



УДК 616.24:616.98:579.873.21

КЛИНИКО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ТУБЕРКУЛЕЗА, ВЫЗЫВАЕМОГО *Mycobacterium tuberculosis* ПОДТИПА B0/W148 ГЕНЕТИЧЕСКОГО СЕМЕЙСТВА BEIJING

Слизень В. В., Суркова Л. К., Иванова А. Л.

Государственное учреждение

«Республиканский научно-практический центр пульмонологии и фтизиатрии»,
г. Минск, Республика Беларусь

Реферат. Проведен ретроспективный анализ клинического течения и эпидемиологических особенностей туберкулеза легких, вызываемого *M. tuberculosis* подтипа B0/W148 генотипа Beijing. В исследовании включены 152 пациента с туберкулезом легких, проходивших стационарный курс лечения в период с 2016 по 2018 г.

Для выявления генотипа Beijing использовали мультиплексную ПЦР в реальном времени с парными флюоресцирующими зондами R6G (для детекции генотипа Beijing) и FAM (для суммарной детекции других генотипов). Для выявления B0/W148 применяли стандартную ПЦР с праймерами INS1, RV26G5R, W139F2.

Установлено, что *M. tuberculosis* генетического семейства Beijing и его подтипа B0/W148 широко распространены на территории республики, наибольшая частота выделения подтипа B0/W148 генотипа Beijing была зарегистрирована в г. Минске — 44,5 % ($p < 0,05$). Этому подтипу свойственна активная экспансия среди лиц молодого возраста: подтип B0/W148 генотипа Beijing чаще инфицировал женщин в возрастной группе 21–30 лет (10,84 %, $p < 0,024$). Установлена более высокая частота встречаемости *M. tuberculosis* с множественной лекарственной устойчивостью ($18,1 \pm 8,5$) среди пациентов, у которых туберкулез был вызван подтипом B0/W148 генотипа Beijing, по сравнению с пациентами, у которых выделяли другие генотипы — $7,7 \pm 8,5$ %.

Ключевые слова: *M. tuberculosis*, генотип Beijing, подтип B0/W148, множественно и широко лекарственно устойчивый туберкулез.

Введение. Популяция возбудителя туберкулеза насчитывает более 20 генетических семейств, среди которых в большинстве стран постсоветского пространства доминирует эпидемически значимый генотип Beijing, на долю которого приходится от 50 до 80 % всех изолятов [5].

Особенности распространения генотипов *M. tuberculosis*, наличие ассоциации между отдельными семействами и профилем лекарственной устойчивости варьирует в зависимости от региональных географических особенностей [4].

Генетическое семейство Beijing подразделяется на 11 субтипов, из которых два эпидемических субтипа CC1 (CentralAsia) и CC2-B0/W148 (Europa-Russia) встречаются на территории РФ и стран бывшего Советского Союза. Из них подтип B0/W148 является наиболее распространенным вариантом генотипа Beijing [1–3].

Частота встречаемости штаммов этого подтипа на территории Республики Беларусь и его клинико-эпидемиологическое значение изучены недостаточно.

Цель работы — изучение клинико-эпидемиологического значения и профиля ле-

карственной устойчивости штаммов подтипа B0/W148 генетического семейства Beijing *M. tuberculosis* в Республике Беларусь.

Материалы и методы. Проведен ретроспективный анализ результатов генотипирования клинических изолятов *M. tuberculosis* у 152 пациентов (мужчин — 105, женщин — 47) с туберкулезом легких, постоянных жителей Беларуси и проходивших стационарный курс лечения в РНПЦ пульмонологии и фтизиатрии в период с 2016 по 2018 г.

Средний возраст мужчин составил $43,66 \pm 1,23$, женщин — $35,52 \pm 1,8$ лет. С впервые выявленным туберкулезом легких было 70 пациентов, с рецидивами — 18, после первого неэффективного лечения — 16, после второго неэффективного лечения — 19, после перерыва — 2, прибывших — 1, с переводом из других категорий — 1, других, в том числе не получавших лечение, было 25 пациентов.

