у яких спостерігалась негативна рентгенологічна динаміка ($p > 0,05$).

На 4-му місяці ІФ лікування у 58 (63,0 %) хворих І групи та у 31 (58,5 %) хворих ІІ групи рентгенологічної динаміки не спостерігалось ($p>0,05$). На 8-му місяці ІФ лікування хворих без рентгенологічної динаміки у І групі було 40 (43,5 %), у ІІ групі - 12 (22,6 %) ($p<0,05$).

Таблиця 5.4

Рентгенологічна динаміка у хворих на ХРТБ легень в залежності від генотипу МБТ

Рентгенологічна динаміка	Групи хворих	Кількість хворих		Місяць лікування			
		абс.	%	4		8	
				абс.	%	абс.	%
Позитивна	Beijing	92	100,0	18	19,6%	29	31,5**
	не-Beijing	53	100,0	17	32,0	33	62,3**
	Усього	145	100,0	35	24,1	62	42,7
Негативна	Beijing	92	100,0	16	17,4	23	25,0
	не-Beijing	53	100,0	5	9,4	8	15,1
	Усього	145	100,0	21	14,5	31	21,4
Без динаміки	Beijing	92	100,0	58	63,0	40	43,5*
	не-Beijing	53	100,0	31	58,5	12	22,6*
	Усього	145	100,0	89	61,4	52	35,9

Примітки:

1. * - відмінність показника між групами ($p<0,05$);
2. ** - відмінність показника між групами ($p<0,001$).

Таким чином, загоєння порожнин деструкції у пацієнтів групи Beijing відбувалося значно повільніше, ніж серед пацієнтів групи не-Beijing, особливо наглядно це мало місце на 8-му місяці ІФ лікування, коли спостерігалася достовірна різниця між обстеженими групами хворих (13,0 % проти 34,0 %).

Позитивна рентгенологічна динаміка спостерігалася частіше у хворих ІІ групи, особливо на 8-му місяці лікування, коли різниця між двома групами пацієнтів за цим показником була статистично достовірною. Негативна

рентгенологічна динаміка у хворих групи Beijing на останньому місяці спостереження зустрічалась практично вдвічі частіше ніж у хворих з групи не-Beijing.

Аналіз динаміки ІС у хворих на ХРТБ легень з генотипами МБТ не-Beijing проводився на 2-му, 4-му та 8-му місяці лікування та відображено у таблиці 5.5.

Серед хворих групи не-Beijing з генотипами МБТ LAM інтоксикаційний синдром був більш виразним у порівнянні з хворими цієї групи з іншими генотипами МБТ. В свою чергу хворі, які виділяли генотипи МБТ сімейства Haarlem характеризувалися менш виразним ІС, який мав тенденцію до різкого зниження на протязі спостереження. Також, слід зазначити, що серед хворих групи не-Beijing не виявлено ІС III ступеня за весь період спостереження.

Таблиця 5.5

Динаміка інтоксикаційного синдрому у хворих на ХРТБ легень з генотипами МБТ не-Beijing

Групи хворих	Кількість хворих		Ступень ІС місяць лікування							
			ІС I							
	абс.	%	До початку Лікування		2 місяць		4 місяць		8 місяць	
			абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
LAM	22	100,0	10	45,4	9	41,0	8	36,4	9	41,0
Haarlem	20	100,0	12	60,0	8	40,0	2	10,0	1	5,0
ГП	7	100,0	6	85,7	4	57,1	1	14,3	-	-
Africanum	4	100,0	1	25,0	1	25,0	-	-	-	-
Усього	53	100,0	29	54,7	22	41,5	11	20,7	10	18,9
ІС II										
LAM	22	100,0	8	36,3	10	45,4	4	18,2	-	-
Haarlem	20	100,0	4	20,0	1	5,0	-	-	-	-
ГП	7	100,0	1	14,3	-	-	-	-	-	-
Africanum	4	100,0	3	75,0	2	50,0	-	-	-	-
Усього	53	100,0	16	30,2	13	24,5	4	7,5	-	-

Аналіз ефективності лікування хворих з групи не-Beijing також оцінювали за закриттям порожнин розпаду легеневої паренхіми та припиненням мікобактеріовиділення (таблиця 5.6).

Таблиця 5.6

Динаміка загоєння порожнин розпаду легеневої паренхіми у хворих на ХРТБ легень зі штамми МБТ не-Beijing

Групи хворих	Кількість хворих		Закриття каверн					
	абс.	%	До початку лікування		4 міс		8 міс	
			абс.	%	абс.	%	абс.	%
LAM	22	100,0	-		3	13,6	3	18,2
Haarlem	20	100,0	4	20,0	5	25,0	12	60,0
ГП	7	100,0	-		2	28,6	3	42,8
Africanum	4	100,0	-		-		-	
Усього	53	100,0	4	7,5	8	15,1	18	34,0

Після 8-ми місяців лікування у 18,2 % пацієнтів з генотипами МБТ сімейства LAM та у 60,0 % хворих з генотипами МБТ сімейства Haarlem відбулося закриття каверн. Також слід зазначити, що у 42,8 % хворих з ГП після 8-ми місяців ІФ лікування відбулося закриття каверн.

У 42,8 % хворих з ГП та у 50,0 % хворих з генотипами МБТ Haarlem вдалося досягти припинення мікобактеріовиділення після 8 місяців лікування. В свою чергу лише у 22,7 % хворих з генотипами МБТ LAM відбулося припинення мікобактеріовиділення через 8 місяців ІФ лікування (таблиця 5.7).

Таблиця 5.7

**Динаміка припинення та зниження масивності
мікобактеріовиділення у хворих на ХРТБ легень з генотипами не-Beijing**

Групи хворих	Кількість хворих		Припинення бактеріовиділення					
	абс.	%	1 міс		4 міс		8 міс	
			абс.	%	абс.	%	абс.	%
LAM	22	100,0	1	4,5	4	18,2	5	22,7
Haarlem	20	100,0	2	10,0	5	25,0	10	50,0
ГП	7	100,0	1	14,3	3	42,8	3	42,8
Africanum	4	100,0	-		-		-	
Усього	53	100,0	4	7,5	12	22,6	18	34,0

Таким чином, у хворих на ХРТБ легень групи не-Beijing закриття каверн та припинення мікобактеріовиділення сталося лише у 34,0 % хворих. Слід зазначити, що лише у 18,2 % хворих з генотипами МБТ сімейства LAM після 8-ми місяців лікування відбулося закриття каверн та у 22,7 % припинилося мікобактеріовиділення. В свою чергу, у 60,0 % хворих з генотипами МБТ сімейства Haarlem після 8-ми місяців ІФ лікування відбулося закриття каверн, а у 50,0 % хворих припинилося мікобактеріовиділення.

Це говорить про те, що найнижчий показник ефективності лікування у хворих групи не-Beijing спостерігався у пацієнтів з генотипами МБТ LAM, тоді як, більш ніж у половини хворих з генотипами МБТ Haarlem вдалося досягти позитивної клініко-рентгенологічної динаміки після 8 місяців ІФ лікування.

5.1. Оцінка ефективності лікування хворих на ХРТБ легень зі зміною генотипів МБТ у процесі ІФ лікування.

Аналіз динаміки ІС у хворих на ХРТБ легень зі зміною генотипів МБТ вказані в таблиці 5.8.

Таблиця 5.8

Динаміка ІС у хворих на ХРТБ легень зі зміною генотипів МБТ

Кількість хворих		Ступень ІС місяць лікування							
абс.	%	До початку Лікування		2 місяць		4 місяць		8 місяць	
		абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Без ІС									
10	100,0	-	-	-	-	2	20,0	4	40,0
		ІС І							
10	100,0	7	70,0	4	40,0	4	40,0	3	30,0
ІС ІІ									
10	100,0	2	20,0	5	50,0	4	40,0	3	30,0
ІС ІІІ									
10	100,0	1	10,0	1	10,0	-	-	-	-

Таким чином, до початку лікування серед 10 хворих зі зміною генотипів МБТ, у 7 (70,0 %) спостерігався ІС І ступеня, у 2 (20,0 %) хворих ІС ІІ ступеня, та у одного хворого ІС ІІІ ступеня. На 2 місяці лікування збільшилася кількість хворих з ІС ІІ ступеня з 20,0 % до 50,0 %, це сталося за рахунок 3 хворих, у яких на етапі діагностики було виявлено генотипи МБТ сімейства Haarlem, та вже на другому етапі дослідження мінливості генотипів МБТ (через місяць лікування), встановлена зміна генотипу – у одному випадку на генотип МБТ сімейства LAM, та у двох випадках на генотипи МБТ сімейства Beijing. Після 8-ми місяців лікування у всіх хворих зі зміною генотипів МБТ спостерігалось зниження ІС.

Аналіз ефективності лікування хворих на ХРТБ легень, у яких виникла зміна генотипів МБТ оцінювали за строками закриття каверн та припиненням мікобактеріовиділення таблиця 5.9.

Таблиця 5.9

Ефективність лікування хворих на ХРТБ легень, у яких виникла зміна генотипів МБТ за строками закриття каверн та припиненням мікобактеріовиділення

Закриття каверн									
Кількість хворих		Місяць лікування							
абс.	%	До початку лікування		4		8			
		абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
10	100,0	-		3	30,0	4		40,0	
Припинення мікобактеріовиділення (культуральний метод)									
Кількість хворих		Місяць лікування							
абс.	%	До початку лікування		1		3		5	
		абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
10	100,0	-		-		1	10,0	2	20,0

Згідно наказу МОЗ України № 620 (розділ «моніторинг лікування хворих 4 категорії»), наявність придбаної медикаментозної резистентності серед хворих зі зміною генотипів МБТ оцінювався через 4 місяці ІФ лікування. За даними первинної резистентності у 10 (100,0 %) хворих виявлена резистентність до H, у 8 (80,0 %) до R, у 9 (90,0 %) до S, у 8 (80,0 %) до E, у 4 (40,0 %) до K, у 2 (20,0 %) до Et, у 4 (40,0 %) до Lfx, та у 3 (30,0 %) до PAS.

Придбана медикаментозна резистентність спостерігалася у 3 з 10 (30,0 %) хворих зі зміною генотипів МБТ. У одного хворого з первинною резистентністю до H та E, з генотипом (профіль 31423). Через місяць лікування у цього хворого виникла зміна генотипу МБТ Haarlem на генотип МБТ Beijing (профіль 42425), цей штам зберігся і на 4 місяці спостереження. При черговому дослідженні ТМЧ у цього хворого виявлено резистентність до H, R, S, Lfx та PAS, тобто був діагностований МРТБ.

У другого хворого з первинною резистентністю до H, S, E з генотипом МБТ Haarlem (профіль 31423) через місяць лікування виникла зміна цього генотипу на генотип МБТ Beijing (профіль 42423), та при наступному дослідженні ТМЧ виявлено резистентність до H, R, S, K, Ofx, PAS, тобто був діагностований РРТБ.

У третього хворого з ГП (профіль 52423) та первинною резистентністю до H, R, S через місяць лікування змінився генотип на генотип МБТ LAM (профіль 22222), та разом з цим при дослідженні ТМЧ виникла резистентність ще до Lfx та PAS, тобто встановлено діагноз МРТБ.

Таким чином, у всіх пацієнтів зі зміною генотипів МБТ до початку лікування були деструктивні зміни у легенях та спостерігалось масивне мікобактеріовиділення. Після 8-ми місяців лікування у 6 (60,0 %) хворих відбулося закриття каверн, та лише у 2 (20,0 %) припинилося мікобактеріовиділення за результатами культурального методу дослідження мокротиння. Серед хворих, у яких спостерігалась негативна клініко-рентгенологічна динаміка після 8-ми місяців спостереження, у одного хворого було виявлено генотип МБТ сімейства LAM (профіль 22222) та у 3 генотипи МБТ сімейства Beijing (у 2 хворих - профіль 42425 та у 1 хворого – 42423 відповідно). У 3 (30,0 %) хворих спостерігалася набута резистентність МБТ до АМБП, у двох з яких був встановлений діагноз МРТБ та у одного РРТБ.

Результати ефективності лікування хворих на ХРТБ легень, у яких виникла зміна генотипів МБТ у процесі ІФ лікування відображені на рисунку 5.1.

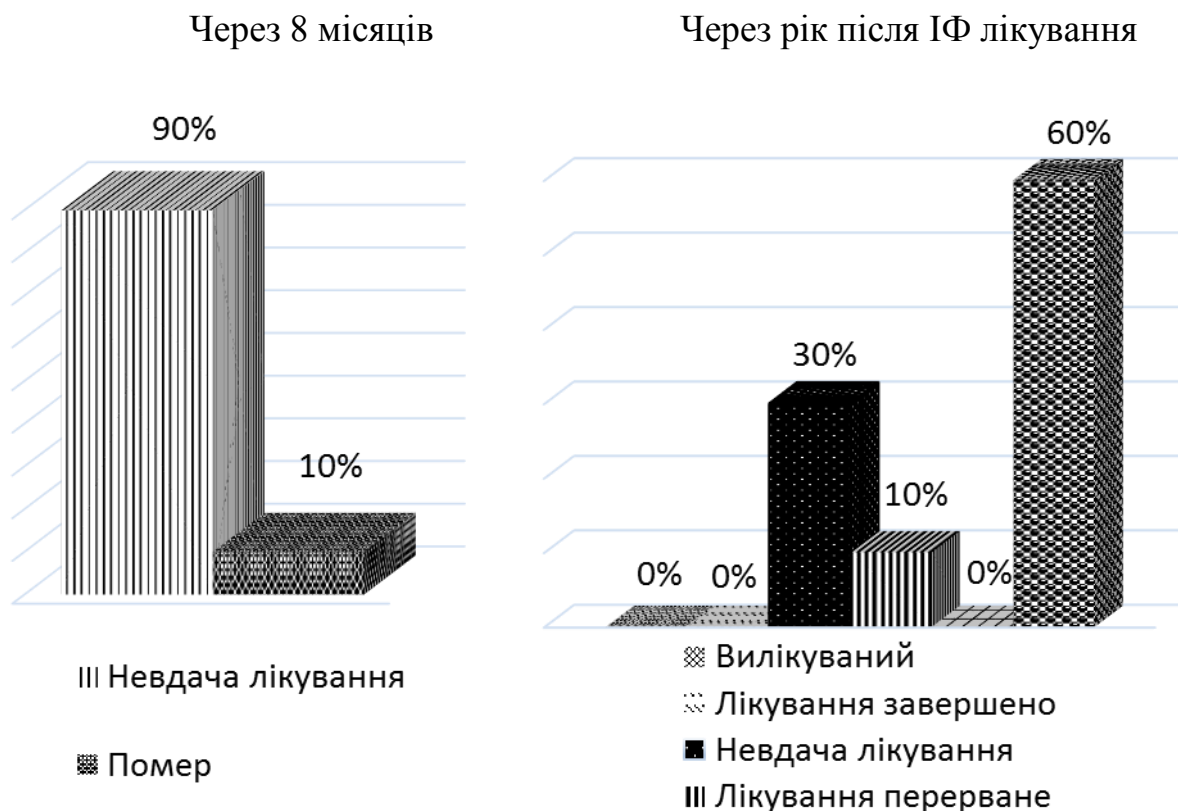


Рис. 5.1 Результати лікування хворих на ХРТБ легень зі зміною генотипів МБТ

Після ІФ лікування у 9 (90,0 %) хворих зі зміною генотипів МБТ було встановлено невдачу лікування та один хворий помер. При аналізі ефективності лікування через рік після ІФ лікування, 6 хворих померло, та 3 продовжували лікування за 4-ю категорією.

У хворих, які відрізнялися змінами генотипів МБТ, спостерігались симптоми інтоксикації у вигляді підвищення температури тіла до фебрильних цифр (до 38,3°C), вираженої пітливості, слабкості, значного зниження апетиту і змін в гемограмі у вигляді лейкоцитозу і прискорення ШОЕ. Також під час зміни генотипів МБТ у 30,0 % хворих змінювалась чутливість МБТ, тобто формувалась набута резистентність МБТ до АМБП. При аналізі розміщення пацієнтів по палатах встановлено, що у всіх пацієнтів з генотипами МБТ Haarlem та ГПІ були сусіди з генотипами МБТ Beijing та LAM, тобто встановлен зв'язок між виникненням екзогенної суперінфекції та сусідством по палаті.

Для відображення клініко-рентгенологічної динаміки у хворих на ХРТБ легень, у яких виникла зміна генотипів МБТ у процесі ІФ лікування наводимо деякі клінічні спостереження:

Спостереження №3. Представлено клініко-рентгенологічну динаміку хворого зі спостереження №2.

У цьому клінічному випадку представлено хворого В. з казеозною пневмонією, у якого знайдені штам МБТ Beijing, мав виражений ІС III ступеня, виражені зміни у гемограмі, зміни у клінічному аналізі сечі. Розповсюджене ураження в легенях із численними кавернами, одна з котрих більш 4 см у діаметрі. За результатами культурального методу дослідження мокроти встановлене масивне мікобактеріовиділення, за результатами ТМЧ виявлено розширену резистентність МБТ до АМБП. Діагноз: РРТБ (29.08.2014 р.) верхніх часток легень (казеозна пневмонія) Дестр+ МБТ+ М+ К+ Резист І+ (Н, R, E, S) РезистІІ+ (Km, Ofx) Гіст 0 кат. 4 ког. 3 (2014). На рентгенограмі, зробленої до лікування, від 27.08.2014 р., та томограмі від 27.08.2014 р. зріз 9 см. – у верхніх частках легень розповсюджена інфільтрація з множинними порожнинами розпаду, у лівій легені діаметром 4,5 см. (рис. 5.2).

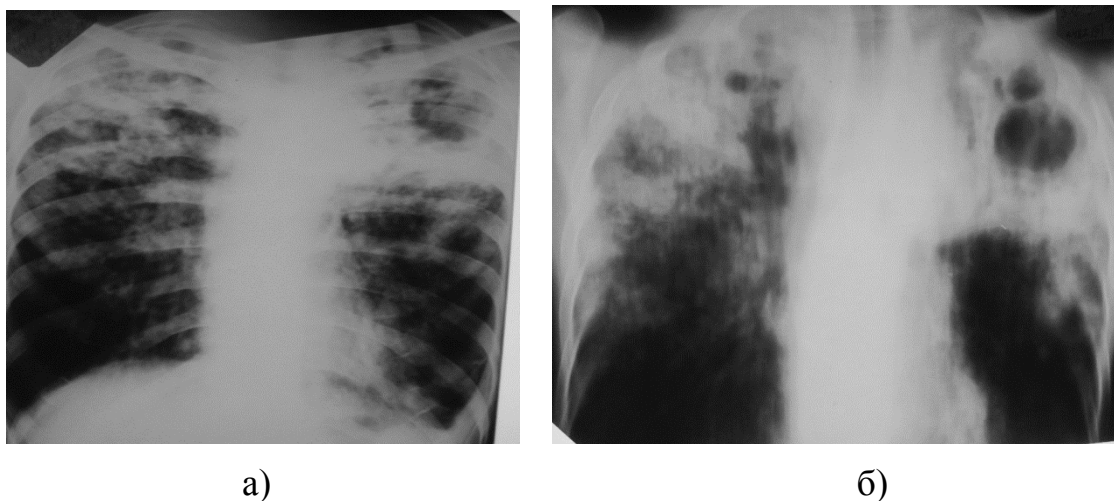


Рис. 5.2. Рентгенологічне а) та томографічне б) дослідження хворого В. від 27.08.2014 р.

Хворому розпочате лікування за 4 категорією (8 Z, Cm, Lfx, Et, Cs, PAS / 12 Z, Lfx, Et, Cs, PAS).

У хворого через 4 місяці дослідження відбулася зміна генотипу МБТ LAM (профіль 22222) на генотип МБТ Beijing (патерн 42425), при цьому спостерігалось зниження ІС на фоні АМБТ. На 8 місяці дослідження цей генотип більше не змінювався.

На фоні проведеної терапії у хворого спостерігалась позитивна клініко-рентгенологічна динаміка. Через 4 місяці на рентгенограмі відмічалось значне розсмоктування інфільтрації в обох легенях, загоєння декількох порожнин деструкції, але найбільша каверна залишилась, її розміри сягали 5 см. (рис. 5.3). Мікобактеріовиділення не припинилось, хоча згідно культурального методу дослідження мокроти, вдалось досягти зниження масивності бактеріовиділення (1+). У гемограмі відмічалось зниження ШОЕ до 20 мм/г, лейкоцитів до $7,6 \times 10^9/\text{л}$. Також відбувалося зменшення ІС, у хворого спостерігався ІС І ступеня.

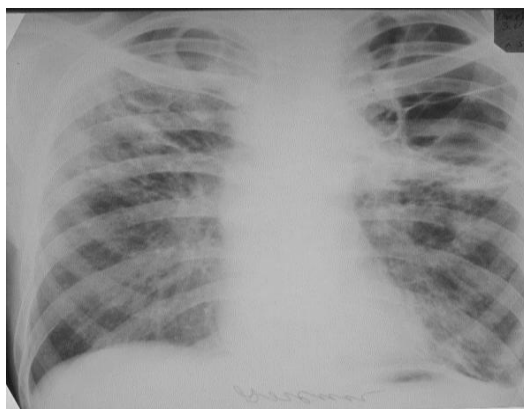


Рис. 5.3. Позитивна рентгенологічна динаміка хворого В. від 01.02.2015 р.

У подальшому, через 8 місяців у хворого продовжувала спостерігатися позитивна клініко-рентгенологічна динаміка. При рентгенологічному дослідженні виражене розсмоктування інфільтрації в обох легенях, у верхній долі правої легені тонкостінна каверна діаметром більше 5 см. (рис. 5.4). На цей період пацієнт вже отримував лікування у фазі продовження, тобто у хворого не спостерігалось мікобактеріовиділення.



Рис. 5.4. Позитивна рентгенологічна динаміка хворого В. від 21.08.2015 р.

Цей клінічний приклад демонструє, що туберкульоз викликаний генотипом МБТ Beijing характеризується розповсюдженим ураженням легень та більш важким перебігом. Тому досягти позитивної динаміки у даному випадку вдалося досягти лише через рік лікування.

Спостереження №4.

Хворий С., 42 роки, сантехнік, історія хвороби № 112. Зміни в легенях виявлено при профілактичному огляді у місцевій поліклініці. Направлено на консультацію в протитуберкульозний диспансер, де хворого дообстежено та виявлено бактеріовиділення методом бактеріоскопії. Хворого направлено до ОТЛ №1.

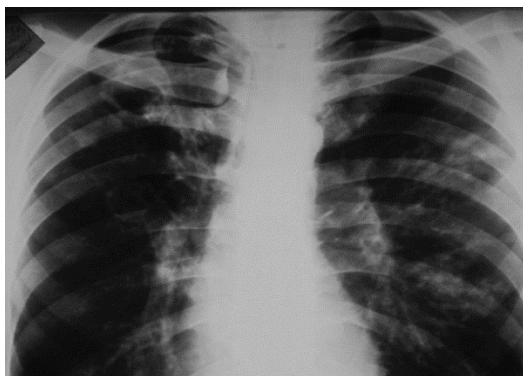
При надходженні до стаціонару стан відносно задовільний, скарги на кашель зі скудним виділенням слизової мокроти, підвищення температури до субфебрильних цифр по вечорах, загальну слабкість. Туберкульозний контакт не встановлено.

Бактеріоскопічне дослідження мокроти від 12 та 13.05.2014 року – МБТ + (2+). Культуральний метод дослідження мокроти від 12.05.2014 – виявлено ріст колоній 2+. Результати ТМЧ від 15.05.2016, виявлено резистентність до H, R, E, S, Km. За даними VNTR у хворого було виявлено генотип МБТ сімейства Haarlem (патерн 31423).

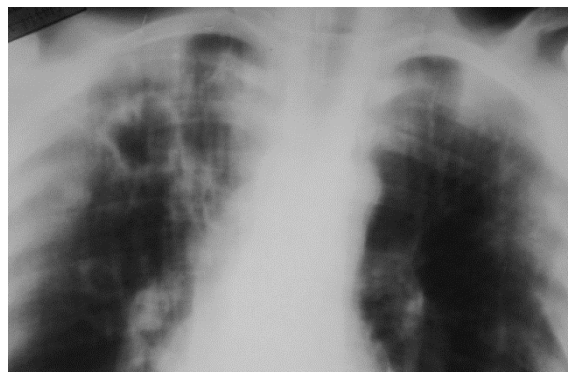
Над легенями, сухі хрипи. АТ – 130/70 мм рт. ст., пульс – 75 уд/хв, ритмічний. Тони серця звучні, ритмічні, патологічних шумів не

вислуховується. Живіт м'який, безболісний, печінка не збільшена. Селезінка не збільшена. У хворого виявлено ІС І ступеня.

На рентгенограмі та томограмі, зріз 8 см. від 12.05.2014 р. – у верхній частці правої легені інфільтративні зміни з ділянкою просвітлення у центрі діаметром 3 см. Зліва в нижній частці моножині вогнищеві тіні, місцями зливного характеру (рис 5.5).



а)



б)

Рис. 5.5. Рентгенологічне а) та томографічне б) дослідження хворого С. від 12.05.2014 р.

В клінічному аналізі крові від 12.05.2014 р.: лейкоцитоз, збільшення ШОЕ до 20 мм/г.

Дані біохімічного дослідження крові від 12.05.2014 р.: білірубін – 13 мкмоль/л, АЛАТ – 0,37 мкмоль/л; креатинін – 23 мкмоль/л, цукор крові – 4,2 ммоль/л. В клінічному дослідженні сечі патологічні зміни не виявлено.

Клінічний діагноз: МРТБ (14.05.2014) легень (інфільтративний) Дестр+МБТ+М+К+Резіст І+ (Н, R, E, S) Резіст ІІ+ (Km) Гіст 0 кат.4.

Хворому розпочате лікування за 4 категорією (8 Z, Cm, Lfx, Et, Cs, PAS / 12 Z, Lfx, Et, Cs, PAS).

У хворого через 1 місяць дослідження відбулася зміна генотипу МБТ Haarlem (патерн 31423) на генотип МБТ Beijing (патерн 42425), який не змінювався до кінця дослідження. Під час зміни генотипу МБТ у хворого спостерігалось підвищення температури тіла до 38,2°, виражена пітливість,

слабкість, значне зниження апетиту, тобто ІС II ступеня. У гемограмі лейкоцитоз ($8,6 \times 10^9/\text{л}$), ШОЕ 27 мм/г.

На фоні проведеної терапії у хворого спостерігалась позитивна клініко-рентгенологічна динаміка. Через 2 місяці лікування спостерігалась позитивна рентгенологічна динаміка у вигляді зменшення порожнини деструкції у верхній частці правої легені, та часткового розсмоктування вогнищевих змін у нижній частці лівої легені (рис. 5.6).

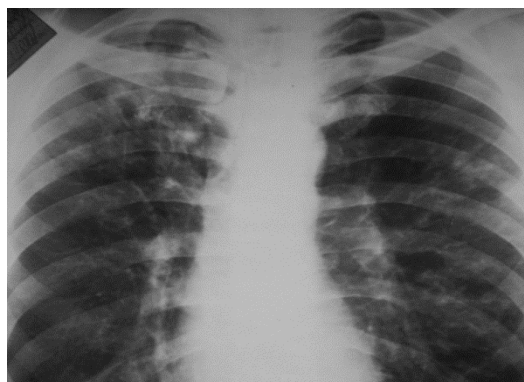


Рис. 5.6. Позитивна рентгенологічна динаміка хворого С. від 10.07.2015 р.

В мокроті бактеріоскопічним та культуральним методом через 4 місяці лікування МБТ не знайдено. У гемограмі відмічалось зниження ШОЕ до 10 мм/г, лейкоцитів до $6,6 \times 10^9/\text{л}$. Також відбувалося зменшення ІС - у хворого спостерігався ІС I ступеня.

Через 8 місяців лікування продовжувала спостерігатись позитивна рентгенологічна динаміка у вигляді зменшення порожнини деструкції у верхній частці правої легені та подальшого зменшення вогнищевих тіней у нижній частці лівої легені (рис. 5.7).

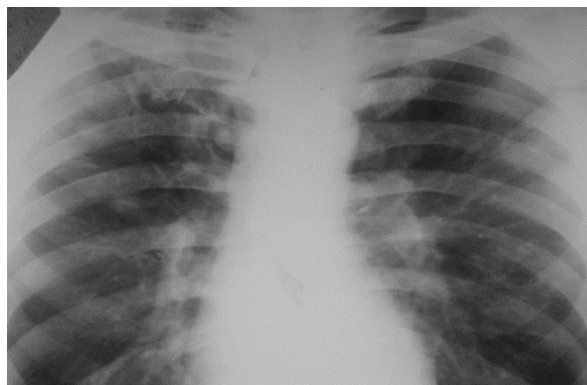
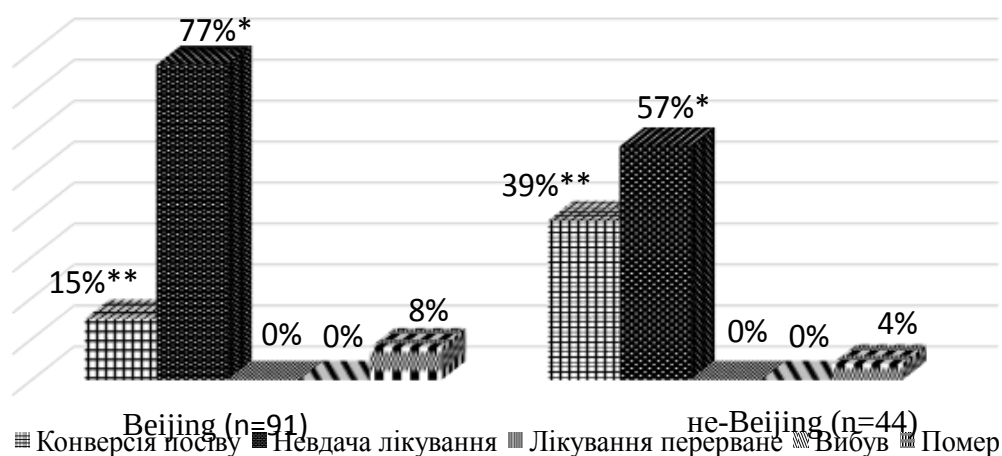


Рис. 5.7. Позитивна рентгенологічна динаміка хворого С. від 13.11.2015 р.

Через 8 місяців лікування хворого переведено на наступний етап лікування.

У представленому клінічному випадку у хворого з генотипом МБТ сімейства Haarlem діагностовано МРТБ легень з розповсюдженими змінами у легенях. До початку лікування відмічалися ІС І ступеня, та незначні зміни у гемограмі. При зміні генотипу МБТ Haarlem на генотип МБТ Beijing відбувалося наростання ІС та зміни у гемограмі. Проте, при подальшому лікуванні, у пацієнта спостерігалась позитивна клініко-рентгенологічна динаміка.

Результати лікування хворих на ХРТБ легень наприкінці спостереження відображені на рисунку 5.8.



Примітки:

1. * - відмінність показника між групами ($p < 0,05$);
2. ** - відмінність показника між групами ($p < 0,001$).

Рисунок 5.8. Результати лікування хворих на ХРТБ легень

Після 8-му місяців лікування у 13 (14,8 %) хворих на ХРТБ легень групи Beijing та у 17 (38,6 %) хворих групи не-Beijing вдалося досягти конверсії посіву ($p < 0,001$). У 71 (77,0 %) хворих групи Beijing та у 25 (56,8 %) хворих групи не-Beijing після ІФ лікування було встановлено невдачу лікування ($p < 0,05$). Кількість померлих хворих групи Beijing у 2 рази переважала

кількість померлих хворих групи не-Beijing, а саме 7,8 % проти 4,5 % ($p>0,05$).

Таким чином, встановлена залежність динаміки клініко-лабораторних показників від генотипу МБТ у хворих на ХРТБ легень у процесі ІФ лікування. Серед пацієнтів групи Beijing конверсія посіву мокротиння спостерігається у 2,5 рази рідше, в 3 рази менше випадків загоєння порожнин деструкції легеневої паренхіми та в 3 рази більше хворих з ІС ніж серед хворих групи не-Beijing. Клінічно випадки повторного зараження ТБ можуть виглядати у вигляді загострень виразності ІС, змін у лабораторних показниках та зміні чутливості МБТ до АМБП.