Все штаммы *M. tuberculosis* были исследованы на принадлежность к генотипу Beijing и его подтипу B0/W148 и суммарно к другим генотипам (non-Beijing).

Для выявления генотипа Beijing использовали мультиплексную ПЦР-РВ с парными флюоресцирующими зондами, меченными флюорохромами R6G (для детекции генотипа Beijing) и FAM (для суммарной детекции других генотипов). Для выявления подтипа B0/W148 применяли стандартную ПЦР с праймерами INS1, RV26G5R, W139F2 [6].

Фенотипическую лекарственную устойчивость *M.tuberculosis* определяли культуральным методом на плотной питательной среде (метод абсолютных концентраций) и в жидкой среде в автоматизированной системе Bactec MGIT 960 (Becton Dickinson, США) и молекулярно-генетическими методами: тест Xpert MTB/Rif (Chepheid, США) и гибридационные линейные тесты (тест-системы GenoType MTBDR plus, GenoType MTBDRsl, Hain Life Science, Германия).

Для изучения клинико-эпидемиологических особенностей туберкулеза легких пациенты были распределены на 3 группы: 1-я группа включала 30 пациентов, у которых были выделены штаммы *M.tuberculosis* генотипа Beijing, 2-я группа включала 83 пациента, у которых определялись штаммы кластера B0/W148 генотипа Beijing, 3-я группа (сравнения) включала 39 пациентов, у которых выделялись *M. tuberculosis* других (non-Beijing) генотипов. При проведении анализа использовались данные Республиканского государственного регистра «Туберкулез».

Статистическую обработку результатов исследования проводили с помощью пакета прикладных программ Statistica 10.0. Использовали метод доверительных интервалов и критерий χ^2 Пирсона. Различия в сравниваемых группах считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. В результате проведенных исследований установлена более высокая частота встречаемости подтипа B0/W148 генотипа Beijing среди впервые выявленных пациентов с туберкулезом легких. У 59 % (49/83) ($\chi^2 = 5,42, p < 0,05$) впервые выявленных пациентов туберкулез был обусловлен подтипом B0/W148, в то время как у 26,7 (8/30) и 33,3 % (13/39) был обусловлен другими подтипами генотипа Beijing и другими генотипами соответственно (таблица 1).

Отмечались значимые различия в частоте выделения подтипа B0/W148 генотипа Beijing в когортах пациентов с рецидивами туберкулеза ($p < 0,01$), а также после первого и повторного неэффективного лечения ($p < 0,01$) по сравнению с группой впервые выявленных пациентов. Подтип B0/W148 реже приводил к рецидивированию в сравнении с остальными подтипами Beijing. Частота встречаемости его

среди пациентов с неудачным первым и вторым лечением составляла 8,4 и 9,6 %, что не имело достоверных отличий с остальными подтипами Beijing и другими генотипами. Подтип B0/W148 реже выявлялся бактериоскопически в сравнении с другими подтипами Beijing.

M.tuberculosis подтипа B0/W148 генотипа Beijing встречались во всех административных регионах страны, но частота встречаемости этого типа варьировала в разных регионах — от 3,6 % (в Витебской и Гродненской областях) до 15,66% в Минской области, ($p < 0,001$) и до 44,6 % в г. Минске (таблица 2). Трансмиссия подтипа B0/W148 Beijing была более активной в г. Минске по сравнению с другими генотипами. Штаммы B0/W148 генотипа Beijing *M.tuberculosis* определялись среди клинических изолятов пациентов г. Минска достоверно чаще по сравнению с частотой встречаемости других генотипов (44,5 % против 23,07%, $p < 0,05$). В Гродненской, Могилевской и Витебской областях достоверно более активно идет распространение других генетических клонов, чем Beijing B0/W148.

Остальные подтипы генотипа Beijing также были распространены во всех областях республики, но чаще встречались в Минской области и г. Минске — 30,0 и 26,7 % соответственно.