Матеріали даного розділу відображені у наступних наукових публікаціях:

1. Рогожин А.В. Лечение больных с рецидивом туберкулеза в интенсивную фазу в условиях дневного стационара / А. В. Рогожин, Л.В. Лебедь Л.В., Л.М.Белых // Проблемы непрерывного медицинского образования и науки. – 2012. - №4. – С. 25-27.
2. Потейко П. И. Влияние экологической обстановки на лечение больных с рецидивом туберкулеза в условиях дневного стационара / П. И. Потейко, В. С. Крутько, Н. Н. Попов, А. В. Рогожин, О. С.Константиновская, Л. В. Лебедь, С. В. Корженевский, Т. В. Сокол, А. А. Ляшенко // Гігієна населених місць. Збірник наукових праць. – 2012. - № 59. - С. 373-377
3. Рогожин А. В. Терапия больных с рецидивом туберкулеза в интенсивную фазу в условиях дневного стационара / А. В. Рогожин, О. С. Константиновская, А. А. Ляшенко // Материалы VII Международной научной конференции молодых ученых-медиков. Курск, 1-2 марта. - 2013 г. - №3. - С. 88-92.
4. Рогожин А. В. Современные аспекты фармакотерапии различных типов туберкулеза легких / А. В. Рогожин, О. С. Константиновская, Л. В. Лебедь, И. Н. Кузнецова, Т.А. Синенко // Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів. Матеріали XXXI

Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю 22 травня 2014 року. Харків 2014. - С. 256-260.

5. Ляшенко О. О. Соціальний статус та ефективність лікування хворих на туберкульоз легень / О. О. Ляшенко, О. С. Константиновська, А. В. Рогожин, Л. В. Лебідь // Вісник Вінницького національного медичного університету. – 2015. - №1 (Т. 19). - С. 204-207.

6. Rogozhyn A. V. Features of pulmonary tuberculosis depending on the resistance profile of mycobacterium / A. V. Rogozhyn, O. S. Konstantynovska, O. I. Shevchenko, I. I. Grek // Медицина XXI століття. Наукова-практична конференція молодих вчених з міжнародною участю, англomовна секція, 26 листопада 2015 року. Харків. - 2015. - С. 99-100.

АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ ОТРИМАНИХ ДАНИХ

Туберкульоз на сьогодні є актуальною медико-соціальною проблемою в усьому світі. Згідно світової статистики, щорічно у всьому світі від ТБ захворює 7-10 млн., а вмирає 2 млн. осіб [209]. Все більшого значення набуває проблема стійкості *Mycobacterium tuberculosis* до ПТП, що приводить до зниження ефективності лікування хворих та розповсюдженості ХРТБ [40, 111]. За результатами першого національного епідеміологічного дослідження щодо ХРТБ в Україні рівень МРТБ серед хворих, яким вперше в житті встановлено діагноз ТБ, складає 24,3 %, серед хворих з повторними випадками ТБ – більш ніж у двічі вище - 58,2 %. Питома вага випадків туберкульозу РРТБ становить 13,9 % від загальної кількості хворих на ХРТБ [103].

Важливу роль у погіршенні епідемічної ситуації з ТБ грають зміна сучасних соціально-економічних і екологічних умов, зниження імунологічної реактивності людського організму, а також зміна самого збудника захворювання [96, 209].

На теперішній час з розвитком молекулярної генетики стало можливим проводити генетичне типування МБТ, що дозволяє розрізняти штами збудника та з'ясовувати їх роль у подальшому перебігу захворювання [128, 194].

У цей час доведено, що високий ступень геномного поліморфізму МБТ обумовлено наявністю широкого спектру особливих генетичних елементів - повторюваних послідовностей нуклеотидів - у складі хромосомної ДНК. Це стало основою для розробки методів геномної дактилоскопії (фінгерпринтінгу), що дозволяють диференціювати штами на основі розходжень їх нуклеотидної послідовності [86, 206].

Найбільш поширеним методом штамової ідентифікації МБТ є технологія, яка називається поліморфізмом довжин рестрикційних фрагментів (RLFP), та заснована на фрагментуванні (рестрикції) ДНК МБТ та наступній

гебридизації отриманих фрагментів с визначеними специфічними послідовностями на ДНК її повторюваного елемента IS6110 [153]. Штами мікобактерій туберкульозу розрізняються по кількості та розмірам рестрикційних фрагментів. Отриманий після гібридизації на нітроцелюлозній мембрані специфічний малюнок смуг характеризує ДНК конкретного штаму МБТ. Ця технологія є дуже складною та обмеженою. Це пов'язано з необхідністю виділення чистих культур МБТ для отримання великих кількостей ДНК, тривалістю дослідження, також дорожнечою цього методу. У зв'язку з цим RLFP-аналіз є малодоступним для практичної медицини [155].

Базовим методом генетичного картування є метод варіабельного числа тандемних повторів (VNTR), знайдених в значної кількості локусів геному МБТ [164]. Цей метод дозволяє достатньо ефективно диференціювати різні види та штами мікобактерій і є менш трудомістким ніж інші. VNTR-метод широко використовується у всьому світі для рішення епідеміологічних задач у фтизіатричній службі [106].

Раніше вважалося, що організм, який інфікований МБТ, відносно стійкий до зараження новими штамми МБТ, а головною причиною захворювання пацієнта є ендемічна реактивація. Відомо, що в країнах з високим рівнем захворюваності основною причиною ТБ є екзогенна реінфекція [154]. Дотепер залишається відкритим питання: чи витісняє у випадку захворювання вторинний штам свого попередника повністю або ж можливе одночасне співіснування в організмі хворого на ТБ штамів МБТ з різними генотипами. Відповідь на це питання може сприяти кращому розумінню механізмів взаємодії мікобактерій з імунною системою хворого, а також еволюційної мінливості штамів МБТ у межах одного організму. Для клініки це може мати значення при визначенні лікарської стійкості ізолятів МБТ (у випадку коінфекції дані про чутливість можуть бути неоднорідними) [199].

Враховуючи недостатність даних про генетичну структуру МБТ в Україні, відсутність чітких уявлень о зміні штамів МБТ в умовах

стаціонарного лікування та особливостей клініко-рентгенологічної динаміки ХРТБ легень, проведення цього дослідження є актуальним.

Метою нашої роботи була розробка методики прогнозування тяжкості перебігу та ефективності терапії хіміорезистентного туберкульозу легень на етапі інтенсивної фази лікування в залежності від генотипів МБТ та їх змін.

Для досягнення поставленої мети нами було обстежено 145 хворих на ХРТБ легень з первинною резистентністю МБТ до АМБП, підтвердженою тестом медикаментозної чутливості, які проходили ІФ лікування в ОТЛ№ 1 та ОТЛ№ 3 м. Харкова. Всі хворі мали розповсюджений характер ураження легень та деструкцію легеневої паренхіми, у більшості хворих було уражено обидві легені. Вік пацієнтів коливався від 25 до 60 років.

Критеріями виключення з дослідження були: вік пацієнтів молодше 25 та старше 60 років; відсутність МБТ у харкотинні (за мазком та (або) засівом на живильні середовища); відсутність деструкції легеневої паренхіми; обмежені ураження легеневої паренхіми (до 2 сегментів); супутня патологія у стадії загострення: хронічні неспецифічні захворювання легень (хронічні обструктивні захворювання легень, бронхіальна астма), цукровий діабет, онкологічні захворювання, вірусні гепатити, виразкова хвороба шлунку, професійні захворювання легень, хворі з ВІЛ-інфекцією; хворі, які приймають глюкокортикостероїди та цитостатики; вживання алкоголю чи наркотиків під час проведення дослідження.

Діагноз ХРТБ легень встановлювався на підставі даних клініко-лабораторного обстеження відповідно наказу МОЗ України № 620. Усі хворі дали інформовану згоду на обстеження та лікування згідно з існуючими інструкціями.

Усім хворим проводилось дослідження мокротиння методом прямої бактеріоскопії з окраскою по Циль-Нільсену, методом засіву на твердих живильних середовищах Левенштейна-Йенсена та рідких живильних середовищах (ВАСТЕС 960) та молекулярно-генетичні методи дослідження мокротиння. При виділені культур робили тести медикаментозної чутливості

МБТ до АМБП методом абсолютних концентрацій. За показаннями мокрота досліджувалася на неспецифічну флору та гриби.

Генетичні дослідження проводили за допомогою методу VNTR-типуювання по п'яти локусах ETR A-E за методикою R. Frothingham та W. A. Meeker-O'Connell (Frothingham et al., 1998) на базі лабораторії молекулярної діагностики «Інституту експериментальної і клінічної ветеринарної медицини», м. Харків.

Для визначення генотипів МБТ, які були отримані із мокротиння хворих методом культивування (посіву) відбиралися у пробірки із фізіологічним розчином. Далі проводилася інактивація збудника за допомогою впливу температури та лізуючого розчину з гуанідина тіоціонатом, що дозволяло досягнути біобезпеку та провести достовірні ПЛР-дослідження.

Кількість копій тандемного повтору розраховували в залежності від розміру ПЛР фрагменту і фланкуючої області. Генотипи відображали як набір з 5 одиниць, де кожна цифра п'ятизначного номеру відповідає числу копій тандемного повтору.

Зі 145 ізолятів утворилося 11 кластерів. Самий великий кластер склали ізоляти із профілем 42425, які відносяться до генотипів сімейства Beijing – 75 (51,7 %) ізолятів, 13 (9,0 %) склав кластер з профілем 22222, який відносяться до генотипів МБТ сімейства LAM, також утворилося 2 кластери по 10 генотипів із профілем 42422 (Beijing), та 32323 – генотип сімейства Haarlem. Інші кластери склалися менш ніж з 10 ізолятів генотипів МБТ.

У результаті числених досліджень з паралельним використанням VNTR по 5 локусах ETRA, B, C, D, E сформована база VNTR-профілів. Згідно цієї бази встановлено, що у нашому дослідженні зустрічалися наступні профілі генотипів МБТ: 42422, 42425, 42427, 42423, 32425 та 22425, які віднесені до генотипів Beijing, та були виявлені у 92 (63,4 %) хворих, профілі 22222, 22423, 42522 та 32221 - відносяться до генотипів МБТ LAM було виявлено у 22 (15,2 %) хворих, профілі 32323, 31423, 42323, 22525 та 32322 - до генотипів Haarlem, було виявлено у 20 (13,8 %) осіб, 42424 – до генотипу Africanum, було

виявлено у 4 (2,8 %) хворих, профілі 52423, 32423 та 12422 віднесені до генотипів індивідуального профілю (ГП) та були виявлені у 7 (4,8 %) хворих на ХРТБ легень. Деякі генотипи ГП було ідентифіковано за допомогою бази даних «MIRU-VNTR plus», а саме генотип 52423 (у 4 пацієнтів), який належить до генотипу МБТ URAL.

Хворих, у яких було виявлено генотипи МБТ сімейства Beijing, було віднесено до I групи – Beijing. Хворі, у яких було виявлено генотипи МБТ сімейства LAM, Haarlem, Africanum, та ГП, склали II групу – не-Beijing

У процесі ІФ лікування у 105 хворих на ХРТБ легень з первинною резистентністю МБТ до АМБП було відстежено наявність змін генотипів МБТ. Для цього у цих хворих було відібрано по 4 зразки культур МБТ: до початку лікування та з інтервалами 1, 4 та 8 місяців.

Мінливість генотипів МБТ виглядала наступним чином: у 3 хворих на етапі діагностики було виявлено штами МБТ ГП з патерном 52423, у двох з яких у процесі ІФ лікування (після місяця лікування) виникла зміна на генотип МБТ LAM, в одному випадку з профілем 42522, в іншому з профілем 22222, та у одного на генотип Beijing з профілем 42425. При подальшому дослідженні, через 4 та 8 місяців ІФ лікування генотипи МБТ у цих пацієнтів не змінювалися. Згідно бази даних «MIRU-VNTR plus» патерн 52423 віднесено до генотипу URAL. Тобто у 3-х з 4-х пацієнтів з цим генотипом МБТ виникла зміна генотипу, що говорить про те, що цей генотип досить нестійкий у внутрішньолікарняних умовах, та має схильність до зміни на інші генотипи.

У інших 3-х пацієнтів на етапі діагностики було виявлено генотипи МБТ Haarlem, які на другому етапі дослідження (після 1 місяця лікування) змінилися: у двох випадках на генотипи МБТ Beijing з профілем 42423 та 42425, та в одному випадку на генотип МБТ сімейства LAM з профілем 22222, через 4 та 8 місяців дослідження подальших змін генотипів МБТ у цих хворих не виявилось.

У двох пацієнтів з генотипом МБТ LAM виникла зміна кількості повторів в локусах, що змінило загальний профіль генотипу, але не змінило належність

до сімейства МБТ LAM. У одного хворого на початку дослідження було виявлено профіль 32221, який зберігався на другому етапі дослідження (після 1 місяця лікування), але через 4 та 8 місяців дослідження змінився на профіль 42522, який теж належить до генотипу МБТ сімейства LAM. Подібна картина виникла ще у одного хворого з генотипом LAM, а саме, на початку дослідження та через місяць ІФ лікування виявлено профіль 22423, через 4 місяці дослідження виникла зміна профілю генотипу МБТ на 22222, який зберігся і через 8 місяців спостереження.

У одного хворого з генотипом МБТ Beijing (42425), який виявлено на початку та після першого місяця ІФ лікування, виникла зміна генотипу МБТ через 4 місяці лікування на генотип МБТ сімейства LAM (22222), який не змінився через 8 місяців ІФ лікування.

У одного хворого на початку лікування виявлено генотип МБТ LAM із профілем 22423, який через місяць лікування змінився на генотип МБТ Beijing із профілем 42425, який не змінювався до кінця ІФ лікування.

У 7 (70,0 %) хворих зміна генотипу сталася після першого місяця лікування. Аналіз отриманих результатів показав, що достовірно частіше виникає зміна менш вірулентних генотипів МБТ на більш вірулентні ($p_{\text{кз}} < 0,05$): три випадки ГП на LAM і на Beijing, три випадки Haarlem на LAM і на Beijing

Наявність контамінації штамів МБТ у внутрішньолікарняних умовах мала місце у 9,5 % хворих на ХРТБ легень, це говорить про те, що госпіталізація у відділення протитуберкульозних медичних установ є своєрідним ризиком екзогенної туберкульозної суперінфекції, викликаній збудниками з МЛС.

Для досягнення мети дослідження була вивчена клініко-рентгенологічна характеристика ХРТБ легень, викликаного різними генотипами МБТ, вивчено перебіг та ефективність лікування хворих на ХРТБ легень в залежності від генотипів МБТ.

Важкі клінічні форми, а саме дисемінована, фіброзно-кавернозна та казеозна пневмонія, достовірно частіше виявлялися у хворих І групи – у 30 хворих з 92 (32,6

%), в той час як у пацієнтів II групи ці форми легеневого ТБ було встановлено у 7 хворих з 53 (13,2 %) ($p < 0,01$).

Скарги на кашель з мокротинням спостерігалися у 94,6 % хворих I групи, та у 83,0 % хворих II групи ($p < 0,05$). У 15 (16,3 %) хворих з I групи та у 2 (3,8 %) хворих II групи спостерігалось кровохаркання ($p < 0,05$). Задишка різного ступеня спостерігалася у всіх хворих (100,0 %) з I групи та у 33 (62,2 %) пацієнтів II групи ($p < 0,001$). Біль у грудній клітці була у 10 (10,9 %) хворих з I групи та у 1 (1,9 %) з II групи ($p < 0,05$).

У пацієнтів з групи Beijing (I) значно частіше спостерігалось кровохаркання та біль у грудній клітині. По виразності інтоксикаційних жалоб у двох групах не було суттєвих відмінностей. Слід зазначити, що серед хворих групи не-Beijing (II), кровохаркання, лімфопенія та виражене підвищення ШОЕ частіше зустрічалось у хворих з генотипами сімейства LAM.

Розповсюдженість ураження у межах двох часток серед хворих групи Beijing спостерігалось у 23 (25,0 %) випадках, а серед хворих групи не-Beijing - у 26 (49,0 %) випадках ($p < 0,01$). Серед хворих групи Beijing достовірно частіше зустрічалися хворі з ураженням 3-5 часток легень – у 69 (75,0 %), ніж серед хворих групи не-Beijing – у 21 (39,6 %) ($p < 0,001$). У хворих групи не-Beijing з генотипом МБТ Haarlem була найменша розповсюдженість ураження легень – у 5 (25,0 %) хворих у межах 2-3 сегментів та у 15 (75,0 %) - у межах 2 часток. Найбільш розповсюджені ураження легень у хворих цієї групи спостерігалися у пацієнтів з генотипами МБТ LAM – у 15 (68,2 %) хворих було уражено 3-5 часток обох легень. У I групі хворих з 1 каверною не спостерігалось, тоді як, у II групі таких хворих було 4 (7,5 %). Хворі з кількістю каверн 4 та більше достовірно частіше спостерігалися у групі I (33,7 %), тоді як у хворих групи II кількість випадків з 4 та більше кавернами склало 13,2 % ($p < 0,01$). У 61 (66,3 %) I групи та у 42 (79,2 %) хворих II групи було виявлено 1-3 каверни ($p > 0,05$). У всіх хворих з групи не-Beijing з 1 каверною були виявлені генотипи МБТ сімейства Haarlem, тоді як у 31 (58,5 %) хворого цієї ж групи з кількістю каверн від 1 до 3 та у 6 (11,3 %) з кількістю каверн більше 4 виявлено генотипи МБТ сімейства LAM. Розміри деструкції діаметром 2-4 см

виявлено у 57 (62,0 %) хворих I групи та у 31 (58,5 %) хворих II групи ($p>0,05$). Великі каверни розміром більше 4 см достовірно частіше зустрічалися серед хворих I групи – у 28,3 % (у 26 з 92), а у хворих II групи – у 15,1 % (у 8 з 53) ($p<0,05$).

Таким чином у I групі хворих спостерігалось достовірно більше хворих з розповсюдженим ураженням легень, великою кількістю каверн (>4) та їх розміром більше 4 см у діаметрі, тоді як у II групі переважали хворі з меншим об'ємом ураження легеневої паренхіми, хворі з меншою кількістю та розміром каверн.

Досліджуючи основні параметри функцій зовнішнього дихання (ЖЄЛ та ОФВ1) у пацієнтів з двох груп, будь-яких статистично значимих відмінностей виявлено не було.

Серед хворих, які виділяли генотипи МБТ сімейства Beijing було 89,2 % хворих з помірним та масивним мікобактеріовиділенням (41 та 41 хворий відповідно), а серед хворих з групи не-Beijing – 51,0 % (16 та 11 хворих відповідно) ($p<0,001$). Відсутнє та мізерне мікобактеріовиділення виявлялося у 10 (10,9 %) хворих I групи, та у 26 (49,0 %) хворих II групи ($p<0,001$).

У 80% хворих з генотипами МБТ Haarlem було мізерне або відсутнє мікобактеріовиділення, тоді як серед хворих з генотипами МБТ LAM частіше зустрічалися хворі з масивним мікобактеріовиділенням - 77,4 %. Також у хворих з ГПП переважали хворі з мізерним або відсутнім мікобактеріовиділенням - 71,4 %.

Серед хворих двох груп переважали особи з МРТБ та РРТБ (95,6 % та 85,0 % відповідно). В свою чергу серед пацієнтів групи не-Beijing, а саме хворих з генотипами МБТ Haarlem, у 25 % випадків було виявлено моно- та полірезистентні штами МБТ. Достовірної різниці між резистентністю МБТ до АМБП серед пацієнтів двох груп виявлено не було ($p>0,05$).

Роблячи загальний висновок із вищезазначеного, можна констатувати, що хворі на ХРТБ легень, викликаного генотипами МБТ сімейства Beijing та LAM мають більш важкий клінічний перебіг захворювання, у більшості є масивними

мікобактеріовиділювачами, на відміну від хворих з генотипами МБТ сімейства Haarlem.

Серед пацієнтів зі зміною генотипів МБТ, було 8 чоловіків та 2 жінки. Вік коливався від 25 до 45 років.

За клінічними формами у 9 (90,0 %) хворих виявлявся інфільтративний ТБ легень, та у одного хворого з генотипом МБТ Beijing була виявлена казеозна пневмонія.

У 7 хворих спостерігався ІС І ступеня, тобто хворі пред'являли скарги на помірну пітливість, слабкість, зниження апетиту, субфебрильну температуру. У 2 хворих спостерігався ІС II ступеня, ці хворі мали скарги на фебрильну температуру, виражену пітливість, слабкість, значне зниження апетиту, та у одного хворого спостерігався ІС III ступеня, цей хворий мав скарги на високу температуру тіла (піретичного типу) до 41°C, профузні поти, різку слабкість, адинамія, порушення сну, у цього хворого було діагностовано казеозну пневмонію.

Бронхо-легеневі симптоми у вигляді кашлю з мокротою, задишку різного ступеня виразності спостерігалися у всіх пацієнтів зі зміною генотипів МБТ.

Практично у всіх хворих було розповсюджене ураження легень, та лише у одного хворого розповсюдженість ураження була у межах 1-2 сегментів.

У більшості хворих, а саме у 9, кількість каверн була у межах від 1 до 3, та у одного хворого з казеозною пневмонією їх було 4. У одного хворого розмір каверни був менше 2 см, у 8 хворих знаходився у межах від 2 до 4 см, та у одного хворого з казеозною пневмонією розмір однієї з каверн був більше 4 см у діаметрі.

У двох пацієнтів за даними ТМЧ (первинна резистентність) була встановлена стійкість МБТ до декількох АМБП (полірезистентність), у 5 був діагностований МРТБ та у 3 хворих РРТБ.

Особливості динаміки клінічного перебігу ХРТБ легень оцінювали за динамікою ІС, закриттям порожнин розпаду легеневої паренхіми та припиненням мікобактеріовиділення.

Серед пацієнтів групи Beijing, спостерігалася більш повільна динаміка нормалізації по всіх досліджуваних клініко-лабораторних показниках, проте

нормалізація температури тіла у хворих групи Beijing, була значно повільніше ніж у хворих з групи не-Beijing.

Серед хворих групи не-Beijing було 29 (54,7 %) пацієнтів з ІС І ступеня, 16 (30,2 %) з ІС ІІ ступеня, хворих з ІІІ ступенем ІС не було. Після двох місяців лікування спостерігалось зниження кількості хворих з ІС, але у двох групах хворих статистичної різниці за цей період не виявлено. На 4 місяці лікування виявлено значно більше хворих з ІС І та ІІ ступеня у групі Beijing у порівнянні з хворими з групи не-Beijing – 38,0 % проти 20,7 % ($p < 0,05$) та 27,2 % проти відповідно 7,5 % ($p < 0,001$).

Динаміка інших показників, а саме зниження лімфоцитів та підвищення ШОЕ, не мала достовірної різниці на протязі спостереження за хворими двох груп, хоча спостерігалася явна тенденція до зниження цих показників.

Динаміка зниження масивності мікобактеріовиділення визначалася за результатами бактеріоскопічного методу дослідження мокроти на 1, 4 та 8 місяцях ІФ лікування.

Припинення мікобактеріовиділення за методом бактеріоскопії мокроти спостерігалось вже на 1 місяці лікування - у 2 (2,2 %) хворих першої групи та у 4 (7,5 %) хворих другої групи ($p > 0,05$). На 4 місяці лікування припинення мікобактеріовиділення спостерігалось вже у 8 (8,7 %) хворих першої групи та у 12 (22,6 %) хворих другої групи ($p < 0,05$). На 8 місяці лікування також спостерігалася достовірна різниця за припиненням мікобактеріовиділення, а саме у 15 (16,3 %) хворих групи Beijing, та у 18 (34,0 %) хворих групи не-Beijing ($p < 0,05$).

Кількість хворих з мізерним та помірним мікобактеріовиділенням достовірно відрізнялась 1 на 4, та на 8 місяці лікування. У хворих з мізерним (1+) мікобактеріовиділенням ця різниця виглядала наступним чином: у 12 (13 %) хворих І групи та у 15 (28,3 %) хворих ІІ групи (1 місяць лікування, $p < 0,05$); у 18 (19,6 %) хворих І групи та у 27 (50,9 %) хворих ІІ групи (4 місяць лікування, $p < 0,001$); у 22 (23,9 %) хворих І групи та у 31 (58,5 %) хворого ІІ групи (8 місяць лікування, $p < 0,001$). Серед двох груп хворих з помірним (2+)

мікобактеріовиділенням також виявилась достовірна різниця: у 41 (44,6 %) хворого I групи та у 13 (24,5 %) хворих II групи (4 місяць лікування, $p < 0,001$); у 34 (37,0 %) хворого I групи та 4 (7,5 %) хворих II групи (8 місяць лікування, $p < 0,001$). Кількість пацієнтів з масивним (3+) мікобактеріовиділенням також достовірно відрізнялась на 4 місяці ІФ лікування, та склала відповідно 25 (27,1 %) у групі хворих Beijing та 1 (1,9 %) - у групі хворих не-Beijing ($p < 0,001$). Слід зазначити, що на 8 місяці лікування серед хворих II групи не було пацієнтів з масивним мікобактеріовиділенням, а у I групі таких хворих було 21 (22,8 %).

Таким чином, припинення мікобактеріовиділення та динаміка зниження масивності бактеріовиділення на фоні антимікобактеріальної терапії відбувалася значно повільніше у пацієнтів з групи Beijing ніж у пацієнтів з групи не-Beijing.

Загоєння порожнин деструкції у пацієнтів групи Beijing відбувалося значно повільніше, ніж серед пацієнтів групи не-Beijing, особливо наглядно це мало місце на 8 місяці ІФ лікування, а саме у 13,0 % проти 34,0 % відповідно ($p < 0,01$). На 4 місяці лікування хворих з позитивною рентгенологічною динамікою серед I групи було 18 (19,6 %), серед II групи 17 (32,0 %) ($p > 0,05$). На 8 місяці лікування хворих з позитивною рентгенологічною динамікою було достовірно менше серед хворих з групи Beijing, ніж серед хворих з групи не-Beijing – 29 (31,5 %) та 33 (62,3 %) відповідно ($p < 0,001$).

Негативна рентгенологічна динаміка на 4 місяці лікування спостерігалась у 16 (17,4 %) хворих I групи та у 5 (9,4 %) хворих II групи ($p > 0,05$). На 8 місяці лікування було 23 (25,2 %) хворих з I групи та 8 (15,1 %) хворих II групи, у яких спостерігалась негативна рентгенологічна динаміка ($p > 0,05$).

На 4 місяці ІФ лікування у 58 (63,5 %) хворих I групи та у 31 (58,5 %) хворих II групи рентгенологічної динаміки не спостерігалось ($p > 0,05$). На 8 місяці ІФ лікування хворих без рентгенологічної динаміки у I групі було 40 (43,5 %), у II групі - 12 (22,6 %) ($p < 0,05$).

Таким чином, загоєння порожнин деструкції у пацієнтів групи Beijing відбувалося значно повільніше, ніж серед пацієнтів групи не-Beijing, особливо

наглядно це мало місце на 8 місяці ІФ лікування, коли спостерігалася достовірна різниця між обстеженими групами хворих (13 % проти 34 %).

У хворих на ХРТБ легень групи не-Beijing закриття каверн та припинення мікобактеріовиділення сталося лише у 34,0 % хворих. Слід зазначити, що лише у 18,2 % хворих з генотипами МБТ сімейства LAM після 8 місяців лікування відбулося закриття каверн та у 22,7 % припинилося мікобактеріовиділення. В свою чергу, у 60,0 % хворих з генотипами МБТ сімейства Haarlem після 8 місяців ІФ лікування відбулося закриття каверн, а у 50,0 % хворих припинилося мікобактеріовиділення.

Це говорить про те, що найнижчий показник ефективності лікування у хворих групи не-Beijing спостерігався у пацієнтів з генотипами МБТ LAM, тоді як, більш ніж у половини хворих з генотипами МБТ Haarlem вдалося досягти позитивної клініко-рентгенологічної динаміки після 8 місяців ІФ лікування.

У всіх пацієнтів зі зміною генотипів МБТ до початку лікування були деструктивні зміни у легенях та спостерігалось масивне мікобактеріовиділення. Після 8 місяців лікування у 6 (60,0 %) хворих відбулося закриття каверн, та лише у 2 (20,0 %) припинилося мікобактеріовиділення за результатами культурального методу дослідження мокротиння. Серед хворих, у яких спостерігалась негативна клініко-рентгенологічна динаміка після 8 місяців спостереження, у одного хворого було виявлено генотип МБТ сімейства LAM (профіль 22222) та у 3 генотипи МБТ сімейства Beijing (у 2 хворих - профіль 42425 та у 1 хворого – 42423 відповідно). У 3 (30,0 %) хворих спостерігалася набута резистентність МБТ до АМБП, у двох з яких був встановлений діагноз МРТБ та у одного РРТБ.

Після ІФ лікування у 9 (90,0 %) хворих зі зміною генотипів МБТ було встановлено невдачу лікування та один хворий помер. При аналізі ефективності лікування через рік після ІФ лікування, 6 хворих померло, та 3 продовжували лікування за 4-ю категорією.

У хворих, які відрізнялися змінами генотипів МБТ, спостерігались симптоми інтоксикації у вигляді підвищення температури тіла до фебрильних цифр (до

38,3°C), вираженої пітливості, слабкості, значного зниження апетиту і змін в гемограмі у вигляді лейкоцитозу і прискорення ШОЕ. Також під час зміни генотипів МБТ у 30 % хворих змінювалась чутливість МБТ, тобто формувалась набута резистентність МБТ до АМБП. При аналізі розміщення пацієнтів по палатах встановлено, що у всіх пацієнтів з генотипами МБТ Haarlem та ГПІ були сусіди з генотипами МБТ Beijing та LAM, тобто встановлен зв'язок між виникненням екзогенної суперінфекції та сусідством по палаті.

Після 8 місяців лікування у 13 (14,8 %) хворих на ХРТБ легень групи Beijing та у 17 (38,6 %) хворих групи не-Beijing вдалося досягти конверсії посіву ($p < 0,001$). У 71 (77 %) хворих групи Beijing та у 25 (56,8 %) хворих групи не-Beijing після ІФ лікування було встановлено невдачу лікування ($p < 0,05$). Кількість померлих хворих групи Beijing у 2 рази переважала кількість померлих хворих групи не-Beijing, а саме 7,8 % проти 4,5 % ($p > 0,05$).

Таким чином, встановлена залежність динаміки клініко-лабораторних показників від генотипу МБТ у хворих на ХРТБ легень у процесі ІФ лікування. Серед пацієнтів групи Beijing конверсія посіву мокротиння спостерігається у 2,5 рази рідше, у 2,5 рази менше випадків загоєння порожнин деструкції легеневої паренхіми та у 2,5 рази більше хворих з ІС ніж серед хворих групи не-Beijing. Клінічно випадки повторного зараження ТБ можуть виглядати у вигляді загострень виразності ІС, змін у лабораторних показниках та зміні чутливості МБТ до АМБП.

Ідентифікація генотипів МБТ на етапі діагностики ХРТБ легень та у процесі ІФ лікування має велике значення для прогнозування перебігу та ефективності лікування.

ВИСНОВКИ

У дисертаційному дослідженні наведено теоретичне узагальнення та практичне обґрунтування вирішення актуальної задачі фтизіатрії – розробка методів прогнозування тяжкості перебігу та ефективності терапії хіміорезистентного туберкульозу легень на етапі інтенсивної фази лікування в залежності від генотипів МБТ та їх змін.

1. За результатами VNTR-генотипування по ETR A-E локусах у 63,4 % хворих на хіміорезистентний туберкульоз легень зустрічаються генотипи МБТ сімейства Beijing, у 15,2 % хворих виявляються генотипи МБТ сімейства LAM, а у 13,8 % хворих - генотипи МБТ сімейства Haarlem. Генотипи МБТ індивідуальних профілів та Africanum виявляються дуже рідко - у 4,8 % та 2,8 % хворих відповідно.