Подтип B0/W148 генотипа Beijing чаще встречался среди возрастной группы 0–20, чем другие генетические варианты *M.tuberculosis* (у 12 из 15 пациентов определялся этот тип). Выявлено доминирование подтипа B0/W148 генотипа Beijing среди изолятов, выделяемых от женщин, страдающих туберкулезом легких, в возрастной группе 21–30 лет по сравнению с мужчинами этой же возрастной группы — 10,8 и 2,4 % ($\chi^2 = 4,77, p < 0,024$) соответственно. В этой возрастной группе среди женщин идет более активное распространение B0/W148, по сравнению с другими генетическими вариантами *M.tuberculosis*. В возрастных группах 31–40, 41–50 лет подтип B0/W148 генотипа Beijing чаще встречается среди мужчин, чем среди женщин — 27,7 против 7,2 % ($\chi^2 = 14,7$) и 19,3 против 1,2 % ($\chi^2 = 12,1$) соответственно, для возрастной группы 51–60 лет также характерно более частое распространение B0/W148 среди мужчин ($\chi^2 = 5,8$). В возрастной группе 31–40 лет более часто распространяются другие подтипы генотипа Beijing, чем в других возрастных группах. Частота встречаемости *M.tuberculosis* других генотипов (non-Beijing), была выше у мужчин в возрастной группе 41–50 лет (12/39; 30,7 %), по сравнению с другими возрастными группами (таблица 3).

Таблица 1 — Клиническая характеристика туберкулеза легких, вызванного *M.tuberculosis* разных генотипов

Показатель	Новые выявлен-ные пациенты		Резидив		После 1-го не-эффективного лечения		После повтор-ного неэффе-ктивного лече-ния		Другие, в т.ч. не получ. этио-троп. лечение		Пациенты пе-реведены из других катего-рий		Пациенты по-сле перерыва в лечении		Пациенты, прибывшие из других органи-заций здраво-охранения		ТОД подерж-лен бактерио-скопически		ТОД подерж-лен только ро-стом культуры		ТОД подерж-лен результа-ми микологии		
	абс	%	абс	%	абс	%	абс	%	абс	%	абс	%	абс	%	абс	%	абс	%	абс	%	абс	%	
(1) Beijing (n = 30)	8	26,7	5	16,7	3	10,0	4	13,3	9	30,0	—	—	—	—	1	3,3	23	76,6	7	23,3	0	—	
95% ДИ	—	10,8–42,5	—	3,3–30,0	—	0,7–20,7	—	1,2–25,5	—	13,6–46,4	—	—	—	—	—	3,1–9,8	—	61,4–91,8	—	8,2–38,5	—	—	
(2) B0/W148 Beijing (n = 83)	49	59,0	8	9,6	7	8,4	8	9,6	10	12,0	1	1,2	—	—	—	—	45	54,2	33	39,8	5	6,0	
95% ДИ	—	48,4–69,6	—	3,3–16,0	—	2,5–14,4	—	3,3–16,0	—	5,0–19,0	—	–1,1–3,5	—	—	—	—	—	—	43,5–64,9	—	29,2–50,3	—	0,9–11,1
(3) non-Beijing (n = 39)	13	33,3	5	12,8	6	15,4	7	17,9	6	15,4	—	—	2	5,1	—	—	28	71,8	10	25,6	1	2,6	
95% ДИ	—	18,5–48,1	—	2,3–23,3	—	4,1–26,7	—	5,9–30,0	—	4,1–26,7	—	—	—	—	—	—	—	—	57,7–85,9	—	11,9–39,3	—	–2,3–7,5
P ₁₋₂	0,003		0,302		0,796		0,574		0,025		—	—	—	—	—	—	0,032		0,107		0,170		
P ₁₋₃	0,551		0,653		0,511		0,604		0,145		—	—	—	—	—	—	0,648		0,826		0,377		
P ₂₋₃	0,009		0,596		0,246		0,193		0,611		—	—	—	—	—	—	0,065		0,128		0,410		

 Таблица 2 — Частота встречаемости разных генотипов *M.tuberculosis* в клинических изолятах пациентов с туберкулезом легких в период 2016–2018 гг.