2. Хворі, які інфіковані генотипами МБТ сімейства Beijing, відрізняються від хворих, інфікованих генотипами МБТ не-Beijing, в 2,5 рази більшою частотою наявності тяжких клінічних форм легеневого туберкульозу ($p < 0,01$) та розповсюджених уражень легень (3-5 часток) ($p < 0,001$). У хворих групи Beijing в 2,5 рази частіше діагностується велика кількість каверн (4 та $>$) ($p < 0,01$) зі значно більшими їх розмірами, а також в 2 рази частіше зустрічаються випадки з масивним мікобактеріовиділенням ($p < 0,001$). Це дозволяє прогнозувати тяжкість перебігу хіміорезистентного туберкульозу легень в залежності від генотипів МБТ за допомогою методу VNTR-генотипування.

3. За результатами VNTR-генотипування МБТ під час інтенсивної фази лікування, у 10 (9,5 %) хворих на хіміорезистентний туберкульоз легень виявляються генотипи МБТ, які відрізняються від початкових, при цьому у 60,0 % з них відбуваються зміни менш вірулентних генотипів МБТ на більш вірулентні: у 30,0 % генотипи індивідуальних профілів змінюються на генотипи МБТ LAM і Beijing та у 30,0 % - генотипи МБТ Haarlem на LAM і Beijing ($p < 0,05$).

4. У хворих на хіміорезистентний туберкульоз легень зміни генотипів МБТ з менш вірулентних на більш вірулентні асоційовані із загостренням

інтоксикаційного синдрому у вигляді підвищення температури тіла до фебрильних цифр, вираженою пітливістю, слабкістю, змінами у гемограмі (лейкоцитоз, прискорення ШОЕ) та формуванням у 30,0 % хворих набутої резистентності МБТ до антимікобактеріальних препаратів.

5. Серед хворих групи Beijing у порівнянні із хворими групи не-Beijing позитивна клініко-рентгенологічна динаміка спостерігається у 2,5 рази рідше ($p < 0,01$), а кількість померлих у 2 рази більша ($p > 0,05$). При цьому, у групі хворих Beijing спостерігається в 2,5 рази менше осіб з припиненням мікобактеріовиділення ($p < 0,05$), в 2 рази більше хворих з інтоксикаційним синдромом та в 2,5 рази менше випадків загоєння порожнин деструкції легеневої паренхіми ($p < 0,01$), що дозволяє прогнозувати меншу ефективність лікування хворих з генотипами МБТ Beijing.

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. Для прогнозування тяжкості перебігу хіміорезистентного туберкульозу легень рекомендується використання VNTR-генотипування до початку інтенсивної фази лікування з метою визначення генотипу МБТ Beijing, наявність якого асоційована з найбільш тяжким перебігом захворювання.

2. Для прогнозування ефективності лікування рекомендується використання повторного VNTR-генотипування генотипів МБТ через місяць інтенсивної фази лікування у хворих з наявністю менш вірулентних генотипів МБТ (Haarlem, ГПП), особливо, якщо у пацієнтів в цей період спостерігається загострення інтоксикаційного синдрому.

3. У разі зміни генотипів МБТ на більш вірулентні (Beijing, LAM) рекомендовано призначення додаткового дослідження чутливості МБТ до антимікобактеріальних препаратів через місяць інтенсивної фази лікування, що буде сприяти прогнозуванню ефективності лікування.

4. Розміщення пацієнтів у протитуберкульозних лікарнях слід проводити з урахуванням даних о генотипах та спектрі лікарської чутливості МБТ до антимікобактеріальних препаратів.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Аксенова К.И. Проблема профилактики туберкулёза у взрослых / К.И. Аксёнова // Туберкулёз и болезни лёгких. – 2013. – № 2. – С. 3-12.
2. Александріна Т.А. Особливості епідемії туберкульозу в Україні / Т.А. Александріна // Туберкульоз, легеневі хвороби, ВІЛ-інфекція. – 2012. – № 2. – С. 7-13.
3. Аналітичний погляд на проблему хіміорезистентного туберкульозу: нинішній стан, досягнення та деякі невирішені питання / В.М. Мельник, І.О. Новожилова, В.Г. Матусевич, М.І. Линник // Український пульмонологічний журнал. – 2012. – № 1. – С. 5–7.
4. Антоненко П.Б. Способ генотипирования возбудителя туберкулеза / П.Б. Антоненко, В.И. Кресюн, Е.А. Антоненко // Туберкулез и болезни легких. – 2011. – № 12. – С. 47-50.
5. Бадлеева М.В. Роль медицинского персонала в профилактике внутрибольничных инфекций / М.В. Бадлеева // Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра СО РАМН. – 2010. – № 2. – С. 124-128.
6. Бажора Ю.И. Молекулярно-генетическая характеристика штаммов *Mycobacterium tuberculosis*, выделенных в южном регионе Украины / Ю.И. Бажора, В.В. Николаевский, Ф. Дробневски // Цитология и генетика. – 2004. – № 4. – С. 23-28.
7. Баласанянц Г.С. Изучение генетической принадлежности микобактерий туберкулеза в отдельных территориях Северо-Запада России / Г.С. Баласанянц, Н.Ю. Исаева, А.Н. Гришко // Туберкулез и болезни легких. – 2011. – № 4. – С. 47-48.
8. Баранов А.А. Педиатрия. Национальное руководство: в 2 томах. Том 2. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. – 1024 с.
9. Батыршина Я.Р. Лекарственная устойчивость *Mycobacterium tuberculosis* к фторхинолонам в Новосибирской области: результаты популяционного исследования / Я.Р. Батыршина, Т.И. Петренко, П.Н. Филимонов //

Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2013. – № 1. – С. 56-65.

10. Беспятых Ю.А. Определение лекарственной устойчивости и генотипирование клинических штаммов *Mycobacterium tuberculosis* при помощи экспериментального набора "ТБТЕСТ" / Ю.А. Беспятых, Ю.А. Шитиков, Д.В. Зименков и др. // Пульмонология. – 2013. – № 4. – С. 77-81.

11. Биологические свойства *mycobacterium tuberculosis* характеристика воспалительного ответа при инфильтративном туберкулезе легких / О.Т. Титаренко, М.Е. Дьякова, О.А. Маничева и др. // Инфекция и иммунитет. – 2014. – № 3. – С. 221–228.

12. Богородская Е.М. Пути совершенствования организации лечения больных туберкулезом: автореф. дис. на соиск. уч. степ. канд. мед. наук: спец. 14.01.16 «Фтизиатрия» / Е.М. Богородская. – М., 2009. – 45 с.

13. Борисовская Л.Н. Опыт внедрения системы инфекционного контроля в детском многопрофильном стационаре / Л.Н. Борисовская // Главная медицинская сестра. – 2009. – № 7. – С. 63-72.

14. Бялик И. Б. Эффективность и переносимость интенсивной химиотерапии у больных мультирезистивным деструктивным туберкулезом легких при одновременном и равномерном в течение дня приеме противотуберкулезных препаратов / И. Б. Бялик // Туберкульоз, легеневі хвороби, ВІЛ-інфекція. – 2014. – № 3. – С. 11-16.

15. Валиев Р.Ш. Химиопрофилактика туберкулёза в условиях роста лекарственной устойчивости микобактерий туберкулёза / Р.Ш. Валиев. // Проблемы туберкулёза. – 2011. – № 4. – С. 77.

16. Варченко Ю.А. Вплив інтерферону на динаміку закриття порожнин розпаду у хворих з інфільтративним впершедіагностованим туберкульозом легень / Ю.А. Варченко //Туберкульоз,легеневі хвороби, ВІЛ-інфекція.–2013. – №1.–С.26-29.

17. Вашков В.И. Антимикробные средства и методы дезинфекции при инфекционных заболеваниях / В.И. Вашков. – М.: Медицина, 1977. – 295 с.
18. ВОЗ. Доклад о глобальной борьбе с туберкулезом. 2012 г. [электронный ресурс]. – Режим доступа: http://www.who.int/tb/publications/global_report/ru/index.html
19. Воробьева В.Н. Распространение внутрибольничных инфекций в России и роль медсестры в их профилактике / В.Н. Воробьева // Медсестра. – 2012. – № 1. – С. 47-53.
20. Воронина Е.Н. Мутация Ser315Thr гена katG – основная причина устойчивости к изониазиду у изолятов *Mycobacterium tuberculosis*, распространенных в Новосибирской и Кемеровской областях / Е.Н. Воронина, М.А. Верзова, Е.А. Храпов, В.Н. Киншт // Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. – 2004. – № 3. – С. 8-11.
21. Генотип LAM *Mycobacterium tuberculosis* в Бурятии / Е.Д. Савилов, С.Н. Жданова, О.Б. Огарков, А.А. Лац, А.Н. Зарбуев // Сибирский медицинский журнал. – 2013. – № 6. – С. 140-142.
22. Генотипирование и определение лекарственной устойчивости клинических изолятов *M. tuberculosis* из различных областей Казахстана на основе ДНК–секвенирования и MIRU–VNTR анализа / А.Р. Ибраева, А.Ж. Ахметова, У.А. Кожамкулов и др. // Биотехнология. Теория и практика. – 2012. – № 2. – С. 71-77.
23. Генотипирование штаммов *M. TUBERCULOSIS*, циркулирующих в местах лишения свободы Кыргызской Республики / Ж. Т. Исакова, И. В. Мокроусов, В. Вылчева // Туберкулез и болезни легких. – 2010. – № 9. – С. 39-44.
24. Генотипові та клініко-епідеміологічні характеристики ізолятів *Mycobacterium tuberculosis*, що циркулюють в м. Києві / Ю.О. Чередник, О.В. Анопрієнко, Н.Г. Горovenko, Ю.І. Фещенко // Вісник проблем біології і медицини. – 2013. – Вип. 4, Том 1. – С. 220-225.

25. Генотипування *Mycobacterium tuberculosis* за шістьма локусами / П.Б. Антоненко, В.Й. Кресюн, Ю.І. Бажора та ін. // Український пульмонологічний журнал. – 2010. – № 3. – С. 15-18.
26. Дзюблик Я.О. Антибіотико резистентність збудників інфекцій дихальних шляхів: огляд результатів дослідження SOAR та перспективи мікробіологічного моніторингу в Україні / Я.О. Дзюблик // Український пульмонологічний журнал. – 2010. – № 3. – С. 33-35.
27. Дымова М.А. Генетическое разнообразие штаммов *Mycobacterium tuberculosis*, циркулирующих на территории Харьковской области Украины / М.А. Дымова, А.А. Ляшенко, П.И. Потейко и др. // Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. – 2011. – № 1. – С. 19-23.
28. Елисеев В.В. Туберкулёз - управляемая инфекция / В.В. Елисеев, М.А. Тырылгин // Проблемы туберкулёза. – 2011. – №4. – С.3-7.
29. ETR-VNTR та групо специфічне SNP-типування штамів *Mycobacterium tuberculosis*, що циркулюють у м. Київ / Ю.О. Чередник, О.В. Анопрієнко, Н.В. Горовенко, Ю.І. Фещенко // Вісник українського товариства генетиків і селекціонерів. – 2013. – № 2. – С. 283-291.
30. Ефремова С.Н. Организационная форма лечения больных МЛУ туберкулезом / С.Н. Ефремова, Г.С. Баласанянц // Туберкулез и болезни легких. – 2011. – № 4. – С.139-140.
31. Заболеваемость туберкулезом сотрудников здравоохранения Москвы (1995–2008) / А.В. Сацук, В.Г. Акимкин, И.А. Храпунова и др. // Эпидемиология и инфекционные болезни. – 2010. – № 4. – С. 15–20.
32. Идентификация генотипов *Mycobacterium tuberculosis*, ассоциированных с резистентностью и чувствительностью к лекарственным препаратам / М.А. Дымова, О.И. Альховик, А.Г. Чередниченко и др. // Микробиология. – 2012. – Т. 13. – С. 672-681.
33. Иконина И.В. Результаты внедрения ежегодного флюорографического обследования населения старше 15 лет в Воронежской области / И.В. Иконина // Проблемы туберкулёза. – 2011. – № 4. – С.166-167.

34. Исаева Т.Х. Особенности течения впервые выявленного туберкулеза легких в зависимости от генотипа M. Tuberculosis / Т.Х Исаева, И.А. Васильева, Л.Н. Черноусова // Инфекционные болезни. – 2011. – №2. – С. 68-72.

35. Исаева Т.Х. Особенности течения остропрогрессирующих форм туберкулеза легких в зависимости от генотипа M. Tuberculosis / Т.Х. Исаева // Инфекционные болезни. – 2012. – № 3. – С. 98-99.

36. Исаева Т.Х. Течение и эффективность лечения впервые выявленных больных туберкулезом легких в зависимости от генотипа m. Tuberculosis: автореф. дис. на соиск. уч. степ. канд. мед. наук: спец. 14.01.16 «Фтизиатрия» / Т.Х. Исаева. – М., 2012. – 24 с.

37. Калечиц О.М. Роль инфекционного контроля в предупреждении заболевания туберкулезом работников противотуберкулезных организаций / О.М. Калечиц, Е.М. Скрягина, А.П. Астровко // Первые итоги работы фтизиатрической службы по внедрению стратегии «Stop-TB» в практическое здравоохранение: сб. трудов. – Гродно, 2009. – С. 69–72.

38. Клинико-рентгенологическая динамика у впервые выявленных больных туберкулезом легких с множественной лекарственной устойчивостью микобактерий при раннем назначении резервной схемы химиотерапии по данным тест-системы «ТБ-Биочип» / Р.Б. Дауров, Васильева И.А., Перфильев А.В. // Туберкулез и болезни легких. – 2010. – № 4. – С. 10-13.

39. Корнага С. І. Мультирезистентність мікобактерій туберкульозу у хворих з рецидивами туберкульозу легень / С. І. Корнага, І. Т. П'ятночка, Н. В. Тхорик // Інфекційні хвороби. - 2014. - № 3. - С. 87-89.

40. Кужко М.М. Можливості фармакотерапії туберкульозу легень / М.М. Кужко, М.Т. Клименко, Н.М. Гульчук, М.І. Линник, О.В. Аврамчук, Л.М. Процик // Туберкульоз, легеневі хвороби, ВІЛ-інфекція. – 2012. - № 4 (11). – С. 57-64.

41. Литвинюк О.П. Структура захворюваності на туберкульоз медичних працівників Вінницької області / О.П. Литвинюк, С.В. Зайков, О.О.

Захарченко, Т.І. Клименко // Туберкульоз, легеневі хвороби, ВІЛ-інфекція. – 2015. – № 2 (21). – С. 101-105.

42. Львова Л.В. Харьковская школа фтизиатрии: штрихи к портрету [електронний ресурс] / Л.В. Львова, П.И. Потейко // Провизор. – 2004. – № 22. – Режим доступу : http://www.provisor.com.ua/archive/2004/N22/art_12.htm.

43. Ляшенко А.А. Эффективность лечения впервые выявленных больных туберкулезом легких, выделяющих *Mycobacterium tuberculosis* различных генотипов / А.А.Ляшенко// Проблемы медичної науки та освіти. – 2006. – № 4. – С. 73-74.

44. Ляшенко О.О. Мікобактерії різних генотипів та їх роль в клінічній картині туберкульозу легень: автореф. дис. на здобуття наук. ступ. канд. мед. наук: спец. 14.01.26 "Фтизіатрія"/ О.О. Ляшенко. – К., 2008. – 16 с.

45. Маркелов Ю.М. Особенности туберкулеза с множественной лекарственной устойчивостью и приоритетные мероприятия по ограничению его распространения в Карелии / Ю.М. Маркелов // Вестник современной клинической медицины. – № 3. –2011. –С 50-56.

46. Медикаментозна резистентність мікобактерій туберкульозу в Одеській області та фактори ризику розповсюдження резистентного туберкульозу: дані проспективного дворічного дослідження./ О.К. Асмолов, В.В.Ніколаєвський, В.Й. Кресюн та ін. // Український пульмонологічний журнал. – 2005. – № 2. – С. 9-15.

47. Медикаментозные осложнения при лечении IV режимом химиотерапии больных туберкулезом легких с множественной лекарственной устойчивостью возбудителя / В.С. Боровицкий, В.Ю. Мишин, Ю.Г. Григорьев и др.// Туберкулез и болезни легких (IX съезд фтизиатров России).– 2011. – № 4.– С. 63–64.

48. Мельник В. М. Аналіз недоліків організації лікування хворих на хіміорезистентний туберкульоз / В. М. Мельник, І. О. Новожилова. В. Г. Матусевич [и др.] // Туберкульоз, Легеневі хвороби, ВІЛ-інфекція. – 2014. – № 3. – С. 5-10.

49. Мельник В.М. Історія виникнення і розвитку хіміорезистентного туберкульозу / В.М. Мельник, А.М. Приходько Л.В. Ареф'єва// Український пульмонологічний журнал. – 2012. – №2. – С.59-61.
50. Мельник В.М. Хіміорезистентний туберкульоз: стан проблеми в Україні / В.М. Мельник, І.О. Новожилова, В.Г. Матусевич // Укр. мед. часопис. – 2013. – № 5 (97). – С. 43-45.
51. Мишин В. Ю. Эффективность химиотерапии и стойкость клинического излечения у впервые выявленных больных деструктивным туберкулезом легких с позиций доказательной медицины / В. Ю. Мишин, А. С. Кононец // Пульмонология. – 2012. – № 5. – С. 41-49.
52. MIRU-VNTR генотипирование штаммов *Mycobacterium tuberculosis*, циркулирующих на территории Республики Казахстан [электронный ресурс] / Ю.А. Скиба, И.А. Ахметоллаев, Г.А. Исмагулова и др. // Научный биологический блог. – 2010. – Режим доступа: <http://shmain.ru/nauchnye-stati/miru-vntr-genotipirovanie-shtammov-mycobacterium-tuberculosis-cirkuliruyushhix-na-territorii-respubliki-kazakhstan.html>.
53. Мокроусов И.В. Некоторые особенности структуры генома и эволюции *Mycobacterium tuberculosis* / И.В. Мокроусов // Инфекция и иммунитет. – 2011. – № 3. –С. 211-220.
54. Молекулярна епідеміологія туберкульозу / Ю.І. Бажора, М.М. Часникова, С.П. Польова, І.А. Левицька // Клінічна та експериментальна цитологія. – 2010. – № 2. – С. 138-140.
55. Молекулярно-генетическая характеристика штаммов *Mycobacterium Tuberculosis*, циркулирующих на территории Уральского региона России / Т.В. Умпелева, М.А. Кравченко, Н.И. Еремеева, А.А. Вязовая, О.В. Нарвская // Инфекция и иммунитет. – 2013. – № 1. – С. 21-28.
56. Молекулярно-генетические механизмы туберкулезной инфекции / Ю.И. Бажора, В.И. Кресюн, Ю.И. Фещенко и др. – О.: Одес.мед. ун-т, 2005. – 296 с.

57. Молекулярное генотипирование штаммов *Mycobacterium tuberculosis*, циркулирующих в Центральной России: эффективность сполиготипирования и VNTR–MIRU / В.В.Николаевский, Я.М. Балабанова, Т. Браун, Ф. Дробниевски, И.М. Федорин // Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. – 2005. – № 4. – С. 9-13.

58. Молекулярные основы возникновения лекарственной устойчивости у *Mycobacterium tuberculosis* / М.А. Дымова, А.Г. Чередниченко, А.Н. Ширшова и др. // Вестник Новосибирского государственного университета. Серия: биология, клиническая медицина. – 2012. – № 2. – С. 243-251.

59. Москаленко В.Ф. Фтизіатрія: навч. посіб. для студ. вищ. мед. навч. закл. IV рівня акредитації / В.Ф. Москаленко, В.І. Петренко, Г.О. Тимошенко. – К.: Медицина, 2010. – 199 с.

60. Мутации, связанные с лекарственной устойчивостью, у *Mycobacterium tuberculosis*, выделенных в Самарской области / В.В. Николаевский, F.A. Drobiewski, T.J. Brown и др. // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. – 2005. – № 1. – С. 11-16.

61. Наказ МОЗ України №620 від 04.09.2014 «Уніфікований клінічний Протокол первинної, вторинної (спеціалізованої) та третинної (високоспеціалізованої) медичної допомоги. Туберкульоз»

62. Наркевич А.Н. Значимость регулярного профилактического флюорографического обследования для своевременного выявления туберкулёза лёгких / А.Н. Наркевич, Н.М. Корецкая // Проблемы туберкулёза. – 2011. – № 5. – С. 69.

63. Наукові розробки Інституту фтизіатрії і пульмонології ім. Ф.Г. Яновського АМН України за 10 років / Ю.І. Фещенко, В.М. Мельник, В.М. Петренко та ін. // Український. пульмонологічний журнал. – 2001. – № 2. – С. 5-13.

64. Николаевский В.В. Выявление лекарственной устойчивости микобактерий молекулярно–генетическими методами / В.В. Николаевский, Ю.И. Бажора // Буковинський. медичний вісник. – 2003. – № 3. – С. 137-144.

65. Николаевский В.В. Молекулярно-генетическая характеристика штаммов *Mycobacterium tuberculosis*, выделенных в южном регионе Украины / В.В. Николаевский, Ф.А. Дробниевски, Ю.И. Бажора // Цитология и генетика. – 2004. – № 4. – С. 23-28.
66. Оснащение бактериологических лабораторий противотуберкулезной службы как важнейший элемент обеспечения качества и безопасности их работы / Э.В. Севастьянова, Л.П. Мартынова, В.Н. Барило и др. // Туберкулез и болезни легких. – 2009. – № 10. – С. 56-62.
67. Оценка факторов риска в эпидемиологии туберкулеза / А.Ф. Томашевский, А.Н. Гришко, Г.С. Баласанянц и др. // Туберкулез и болезни легких. – 2011. – № 5. – С.191-192.
68. Паролина Л.Е. Эффективность внедрения новых технологий инфекционного контроля в противотуберкулезных учреждениях / Л.Е. Паролина // Фтизиатрия и пульмонология. – 2011. – № 2. – С. 202-203.
69. Петренко В. І. Проблема туберкульозу в Україні / В. І. Петренко, Р. Г. Процюк // Туберкульоз, легеневі хвороби, ВІЛ-інфекція. - 2015. - № - С. 16-29.
70. Петренко Т.И. Особенности ведения больных туберкулёзом легких с множественной лекарственной устойчивостью возбудителя и сопутствующими хроническими гепатитами В и/или С / Т.И. Петренко, Т.А. Рейхруд // Совершенствование оказания медицинской помощи больным туберкулезом: материалы конференции. – Омск, 2011. – С. 21–25.
71. Плиева С.Л. Особенности ранних и поздних рецидивов туберкулеза органов дыхания / С.Л. Плиева, П.П. Сельцовский // Проблемы туберкулеза и болезней легких. – 2011. – № 6. – С. 23-27.
72. Попов С.А. Проблемы инфекционного контроля в противотуберкулезных учреждениях России / С.А. Попов, К.А. Кордубайло, М.Г. Бирон // Первые итоги работы фтизиатрической службы по внедрению стратегии «Stop-TB» в практическое здравоохранение: сб. трудов. – Гродно, 2009. – С. 44–48

73. Потейко П.И. Клинико-лабораторная характеристика интоксикационного синдрома у больных туберкулезом легких и эффективность детоксикационной терапии // Дис.на соискание степени канд.мед.наук. - М., 1991. – 239 с.

74. Применение индексов интоксикации для оценки тяжести течения эндогенной интоксикации у больных с деструктивным туберкулезом легких / Л. В. Лебедь, И. В. Киреев, П. И. Потейко, А.А. Ляшенко // Український журнал клінічної та лабораторної медицини. – 2012. – Т. 7, № 1. – С.184-188.

75. Про затвердження Стандарту інфекційного контролю за туберкульозом в лікувально-профілактичних закладах, місцях довгострокового перебування людей та проживання хворих на туберкульоз: Наказ МОЗ України від 18.08.2010 № 684.

76. Про протидію захворюванню на туберкульоз: Закон України №4565–VI від 22.03.2012.

77. 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.

78. Проблемы медико-социальной помощи больным туберкулезом на современном этапе / В.А. Краснов, И.В. Калачев, О.В. Ревякина, Д.В. Степанов // Актуальные проблемы и перспективы развития противотуберкулезной службы в Российской Федерации: материалы 1-го Конгресса национальной ассоциации фтизиатров.– СПб., 2012.– С. 311–313.

79. Прозоров А.А. Мутанты *Mycobacterium tuberculosis* множественной лекарственной устойчивостью: история появления, генетические и молекулярные механизмы устойчивости, возникающие проблемы / А.А. Прозоров, М.В. Зайчикова, В.Н. Даниленко // Генетика. – 2012. – № 1. – С. 5.

80. Рабухин А.Е. Химиотерапия больных туберкулезом легких / А.Е. Рабухина. – М.: Медицина, 1970. – 400 с.
81. Радиш Г.В. Потенційний прорив у лікуванні хіміорезистентного туберкульозу / Г.В. Радиш // Туберкульоз, легеневі хвороби, ВІЛ-інфекція. – 2012. – № 23. – С. 106-107.
82. Распространенность генетических групп *Mycobacterium tuberculosis* по районам Самарской области / И.С. Концевая, В.В. Николаевский, А.В. Садыхова и др. // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. – 2014. – № 1. – С. 317-320.
83. Результати генотипування штамів *Mycobacterium tuberculosis* у хворих на туберкульоз легень м. Харкова / В.С. Крутько, М.Л. Филипенко, О.О. Ляшенко, М.А. Рот, П.І. Потейко, А.В. Стаднікова, Т.В. Сокол, Д.О. Кашуба // Вісник наукових досліджень. – 2005. – № 3. – С. 17-18.
84. Результаты лечения 100 больных туберкулезом с множественной лекарственной устойчивостью, получивших лекарственные препараты по одобрению комитета «Зеленый свет» Всемирной организации здравоохранения в 2005 году, в Архангельской области / Н.А. Власова, Е.И. Никишова, О.М. Миронюк, А.О. Марьяндышев // Туберкулез и болезни легких. – 2010. – № 8. – С. 44-49.
85. Савилов Е.Д. Пекинский генотип *M. tuberculosis* / Савилов Е.Д., Синьков В.В., Огарков О.Б. // Эпидемиология и инфекционные болезни. – 2010. – № 4. – С. 50-53.
86. Савилов Е.Д. Эпидемиология туберкулеза на Евро-Азиатском континенте: оценка глобального движения штаммов генотипа «Пекин» / Е.Д. Савилов, В.В. Синьков, О.Б. Огарков. – Иркутск: РИО ГБОУ ДПО ИГМАПО, 2013. – 120 с.
87. Салина Т.Ю. Молекулярно-генетический анализ изониазидрезистентных штаммов *Mycobacterium tuberculosis*, циркулирующих на территории Саратовской области / Т.Ю. Салина, Т.И. Морозова //

Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. – 2013. – № 3. – С. 26-28.

88. Свойства штаммов *M. Tuberculosis* кластера W / Л.Н. Черноусова, С.Н. Андреевская, Т.Г. Смирнова и др. // Проблемы туберкулеза и болезней легких. – 2008. – № 10. – С. 45-49.

89. Селькова Е.П. Эпидемиологические подходы к проведению дезинфекционных мероприятий в ЛПУ / Е.П. Селькова // Дезинфекция. Антисептика. – 2010. – № 4. – С. 62-69.

90. Синтез и биологическое действие тиосемикарбазонов 4-хлор-1Н-имидазол-5-карбальдегидов / В.А. Чорноус, А.М. Грозав, Л.Д. Тодорико, М.В. Вовк // Химико-фармацевтический журнал. – 2013. – № 10. – С. 71-73.

91. Сисин Е.И. Возбудители внутрибольничных инфекций: *Mycobacterium tuberculosis* / Е. И. Сисин // Сестринское дело. – 2013. – № 5. – С. 45-48.

92. Система инфекционного контроля в противотуберкулезных учреждениях / под ред. Л.С. Федоровой. – М. –Тверь: Триада, 2013. – 192 с.

93. Скачко Б.Г. Туберкульоз. Профілактика. Лікування. Реабілітація / Б.Г. Скачко. – К.: Медицина, 2006. – 119 с.

94. Способ выявления устойчивых к рифампицину изолятов *Mycobacterium tuberculosis*/ М.Д. Филипенко, М.А. Дымова, Е.А. Храпов и др. // Вестник Новосибирского государственного университета. Серия: биология, клиническая медицина. – 2012. – № 2. – С. 101-106.

95. Степаншин Ю.Г. Молекулярные механизмы устойчивости *Mycobacterium tuberculosis* к лекарственным препаратам / Ю.Г. Степаншин, В.Н. Степаншина, И.Г. Шемякин // Антибиотики и химиотерапия. – 1999. – № 4. – С. 39-43.

96. Тодоріко Л.Д. Мультирезистентный туберкулез и ко-инфекция ВИЧ/ТБ: особенности эпидемической ситуации в Украине и Беларуси / Л.Д. Тодорико, В.И. Петренко, С.Б. Вольф, М.М. Кужко, И.С. Гельберг, Е.Н.

Алеско, И.А. Семьянин // Туберкулез, легеневі хвороби, ВІЛ-інфекція. – 2016. – № 3 (26). – С. 10-16.

97. Тодоріко Л.Д. Молекулярно–генетичні аспекти формування резистентності мікобактерій туберкульозу / Л.Д. Тодоріко // Клінічна імунологія. Алергологія. Інфектологія. – 2013. – № 4. – С. 7-10.

98. Тодоріко Л.Д. Оптимізація стандартного режиму хіміотерапії при лікуванні хворих на мультирезистентний туберкулез легень / Л.Д. Тодоріко, І.В. Єременчук // Український пульмонологічний журнал. – 2012. – № 1. – С. 8-12.

99. Тодоріко Л.Д. Резистентність мікобактерій туберкульозу: міфи та реальність / Л.Д. Тодоріко, В.І. Петренко, М.М. Гришин // Туберкулез. Легеневі хвороби. ВІЛ-інфекція. – 2014. – № 1. – С. 60-67.

100. Туберкулез в Российской Федерации / Н.Б. Найговзина, В.Б. Филатов, В.В. Ерохин, В.В. Пунга // Эпидемиология и инфекционные болезни. – 2009. – №3. – С. 4-11.

101. Туберкулез. Особенности течения, возможности фармакотерапии: учеб. пособие для врачей / А.К.Иванов, Т.В.Сологуб, Д.С.Суханов, И.С.Гельберг, С.Б. Вольф и др.; под ред. А.К. Иванова. – СПб.: Тактик-Студио, 2009. – 106 с.

102. Туберкулез в Україні (аналітично-статистичний довідник за 2011-2012 роки)/ за ред.О.К.Толстанова. –К.,2013. –122с.

103. Туберкулез в Україні. Аналітично-статистичний довідник за 2014–2015 рр.: справочное издание / голов.ред. О.К. Толстанов. – К.: [б. и.], 2016. – 97 с.

104. Туберкулез, ВІЛ-інфекція/СНІД: навчальний посібник / за ред. В.Ф. Москаленка, Р.Г. Процюка. – К.: Медицина, 2009. – 424 с.

105. Туберкулез: організація діагностики, лікування, профілактики та контролю за смертністю / Ю.І. Фещенко, В.М. Мельник, Л.В. Турченко, С.В. Лірник. – К.: Здоров'я, 2010. – 447 с.

106. Умпелева Т.В. Генотипирование изолятов *Mycobacterium tuberculosis* группы non-Beijing, циркулирующих в Уральском регионе / Т.В. Умпелева, А.А. Вязовая, М.А. Кравченко // Уральский медицинский журнал. – 2013. – № 2. – С. 150-154.
107. Уніфікований клінічний протокол первинної, вторинної (спеціалізованої) татретинної (високоспеціалізованої) медичної допомоги. Туберкульоз: Наказ МОЗ України від 21.12.2012 №1091.
108. Федорова Л.С. Современные дезинфицирующие средства для обеззараживания объектов в очагах туберкулеза / Л.С. Фёдорова // Нозокомиальная туберкулезная инфекция: тезисы докладов 1-ой Российск. науч.-практ. конф. – М., 2001. – 67 с.
109. Федорова Л.С. Теория и практика совершенствования дезинфицирующих средств / Л.С. Фёдорова. – М.: Медицина, 2006. – 216с.
110. Фещенко Ю.І. Антибіотикорезистентність мікроорганізмів: стан проблеми та шляхи її вирішення / Ю.І. Фещенко, М.І. Гуменюк, О.С. Денисов // Український хіміотерапевтичний журнал. – 2011. – № 1-2. – С. 4–10.
111. Фещенко Ю.І. Організація протитуберкульозної допомоги населенню. Сучасні підходи / Ю.І. Фещенко, В.М. Мельник. – К.: Здоров'я, 2012. – 655 с.
112. Фещенко Ю. І. Епідемія туберкульозу в Україні: історичні аспекти та сучасний стан проблеми / Ю. І. Фещенко, С. А. Черенько // Науковий журнал МОЗ України. – 2012. – № 1 (1). – С. 48-57.
113. Фещенко Ю.І. Сучасна стратегія боротьби з туберкульозом в Україні / Ю.І. Фещенко, В.М. Мельник. – К.: Здоров'я, 2007. – 662 с.
114. Филинюк О.В. Множественно лекарственно-устойчивый туберкулез: факторы риска, причины неудач в лечении / О.В. Филинюк. – Томск: Печ. Мануфактура, 2012. – 123 с.
115. Фтизиатрия. Национальное руководство / под ред. М.И. Перельмана. – М.: ГЭОТАР МЕДИА, 2010. – 512 с.