Генотип	г. Минск		Минская обл.		Брестская обл.		Гродненская обл.		Могилевская обл.		Гомельская обл.		Витебская обл.		БОМЖ	
	абс	%	абс	%	абс	%	абс	%	абс	%	абс	%	абс	%	абс	%
(1) Beijing (n = 30)	8	26,7	9	30,0	1	3,3	1	3,3	3	10,0	5	16,7	2	6,7	1	3,3
95% ДИ	—	10,8–42,5	—	13,6–46,4	—	–3,1–9,8	—	–3,1–9,8	—	–0,7–20,7	—	3,3–30,0	—	–2,3–15,6	—	–3,1–9,8

(2) B0/W148 Beijing (n = 83)	37	44,57	13	15,7	11	13,25	3	3,61	4	4,81	7	8,4	3	3,61	3	3,6
95% ДИ		33,9–55,3		7,8–23,5		6,0–20,5		-0,4–7,6		0,2–9,4		2,5–14,4		-0,4–7,6		-0,4–7,6
(3) non-Beijing (n = 39)	9	23,1	5	12,8	3	7,7	5	12,8	6	15,4	2	5,1	6	15,4	3	7,7
95% ДИ		9,8–36,3		2,3–23,3		-0,7–16,1		2,3–23,3		4,1–26,7		-1,8–12,0		4,1–26,7		-0,7–16,1
P_{1-2}		0,086		0,09		0,131		0,944		0,314		0,21		0,486		0,944
P_{1-3}		0,732		0,079		0,443		0,166		0,511		0,116		0,263		0,443
P_{2-3}		0,023		0,68		0,369		0,056		0,048		0,515		0,021		0,332

Таблица 3 — Частота встречаемости разных генетических вариантов *M.tuberculosis* в период 2016–2018 гг. в зависимости от пола и возраста (n = 152)

Генотип	Пол	Возраст													
		0–20		21–30		31–40		41–50		51–60		61–70		71–80	
Beijing n = 30	(1) жен	абс	%	абс	%	абс	%	абс	%	абс	%	абс	%	абс	%
	(2) муж	1	3,3	0	0	8	26,6	2	6,6	–	–	–	–	–	–
B0/W148 n = 83	(3) жен	6	7,3	9	10,8	6	7,2	1	1,2	1	1,2	2	2,4	–	–
	(4) муж	6	7,3	2	2,4	23	27,7	16	19,3	8	9,6	–	–	3	3,6
Non-Beijingn = 39	(5) жен	1	2,6	1	2,6	1	2,6	5	12,8	2	5,1	1	2,6	–	–
	(6) муж	–	–	1	2,6	5	2,8	12	30,7	6	15,4	4	10,3	–	–
$\chi^2, (P_{1-3})$		0,575		3,535		7,670		2,544		0,365		0,736		–	
		0,449		0,061		0,006		0,111		0,546		0,391		–	
$\chi^2, (P_{1-5})$		0,036		0,781		8,685		0,704		1,584		0,781		–	
		0,851		0,377		0,004		0,402		0,209		0,377		–	
$\chi^2, (P_{3-5})$		1,068		2,417		1,068		7,656		1,703		0,003		–	
		0,302		0,121		0,302		0,006		0,192		0,960		–	
$\chi^2, (P_{1-2})$		0,00		1,017		0,373		0,218		6,667		0,373		–	
		1,00		0,314		0,542		0,641		0,010		0,218		–	