116. Фтизіатрія: навч. посіб. для студ. вищ. мед. навч. закл. IV рівня акредитації / В.П. Мельник, І.Г. Ільницький, О.В. Панасюк, Л.В. Гутинська, В.О. Панасюк та ін.; за ред. В.П. Мельника, І.Г. Ільницького. – К.; Л. : [б. и.], 2008. – 303 с.
117. Фтизіатрія: підручник для студ. вищ. мед. навч. закл. IV рівня акредитації / В.І. Петренко, В.Ф. Москаленко, Ю.І. Фещенко, М.М. Савула, С.С. Солдатченко; за ред. В.І. Петренка. – Вінниця: Нова кн., 2006. – 503 с.
118. Характеристика *M. tuberculosis* родини Beijing / О.К. Асмолов, М.М. Чеснокова, О.А. Бабурина, О.К. Лобанов // Туберкульоз, легеневі хвороби, ВІЛ-інфекція. – 2013. – № 4. – С. 92-95.
119. Химиотерапия туберкулеза легких / под ред. А.Г. Хоменко. – М.: Медицина, 1980. – 279 с.
120. Частота та профіль медикаментозної резистентності МБТ у хворих на мультирезистентний туберкульоз і туберкульоз із розширеною резистентністю залежно від випадку захворювання, характеру та тривалості попереднього лікування [Текст] / С. О. Черенько [та ін.] // Туб., легеневі хвороби, ВІЛ-інфекція. – 2013. – № 2. – С. 19–25.
121. Чередник Ю.А. Молекулярно–генетическое типирование клинических изолятов *Mycobacterium tuberculosis* в Украине / Ю.А. Чередник, О.В. Аноприенко, Ю.И. Фещенко // Український пульмонологічний журнал. – 2005. – № 4. – С. 66-68.
122. Черняева Е.Н. Биохимические механизмы лекарственной устойчивости *Mycobacterium tuberculosis* / Е.Н. Черняева // Вестник Санкт-Петербургского ун-та. Серия 3: биология. – 2012. – № 2. – С. 77-91.
123. Чеснокова М.М. Особливості перебігу туберкульозу при інфікуванні штамами *M. tuberculosis* родини Beijing/ М.М. Чеснокова. Ю.І. Бажора, Н.А. Левицька // Одеський медичний журнал. – 2009. – № 1. – С. 33-36.
124. Шилова М.В. Организация противотуберкулезной помощи в России и пути модернизации организационно-методического управления диспансерным наблюдением больных туберкулезом в современных

эпидемических и социально-экономических условиях / М.В. Шилова // Туберкулез и болезни легких. – 2011. – № 5. – С. 236–237.

125. Шилова М.В. Туберкулез в России в 2006 году / М.В. Шилова. – М.: ВГПУ, 2011. – 224 с.

126. Actor J.K. Immunopathology of tuberculosis / J.K. Actor, R. Hunter, C. Jagannath // Molecular pathology of lung diseases. – New York: Springer New York, 2008. – P. 419-428.

127. Analysis of undiagnosed tuberculosis-related death side notified at post-mortem among HIV-infected patients in Russia: a descriptive study / Y. Balabanova, V. Tchernyshev, I. Tsigankov, S. Maximova, N. Mikheeva, L. Fedyukovitch, S. Kuznetsov, I. Fedorin, F. Drobniewski // BMC Infect Dis. – 2011. – Vol. 11. – P. 276.

128. Antonenko K.O. Mutations leading to drug-resistant Mycobacterium tuberculosis infection in Ukraine / K.O. Antonenko, V.I. Kresyun, P.B. Antonenko // Central European Journal of Medicine. – 2012. – Vol. 5, №1. – P. 30-35.

129. Asgharzadeh M. IS6110 restriction fragment length polymorphism typing of Mycobacterium tuberculosis isolates from East Azerbaijan Province of Iran / M. Asgharzadeh, K. Shahbadian, J. Majidi et al. // Mem. Inst. Oswaldo. Cruz. – 2006. – Vol. 101. – P. 517-521.

130. Berning S. The role of fluorquinolones in tuberculosis today / S. Berning // Drugs. – 2001. – Vol. 61. – P. 9-18.

131. Clinical outcome of individualized treatment of multidrug-resistant tuberculosis in Latvia: a retrospective cohort study / V. Leimane, V. Riekstina, T. Holtz et al. // Lancet. – 2005. – Vol. 365. – P. 318-26.

132. Community-based therapy for multidrug-resistant tuberculosis in Lima, Peru / C. Mitnick, J. Bayona, E. Palacios et al. // N Engl J Med. – 2003. – Vol. 348. – P. 119-28.

133. Concordance of variable-number tandem repeat (VNTR) and large sequence polymorphism (LSP) analyses of Mycobacterium tuberculosis strains / E. Yokoyama, Y. Hachisu, R. Hashimoto et al. // Infection, Genetics and Evolution:

Journal of Molecular Epidemiology and Evolutionary Genetics in Infectious Diseases. – 2012. – Vol. 10, N 7. – P. 913-918.

134. Cowan L.S. Variable–number tandem repeat typing of *Mycobacterium tuberculosis* isolates with low copy numbers of IS6110 by using mycobacterial interspersed repetitive units / L.S. Cowan, L. Mosher, L. Diem et al. // J. Clin. Microbiol. – 2002. – Vol. 40. – P. 1592-1602.

135. Crane M. Human immunodeficiency virus infection and the liver / M. Crane, D. Iser, S.R. Lewin // World J. Hepatol. – 2012. – Vol. 4, N 3. – P. 91-98.

136. Das Field Stephen K. Bedaquiline for the treatment of multidrug-resistant tuberculosis: great promise or disappointment? / K. Stephen Field // Ther Adv Chronic Dis. – 2015. – № 6 (4). – P. 170-184.

137. Deciphering Epidemic spread of multidrug-resistant tuberculosis in Johannesburg, South Africa / Ben J. Marais, Charmaine K. Mlambo, Nalin Rastogi [et al.] // J Clin Microbiol. – 2013. – №51(6). – P. 1818–1825.

138. Differences among sublineages of the East–Asian lineage of *Mycobacterium tuberculosis* in genotypic clustering / M. Kato-Maeda, E.Y. Kim, L. Flores et al. // The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease: The Official Journal of the International Union Against Tuberculosis and Lung Disease. – 2012. – Vol. 14, N 5. – P. 538-544.

139. Ejele O.A. A comparative study of CD4 positive lymphocyte count and the ESR of HIV sero-positive patients at University of Port Harcourt Teaching Hospital / O.A. Ejele // Pmjumu Pioneer Med.J.Umuahia. – 2012. – Vol. 2, N 1. – P. 13-21.

140. Evaluation and strategy for use of MIRU–VNTR plus, a multifunctional database for online analysis of genotyping data and phylogenetic identification of *Mycobacterium tuberculosis* complex isolates / C. Allix–Beguec, D. Harmsen, T. Weniger et al. // J Clin Microbiol. – 2008. – Vol. 46, N 8. – C. 2692-2699.

141. Evolution and transmission of drug-resistant tuberculosis in a Russian population / N. Casali, V. Nikolayevskyy, Y. Balabanova et al. // Nat Genet. – 2014. – Vol. 26. – P. 38-43.

142. Evaluation Drug-resistant tuberculosis: time for visionary political leadership / I. Abubakar, M. Zignol, D. Falzon [et al.] // *Lancet Infect. Dis.* – 2013. – №13. – P. 529–539.

143. Evaluation of two molecular assays for rapid detection of mycobacterium tuberculosis resistance to fluoroquinolones in high-tuberculosis and –multidrug–resistance settings / I. Kontsevaya, S. Mironova, V. Nikolayevskyy, Y. Balabanova, S. Mitchell, F. Drobniewski // *J Clin Microbiol.* – 2011. – Vol. 49, N 8. – P. 2832-2837.

144. Extensively drug-resistant tuberculosis as a cause of death in patients co-infected with tuberculosis and HIV in a rural area of South Africa / N.R. Gandhi, A. Moll, A.W. Sturm, R. Pawinski, T. Govender, U. Lalloo, K. Zeller, J. Andrews, G. Friedland // *Lancet.* – 2006. – Vol. 368, N 9547. – P. 1575-1580.

145. Extensively drug-resistant tuberculosis, Italy and Germany / G.B. Migliori, J. Ortmann, E. Girardi, G. Besozzi, C. Lange, D.M. Cirillo, M. Ferrarese, G. De Iaco, A. Gori, M.C. Raviglione; SMIRA/TBNET Study Group // *Emerg Infect Dis.* – 2007. – Vol. 13, N 5. – P. 780-782.

146. Filliol I. Global distribution of Mycobacterium tuberculosis spoligotypes / I. Filliol, J.R. Driscoll, D. van Soolgen // *Emerg. Infect. Dis.* – 2002. – Vol. 8, N 11. – P. 1347-1349.

147. Fluoroquinolone resistance in Mycobacterium tuberculosis and mutations in gyrA and gyrB / A. Von Groll, A. Martin, P. Jureen, S. Hoffner, P. Vandamme, F. Portaels, J.C. Palomino, P.A. da Silva // *Antimicrob Agents Chemother.* – 2009. – Vol. 53, N 10. – P. 4498-4500.

148. Fluoroquinolone resistance in Mycobacterium tuberculosis. The effect of duration and timing of fluoroquinolone exposure / R.A. Devasia, A. Blackman, T. Gebretsadik et al. // *Am J Respir Crit Care Med.* – 2009. - Vol. 180. – P. 365-370.

149. Frothingham R, Meeker-O'Connell WA. Genetic diversity in the Mycobacterium tuberculosis complex based on variable numbers of tandem DNA repeats // *Microbiology.*-1998.-Vol.144, № 5.-P.1189-1196

150. Functional and evolutionary genomics of *Mycobacterium tuberculosis*: insights from genomic deletions in 100 strains / A.G. Tsolaki, A.E. Hirsh, K. DeRiemer et al. // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. – 2004. – Vol. 101, N 14. – P. 4865-4870.
151. Genetic variation and evolutionary origin of the direct repeat locus of *Mycobacterium tuberculosis* complex bacteria / Van J. Embden, van T. Gorkom, K. Kremer et al. // *J. Bacteriol.* – 2000. – Vol. 182, N 9. – P. 2393-2401.
152. Genetic variation of *Mycobacterium tuberculosis* circulating in Kharkiv Oblast, Ukraine / Maya A. Dymova, Oleksander O. Liashenko, Petro I. Poteiko, Valeriy S. Krutko, Eugeny A. Khrapov, Maxim L. Filipenko // *BMC Infectious Diseases*. – 2011. – Vol.11. –P. 77-87.
153. Genotyping of the *Mycobacterium tuberculosis* complex using MIRUs: association with VNTR and spoligotyping for molecular epidemiology and evolutionary genetics / C. Sola, I. Filliol, E. Legrand, S. Lesjean et al. // *Infect Genet Evol.* – 2003. – Vol. 3, N 2. – P. 125-133.
154. Global TB Control. WHO report. – Geneva: Switzerland, 2013. – P. 303.
155. Gomez Drug-resistant tuberculosis in the WHO European Region: An analysis of surveillance data / Matteo Zignol, Masoud Dara, Anna S. Dean [et al.] // *Drug Resistance Updates*. – 2013. – Volume 16, Issue 6. – P. 108-115.
156. Honore N. Novel mutation in 16S rRNA associated with streptomycin dependence in *Mycobacterium tuberculosis* / N. Honore, G. Marchal, S.T. Cole // *Antimicrob Agents Chemother.* – 1995. – Vol. 39, N 3. – P. 769-770.
157. Ieremenchuk I. Characteristic heterocyclic compound sand their effecton mycobacterium tuberculosis / I. Ieremenchuk, L. Todoriko // *Український журнал гематології та трансфузіології*. – 2012. – N 4. – С. 473.
158. Insertion element IS986 from *Mycobacterium tuberculosis*: a useful tool for diagnosis and epidemiology of tuberculosis / P.W. Hermans, van D. Soolingen, J.W. Dale et al. // *J. Clin. Microbiol.* – 1990. – Vol. 28, N 9. – P. 2051-2058.

159. Intervening sequences of regularly spaced prokaryotic repeats derive from foreign genetic elements / F.J.M. Mojica, C. Diez-Villasenor, J. Garcia-Martinez et al. // *J. Mol. Evol.* – 2005. – Vol. 60, N 2. – P. 174-182.
160. IS6110 functions as a mobile, monocyte activated promoter in *Mycobacterium tuberculosis* / H. Safi, P.F. Barnes, D.L. Lakey et al. // *Mol. Microbiol.* – 2004. – Vol. 52, N 4. – P. 999-1012.
161. IS6110, an IS-like element of *Mycobacterium tuberculosis* complex / D. Thierry, M.D. Cave, K.D. Eisenach et al. // *Nucleic Acids Res.* – 1990. – Vol. 18, N 1. – P. 188.
162. Joseph B.V. Molecular epidemiology of *Mycobacterium tuberculosis* isolates from Kerala, India using IS6110–RFLP, spoligotyping and MIRU–VNTRs / B.V. Joseph, S. Soman, I. Radhakrishnan et al. // *Infect. Genet. Evol.* – 2013. – Vol. 16. – P. 157-164.
163. Kamerbeek Alberto M. Extensively drug-resistant tuberculosis: epidemiology and management / Alberto Matteelli, Alberto Roggi, Anna C.C. Carvalho // *Clinical Epidemiology.* – 2014. – № 6. – P. 111–118.
164. Kanduma E. Molecular methods for *Mycobacterium tuberculosis* strain typing: a users guide / E. Kanduma, T.D. McHugh, S.H. Gillespie // *J Appl Microbiol.* – 2012. – Vol. 94, N 5. – P. 781-91.
165. Kozlov R. Current and future issues in resistance of respiratory pathogens: is the horizon still bright/ R.Kozlov// 20th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Disease. –Vienna, Austria,10-13April, 2010. –P.173.
166. Kremer K. Comparison of methods based on different molecular epidemiological markers for typing of *Mycobacterium tuberculosis* complex strains: interlaboratory study of discriminatory power and reproducibility / K. Kremer, D. van Soolingen, R. Frothingham et al. // *J. Clin. Microbiol.* – 1999. – Vol. 37, N 8. – P. 2607-2618.
167. Leimane V. Tuberculosis control in Latvia: integrated DOTS and DOTS Plus program / V. Leimane, J. Leimans // *Euro Surveil.* – 2006. – Vol. 11. – P.29-33.

168. Linkage disequilibrium between minisatellite loci supports clonal evolution of *Mycobacterium tuberculosis* in a high tuberculosis incidence area / P. Supply, R.M. Warren, A.L. Banuls et al. // *Mol Microbiol.* – 2003. – Vol. 47, N 2. – P. 529-538.
169. Low antitubercular drug levels in newly infected normal hosts / Jiaranai Khantipongse, Kowit Nambunmee, Sunisa Siri [et al.] // *Asian Biomedicine.* – 2013. – V. 7. – № 3. – P. 407-410.
170. Lu B. Genetic diversity of *Mycobacterium tuberculosis* isolates from Beijing, China assessed by Spoligotyping, LSPs and VNTR profiles / B. Lu, P. Zhao, B. Liu et al. // *BMC Infectious Diseases.* – 2012. – Vol. 12. – P. 372.
171. Malik A.N. Effects of genetic variability of *Mycobacterium tuberculosis* strains on the presentation of disease / A.N. Malik, P. Godfrey-Faussett // *Lancet Infect Dis.* – 2005. – Vol. 5(3). – P. 174-83.
172. Maus C.E. Mutation of *tlyA* confers capreomycin resistance in *Mycobacterium tuberculosis* / C.E. Maus, B.B. Plikaytis, T.M. Shinnick // *Antimicrob Agents Chemother.* – 2005. – Vol. 49, N 2. – P. 571-577.
173. Miller T.I. Metabolic abnormalities and viral replication are associated with biomarkers of vascular dysfunction in HIV infected children / T.I. Miller // *HIV Med.* – 2012. – N 5. – P. 264-275.
174. Mishin V.Y. Chemotherapy efficacy in TB patients resistant to major and reserve drugs. In: Abstracts 15th ERS annual congress / V.Y. Mishin. – Copenhagen; 2005. – 392 p.
175. Molecular characterization of multiple-drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* isolates from Northwestern Russia and analysis of rifampin resistance using RNA/RNA mismatch analysis as compared to the line probe assay and sequencing of the *rpoB* gene / I.V. Mokrousov, I. Filliol, E. Legrand, C. Sola, T. Otten, E. Vyshnevskaya, E. Limeschenko, B. Vyshnevskiy, O. Narvskaya, N. Rastogi // *Research in Microbiology.* – 2002. – Vol. 153, N 4. – P. 213-219.
176. Molecular epidemiology and prevalence of mutations conferring rifampicin and isoniazid resistance in *Mycobacterium tuberculosis* strains from the

southern Ukraine / V.V. Nikolayevskyy, T. J. Brown, Y. I. Bazhora, A. A. Asmolov, Y. M. Balabanova, F.A. Drobniewski // *Clin Microbiol Infect.* – 2007. – Vol. 13. – P. 129-138.

177. Molecular epidemiology of tuberculosis: current insights / B. Mathema, N.E. Kurepina, P.J. Bifani et al. // *Clin. Microbiol. Rev.* – 2006. – Vol. 19, N 4. – P. 658-685.

178. Moxifloxacin versus ethambutol in the initial treatment of tuberculosis: a double-blind, randomised, controlled phase II trial / M.B Conde, A. Efron, C. Loreda et al. // *Lancet.* – 2009. – Vol. 373. – P. 1183-1189.

179. Musser J.M. Antimicrobial agent resistance in mycobacteria: molecular genetic in-sights / J.M. Musser // *Clin Microbiol Rev.* – 1995. – Vol. 8, N 4. –P. 496-514.

180. Mutations at amino acid position 315 of the *katG* gene are associated with high-level resistance to isoniazid, other drug resistance, and successful transmission of *Mycobacterium tuberculosis* in the Netherlands / D. van Soolingen, P.E. de Haas, H.R. van Doorn, E. Kuijper, H. Rinder, M.W. Borgdorff // *J Infect Dis.* – 2000. – Vol. 182, N 6. – P. 1788-1790.

181. Novel gyrase mutations in quinolone-resistant and hypersusceptible clinical isolates of *Mycobacterium tuberculosis*: functional analysis of mutant enzymes / A. Aubry, N. Veziris, E. Cambau, C. Truffot-Pernot, V. Jarlier, L. M. Fisher // *Antimicrob Agents Chemother.* – 2006. – Vol. 50, N 1. – P. 104-112.

182. 125 years after Robert Koch's discovery of the tubercle bacillus: the new XDR-TB threat. Is "science" enough to tackle the epidemic? / G.B. Migliori, R. Loddenkemper, F. Blasi, M.C. Raviglione // *Eur. Respir J.* – 2007. – Vol. 29. – P. 423-427.

183. Origin, spread and demography of the *Mycobacterium tuberculosis* complex / T. Wirth, F. Hildebrand, C. Allix-Beguec et al. // *PLoS Pathog.* – 2008. – Vol. 4, N 9. – P. 1000160.

184. Overexpression of the chromosomally encoded aminoglyco-side acetyltransferase *eis* confers kanamycin resistance in *Mycobacterium tuberculosis* /

M.A. Zaunbrecher, R.D. Sikes Jr, B. Metchock, T.M. Shinnick, J.E. Posey // *Proc Natl Acad Sci USA*. – 2009. – Vol. 106, N 47. – P. 20004-20009.

185. Parida S.K. Novel tuberculosis vaccines on the horizon / S.K. Parida, S.H.E. Kaufmann // *Curr. Opin. Immunol.* – 2011. – Vol. 22 (3). – P. 374-384.

186. Perfection of chemoresistance pulmonary tuberculosis treatment program in patients with functional insufficiency small bowel / L.D. Todoriko, I.V. Ieremenchuk, V.P. Shapovalov et al. // «European Innovation Convention». Proceedings of the 1–st International scientific conference (20-21 December, 2013). «East West» Association for Advanced Studies and Higher Education. – GmbH. Vienna, 2013. – P. 73-75.

187. Performance of Cepheid ® XpertMTB/RIF ® and TB–Biochip® MDR in two regions of Russia with a high prevalence of drug-resistant tuberculosis/ E.V. Kurbatova, D.A. Kaminski, V.V. Erokhin et al. // *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. – 2013. – Vol. 32, N 6. – P. 735-743.

188. Prevalence of fluoroquinolone resistance among tuberculosis patients in Shanghai, China / P. Xu, X. Li, M. Zhao et al. // *Antimicrob Agents Chemother*. – 2009. – Vol. 53. – P. 3170-3172.

189. Proposal for Standardization of Optimized Mycobacterial Interspersed Repetitive Unit-Variable-Number Tandem Repeat Typing of Mycobacterium tuberculosis / P. Supply, C. Allix, S. Lesjean et al. // *J. Clin. Microbiol.* – 2006. – Vol. 44, N 12. – P. 4498-4510.

190. Prospective universal application of mycobacterial interspersed repetitive-unit-variable-number tandem-repeat genotyping to characterize Mycobacterium tuberculosis isolates for fast identification of clustered and orphan cases / N. Alonso-Rodriguez, M. Martínez-Lirola, M.L. Sánchez et al. // *J Clin Microbiol*. – 2009. – Vol. 47, N. 7. – P. 2026-2031.

191. Ralph A.P. Tuberculosis into the 2010-s: Is the glass half full? / A.P. Ralph, N.M. Anstey, P.M. Kelly // *CID*. – 2009. – Vol. 49. – P. 574-583.

192. Re-annotation of the genome sequence of *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv / J.C. Camus, M.J. Pryor, C. Medigue, S.T. Cole // *Microbiology*. – 2002. – Vol. 148 (Pt 10). – P. 2967-73.
193. Recent nosocomial transmission and genotypes of multi-drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* / A. Nodieva, I. Jansone, L. Broka et al. // *Int. J. Tuberc. Lung Dis*. – 2012. – Vol. 14. – P. 427-433.
194. Resistance to First-Line Anti-TB Drugs Is Associated with Reduced Nitric Oxide Susceptibility in *Mycobacterium tuberculosis* / J. Idh. M. Mckonnen, E. Abate et al. // *PLoS One*. – 2012. – Vol. 7, N 6. – P. 39891.
195. Retrospective analysis of the Beijing family of *Myco-bacterium tuberculosis* in preserved lung tissues / L. Qian, J.D.V. Embden, A.G.V.D. Zanden et al. // *J. Clin. Microbiol*. – 1999. – Vol. 37, N 2. – P. 471-474.
196. Rifampicin resistance and mutation of the *rpoB* gene in *Mycobacterium tuberculosis* / H. Taniguchi, H. Aramaki, Y. Nikaido, Y. Mizuguchi, M. Nakamura, T. Koga, S. Yoshida // *FEMS Microbiol. Lett*. – 1996. – Vol. 144, N 1. – P. 103-108.
197. Rozo-Anaya J.C. Molecular tools for *Mycobacterium tuberculosis* genotyping / J. C. Rozo-Anaya, W. Ribón // *Rev. salud pública*. – 2012. – Vol. 12, N 3. – P. 510-521.
198. SITVITWEB – A publicly available international multi-marker database for studying *Mycobacterium tuberculosis* genetic diversity and molecular epidemiology / C. Demaya, B. Liensa, T. Burguierea et al. // *Infection, Genetics and Evolution*. – 2012. – Vol. 12 – P. 755-766.
199. Skenders G. Multidrug-resistant tuberculosis detection / G. Skenders // *Latvia. Emerg Infect Dis* . – 2005. – Vol. 11. – P. 1461-3.
200. Slayden R. A. The genetics and biochemistry of isoniazid resistance in *mycobacterium tuberculosis* / R.A. Slayden, C.E. Barry // *Microbes Infect*. – 2000. – Vol. 2, N 6. – P. 659-669.
201. Supply P. Proposal for Standardization of Optimized *Mycobacterial* Interspersed Repetitive Unit-Variable-Number Tandem Repeat Typing of

Mycobacterium tuberculosis / P. Supply, C. Allix, S. Lesjean et al. // J. Clin. Microbiol. – 2006. – N 44. – P. 4498-4510.

202. Surveillance of drug-resistant tuberculosis in the state of Gujarat, India. / R. Ramachandran, S. Nalini, V. Chandrasekar et al. // Int J Tuberc Lung Dis. – 2009. – Vol. 13. – P. 1154-1160.

203. The diarylquinoline TMC207 for multidrug-resistant tuberculosis / A.H. Diacon, A. Pym, M. Grobusch et al. // N Engl J Med. – 2009. – Vol. 360. – P. 2397-2405.

204. Treatment outcome and mortality among patients with multidrug-resistant tuberculosis in tuberculosis hospitals of the public sector / D. S. Jeon, Dong Ok Shin, Seung Kyu Park [et al.] // J. Korean Med. Sci. – 2011. – V. 26. – P. 33-41.

205. Van Soolingen D. Predominance of a single genotype of *Mycobacterium tuberculosis* in countries of East Asia / D. van Soolingen, L. Qian, P.E.W. de Haas et al. // J. Clin. Microbiol. – 1995. – Vol. 33. – P. 3234-3238.

206. Variable-number tandem repeats typing of *Mycobacterium tuberculosis* isolates with low copy numbers of IS6110 in Thailand / A. Thong-On, N. Smittipat, T. Juthayothin et al. // Tuberculosis (Edinb). – 2012. – Vol. 90, N 1. – P. 9-15.

207. WHO Anti-tuberculosis drug resistance in the world: fourth global report / World Health Organization // Geneva, Switzerland. – 2008. – 151 p.

208. World Health Organization, Stop TB Partnership [электронный ресурс]. – Geneva, Switzerland: WHO, 2012. – Режим доступа: <http://www.newtbdrugs.org/pipeline.php> Accessed December 2012.

209. World Health Organization. Global Tuberculosis Control report. WHO report. – 2015. – Geneva, Switzerland. – 273 p.

210. Xavier A. S. Delamanid: A new armor in combating drug-resistant tuberculosis / A. S. Xavier, M. Lakshmanan // J Pharmacol Pharmacother. – 2014. – № 5 (3). – P. 222-224.

211. Zhang Y. Mechanisms of drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis* / Y. Zhang, W.W. Yew // Int J Tuberc Lung Dis. – 2009. – Vol. 13. – P.1320-1330.

ДОДАТОК А
КОПІЇ АКТІВ ВПРОВАДЖЕННЯ

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
 Професор науки й роботи ХМАПО
 д.м.н., професор О.В.Більченко
 «_____» _____ 2014 рік.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Найменування пропозицій для впровадження: Виявлення контамінації генотипу мікобактерій туберкульозу VNTR – методом
2. Заклад-розробник, поштова адреса: ННЦ «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини» Україна, г. Харків, вул. Пушкінська, 83
3. Джерело інформації: Бажора Ю.И., Кресюк В.И., Фелценко Ю.И. и др // Молекулярно-генетические механизмы туберкулезной инфекции. – 2005. – О.: Одес.мед. ун-т. – С.296
4. Впроваджено: Виявлення контамінації генотипу мікобактерій туберкульозу VNTR – методом
5. Де впроваджено: науковий процес кафедри фтизіатрії та пульмонології ХМАПО
6. Строки впровадження: Січень-грудень 2014 р.
7. Загальна кількість спостережень: 105
8. Ефективність впровадження: Підвищення виявлення генотипу мікобактерій туберкульозу у хворих на туберкульоз

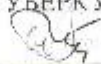
Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри фтизіатрії і пульмонології ХМАПО,
 кандидат медичних наук, доцент


 Потейко І.І.

ЗАТВЕРДЖУЮ»

Головний лікар КЗОЗ «ОБЛАСНА
ТУБЕРКУЛЬОЗНА ЛІКАРНЯ №1»



І.М. Кузнецова

« 25 » грудня 2014 рік

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Найменування пропозицій для впровадження: Виявлення мікобактерій туберкульозу в мокротинні у хворих на туберкульоз легень ПЛР – методом
2. Заклад-розробник, поштова адреса: ІІЩ «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини» Україна, г. Харків, вул. Пушкінська, 83
3. Джерело інформації: Бажора Ю.І., Часникова М.М., Польова С.І., Левицька І.А. // 55. Молекулярна епідеміологія туберкульозу. – 2010. – № 2.
4. Впроваджено: Виявлення мікобактерій туберкульозу в мокротинні у хворих на туберкульоз легень ПЛР - методом
5. Де впроваджено: КЗОЗ «ОГЛ №1»
6. Строки впровадження: Січень-грудень 2014 р.
7. Загальна кількість спостережень: 55
8. Ефективність впровадження: Підвищення виявлення мікобактерій туберкульозу в мокротинні у хворих на туберкульоз

Відповідальний за впровадження:

Заступник головного лікаря
з медичної частини

КЗОЗ «Обласна туберкульозна лікарня №1»



Т.О. Сinenко

ЗАТВЕРДЖУЮ»

Головний лікар КЗОЗ «ОБЛАСНА
ТУБЕРКУЛЬОЗНА ЛІКАРНЯ №3»

Є.І. Кулік

« » 2014 рік

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Найменування пропозицій для впровадження: Виявлення мікобактерій туберкульозу в мокротинні у хворих на туберкульоз легень ПЛР – методом
2. Заклад-розробник, поштова адреса: ННЦ «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини» Україна, г. Харків, вул. Пушкінська, 83
3. Джерело інформації: Бажора Ю.І., Часникова М.М., Польова С.П., Левицька І.А. // 55. Молекулярна епідеміологія туберкульозу. – 2010. – № 2.
4. Впроваджено: Виявлення мікобактерій туберкульозу в мокротинні у хворих на туберкульоз легень ПЛР – методом
5. Де впроваджено: ОТЛ №3
6. Строки впровадження: Січень-грудень 2014 р.
7. Загальна кількість спостережень: 55
8. Ефективність впровадження: Підвищення виявлення мікобактерій туберкульозу в мокротинні у хворих на туберкульоз

Відповідальний за впровадження:

Завідувач 2-м відділенням

КЗОЗ «Обласна туберкульозна лікарня №3»



П.В. Трохлебова



ЗАТВЕРДЖУЮ»

Директор-головний лікар ОКПТД №7

І.П. Сьома

« 25 » грудня

2014 рік.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Найменування пропозицій для впровадження: Виявлення мікобактерій туберкульозу в мокротинні у хворих на туберкульоз легень ЦЛР – методом
2. Заклад-розробник, поштова адреса: ННЦ «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини» Україна, г. Харків, вул. Пушкінська, 83
3. Джерело інформації: Бажора Ю.І., Часникова М.М., Польова С.П., Левницька І.А. // 55. Молекулярна епідеміологія туберкульозу. – 2010. – № 2.
4. Впроваджено: Виявлення мікобактерій туберкульозу в мокротинні у хворих на туберкульоз легень ЦЛР - методом
5. Де впроваджено: ОКПТД №7
6. Строки впровадження: Січень-грудень 2014 р.
7. Загальна кількість спостережень: 55
8. Ефективність впровадження: Підвищення виявлення мікобактерій туберкульозу в мокротинні у хворих на туберкульоз

Відповідальний за впровадження:

Заступник головного лікаря

з лікувальної роботи

КЗОЗ «Обласний клінічний

протитуберкульозний диспансер №7»

О.В. Ширанова