Окончание табл. 3

Генотип	Пол	Возраст													
		0–20		21–30		31–40		41–50		51–60		61–70		71–80	
		абс	%	абс	%	абс	%	абс	%	абс	%	абс	%	абс	%
χ^2 , (P _{3–4})		0,00		4,771		12,075		14,745		5,757		2,024		3,055	
		1,00		0,029		<0,001		<0,001		0,017		0,155		0,081	
χ^2 , (P _{5–6})		1,013		0,00		2,889		3,686		2,229		1,923		–	
		0,315		1,00		0,090		0,055		0,136		0,166		–	
χ^2 , (P _{2–4})		0,575		0,073		0,687		1,356		2,179		5,633		1,114	
		0,449		0,788		0,408		0,245		0,140		0,018		0,292	
χ^2 , (P _{2–6})		1,319		0,036		0,652		4,299		0,251		0,275		–	
		0,251		0,851		0,420		0,039		0,617		0,600		–	
χ^2 , (P _{4–6})		2,965		0,003		3,327		1,982		0,862		8,801		1,445	
		0,086		0,960		0,069		0,160		0,354		0,004		0,230	

Установлена более высокая частота встречаемости *M.tuberculosis* с множественной лекарственной устойчивостью ($18,1 \pm 8,5$) среди пациентов, у которых туберкулез был вызван подтипом B0/W148 генотипа Beijing, по сравнению с пациентами, у которых выделяли другие генотипы — $7,7 \pm 8,5$ % (таблица 4).

Доля пре-ШЛУ, ШЛУ среди *M.tuberculosis* подтипа B0/W148, других подтипов генотипа Beijing и других генотипов сравнима.

Заключение. Ретроспективный анализ клинического течения и эпидемиологических особенностей туберкулеза легких у 152 пациентов, проходивших стационарный курс лечения в период с 2016 по 2018 г. и у которых выделяли *M.tuberculosis* подтипа B0/W148 генотипа Beijing, позволил установить, что *M.tuberculosis* подтипа B0/W148 генотипа Beijing присутствуют во всех регионах страны, но наиболее активное распространение получает в г. Минске. Этот подтип реже выявляется при бактериоскопии у половины пациентов (54,2 %), в то время как туберкулез, вызываемый другими подтипами Beijing и другими генотипами, при бактериоскопии выявляется у 2/3 пациентов (у 76,6 и 71,8 % соответственно). Распространенность прешироко и широко лекарственно устойчивых изолятов среди подтипа B0/W148 сравнима с их распространенностью среди других генотипов и подтипов Beijing. Установлена более высокая частота встречаемости *M.tuberculosis* с множественной лекарственной устойчивостью ($18,1 \pm 8,5$) среди пациентов, у которых туберкулез был вызван подтипом B0/W148 генотипа Beijing, по сравнению с пациентами, у которых выделяли другие генотипы — $7,7 \pm 8,5$ %. Подтип B0/W148 имеет особенности распространения в человеческой популяции: он вовлекает более активно в эпидемический процесс возрастную группу до 20 лет и женщин в возрастной группе 21–30 лет, по сравнению с другими генетическим типами. Выявлены гендерные различия в распространении *M.tuberculosis* подтипа B0/W148 генотипа Beijing, который достоверно чаще поражает женщин в возрастной группе 21–30 лет и мужчин в возрастных группах 31–40 и 41–50 лет.

Резистентные *M.tuberculosis* подтипа B0/W148 генотипа Beijing могут обеспечить поддержание эпидемического процесса за счет вовлечения новых групп риска и за счет более активного распространения в других административных регионах, чем в г. Минске.

Таблица 4 — Профиль лекарственной устойчивости в зависимости от генетических вариантов *M.tuberculosis* за период 2016–2018 гг.

Характеристика л/ устойчивости МБТ	Генотипы					
	(I) Beijing		(II) B0/W148 Beijing		(III) non-Beijing	
	Абс.	% ± tm	Абс.	% ± tm	Абс.	% ± tm
1. МЛУ (<i>n</i> = 22)	4	13,3 ± 12,4	15	18,1 ± 8,5	3	7,7 ± 8,5
2. пре-ШЛУ (<i>n</i> = 53)	8	26,7 ± 16,2	30	36,1 ± 10,6	15	38,5 ± 15,6
3. ШЛУ (<i>n</i> = 75)	18	60,0 ± 17,9	37	44,6 ± 10,9	20	51,3 ± 16,0
4. л/чувст. (<i>n</i> = 2)	0	–	1	–	1	–
Итого (<i>n</i> = 152)	30	19,7 ± 6,5	83	54,6 ± 8,1	39	25,7 ± 7,1

Список цитированных источников

1. Mokrousov, I. Insights into the origin, emergence, and current spread of a successful Russian clone of *Mycobacterium tuberculosis* / I. Mokrousov // *Clin. Microbiol. Rev.* — 2013. — Vol. 26, №2. — P. 342–360.
2. Генетический полиморфизм возбудителя туберкулеза на территории города с ограниченной миграцией населения и высоким уровнем заболеваемости ВИЧ-инфекцией / Т. В. Умпелева [и др.] // *Туберкулез и болезни легких.* — 2019. — Т. 97, №3. — С. 40–45. DOI:10.21292/2075-1230-2019-97-3-40-45.
3. Моделирование эпидемического распространения генотипа Beijing *Mycobacterium tuberculosis* в Республике Саха (Якутия) / С. Н. Жданова [и др.] // *Туберкулез и болезни легких.* — 2017. — Т. 95, №7. — С. 40–47. DOI:10.21292/2075-1230-2017-95-7-40-47.
4. Highest prevalence of the *Mycobacterium tuberculosis* Beijing genotype isolates in Patient newly diagnosed with tuberculosis in the Novosibirsk oblast / M. A. Dymova [et al.] // *J. Medical. Microbiology.* — 2011. — Vol. 60. — P. 1003–1009.
5. Генетическое разнообразие лекарственно-устойчивых штаммов *Mycobacterium tuberculosis* в Омской области / О. А. Пасечник [и др.] // *Туберкулез и болезни легких.* — 2017. — Т. 95, №7. — С. 33–39. DOI:10.21292/2075-1230-2017-95-7-33-39.
6. Russian “successful” clone B0/W148 of *Mycobacterium tuberculosis* Beijing genotype: a multiplex PCR assay for rapid detection and global screening / I. Mokrousov [et al.] // *Journal of clinical microbiology.* — 2012. — Vol. 50, №11. — P. 3757–3759.

Clinical and epidemiological characteristics of tuberculosis caused by *M. tuberculosis* belonging to B0/W148 cluster of the Beijing genetic family

Slizen V. V., Surkova L. K., Ivanova A. L.

*State Institution “Republican Scientific and Practical Center for Pulmonology and Tuberculosis”,
Minsk, Republic of Belarus*

A retrospective analysis was performed to find clinical and epidemiological features of pulmonary tuberculosis caused by *M.tuberculosis* belonging to B0/W148 cluster of Beijing genotype. 152 patients were included in to the study, treated in 2016–2018.

For the detection of *M. tuberculosis* belonging to Beijing genotype and other genotypes (non-Beijing), multiplex RT-PCR was used with paired probes linked with R6G (for the Beijing genotype detection) and FAM (for the total detection of non-Beijing *M.tuberculosis*). Cluster B0/W148 of Beijing genotype was detected by standard PCR with primers INS1, RV26G5R, W139F2.

M. tuberculosis of the Beijing genetic family and its B0/W148 cluster was showed to be spread broadly in Belarus with the highest frequency of B0/W148 cluster isolation in Minsk — 44.5 % ($p < 0.05$). It has had a tendency of transmission among young persons: it more often infects females aged 21–30 y.o. (10.84 %, $p < 0.024$). A higher incidence of *M.tuberculosis* with multidrug resistance (18.1 ± 8.5) was established among patients with tuberculosis caused by cluster B0/W148 of the Beijing genotype, compared with patients from whom other genotypes were isolated (7.7 ± 8.5 %).

Keywords: *M. tuberculosis*, Beijing genotype, B0/W148 cluster, multidrug resistant tuberculosis.

Поступила 16.06.2022