

AZƏRBAYCANIN ŞİMAL BÖLGƏSİNDƏ YAYILMIŞ DƏRMANA DAVAMLI MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS ŞTAMMLARININ MOLEKULYAR-GENETİK XÜSUSİYYƏTLƏRİ

Axundova İ.M.*, Abuzərov R.M., Qasımov İ.Ə., Səlimova N.A., Seyfəddinova M.N.

Elmi Tədqiqat Ağciyər Xəstəlikləri İnstitutu, Bakı, Azərbaycan

Vərəmin diaqnostikasında istifadə olunan müasir molekulyar genetik metodlar ənənəvi metodlarla müqayisədə daha yüksək həssaslığa və spesifikliyə malikdir və bioloji materiallarda vərəm törədiciyini, onun dərmanlara qarşı davamlılığını, habelə müəyyən edilmiş mutasiyanın növünə uyğun olaraq müalicənin vaxtında seçilməsi və korreksiyasını qısa bir zamanda müəyyən etməyə imkan verir. Müalicənin effektivliyinin artması nəticəsində isə xəstələrin və vərəm Mikobakteriyanın ablasiya müddətini azaltmağa və dərmana davamlı ştammların yayılmasının qarşısını almaq mümkün olmuşdur.

Açar sözlər: vərəm, vərəm mikobakteriyası, dərmana davamlılıq, molekulyar-genetik metodlar

Giriş. Vərəm xəstəliyi (TB) Ümumdünya Səhiyyə Təşkilatının (ÜST) hesablamalarına görə, yalnız İV/AİDS-dən sonra, dünyada hər hansı bir infeksiya agentindən ölüm hallarının ikinci əsas səbəbi hesab edilir. Bununla belə, hər il vərəmlə xəstələnlərin sayı getdikcə azalmaqdadır. Bu onun nəticəsidir ki, dünya ölkələri ÜST-ün 2015-ci il üçün “Minilliyin İnkişaf Məqsədində” layihəsində vərəmin yayılmasının qarşısını alınmasına nail olmaq yolundadır [1].

Son illərin inkişafı vərəm mikobakteriyasının (VMB) MDR/XDR ştammlarının aşkarlanması və onların dərmana davamlılığının (DD) qiymətləndirilməsi üçün molekulyar-genetik metodların bütün ölkələrdə tətbiqi üçün ÜST tövsiyələrini yaratmağa və qəbul etməyə imkan verdi. 2008-ci ildə ÜST-1 birinci (İzoniazid (H) və rifampisin (RİF)) və ikinci sıra (ftorxinalon qrupu (FQ) və kanamisin (Km), kapreomisin (Cm), azitromisin (Am) preparatları) vərəməleyhinə preparatlara (VƏP) qarşı DD vərəmin aşkar edilməsini sürətləndirmək üçün molekulyar hibridləşmə testinin (LPA) istifadəsini təsdiqlədi. Unikal DNA-trip® texnologiyasına (DNT zondları (LPA) ilə hibridləşmə) əsaslanan molekulyar-genetik HAIN Lifescience Test Sisteminin üstünlüyü nəticələrini qısa zaman ərzində əldə olunmasından ibarətdir [3, 5].

Dərmanlara qarşı davamlılığı təyin etmək üçün molekulyar-genetik üsul mikobakteriyaların genomunda mutasiyaların aşkarlanmasına əsaslanır [2]. Mutasiyalar müalicənin effektivliyinə təsir edən əsas amillərdən biridir və bu səbəbdən də müsbət qlobal tendensiyalara baxmayaraq, dərmana davamlı vərəm ictimai səhiyyənin əsas problemi olaraq qalmaqdadır.

İşin məqsədi. Problemin aktuallığını nəzərə

alaraq, Azərbaycan Respublikasının bölgələri üzrə vərəmli xəstələrdə Mycobacterium tuberculosis-in genomunda aşkar edilən dərmana davamlı mutasiya spektrinin araşdırılmasından ibarətdir.

Material və metodlar. Qarşıya qoyulan məqsədə nail olmaq üçün Azərbaycanın Şimal bölgəsi üzrə 2012-2021-ci il tarixlərindəki 860 xəstənin molekulyar-genetik analizinin retrospektiv təhlili aparılmışdır. Genetik spektrin araşdırılması Şimal-Şərq bölgəsi üzrə (47,1%; n=405) Qusar, Quba, Xaçmaz, Siyəzən, Şabran, Xızı zonalarını və Şimal-Qərb bölgəsi üzrə (52,9%; n=455) Qobustan, Şamaxı, İsmayılı, Qəbələ, Oğuz, Şəki, Qax, Zaqatala, Balakən əhatə etmişdir. Müayinə olunan xəstələrin 5% (n=43) 2012-ci il; 4,5% (n=39) 2013-cü il; 15,3% (n=132) 2014-cü il; 14,8% (n=127) 2015-ci il; 16,3% (n=140) 2016-cı il; 19,8% (n=170) 2019-cü il; 9% (n=77) 2020-ci il və 15,3% (n=132) 2021-ci ilin payına düşmüşdür. 2017-2018-ci illərdə Şimal bölgəsindən müayinə olunmuş xəstə qeydə alınmamışdır. Müayinəyə cəlb edilmiş xəstələrin 67,9% (n=584) ilkin xəstə, 32,1% (n=276) müalicəyə nəzarət üçün təkrar xəstələr təşkil etmişdir. Xəstələrdən 70,3% kişi (n=605); 29,7% qadınlar (n=255) olmuşdur. Xəstələrin yaş həddi 3-87 yaş həddində tərəddüd etmişdir (1-5 yaş – 0,1% (n=1); 6-10 yaş – 0,1% (n=1); 11-20 yaş – 1,1% (n=9); 21-30 yaş – 14,4% (n=124); 31-40 yaş – 25% (n=215); 41-50 yaş – 18,5% (n=159); 51-60 yaş – 17,3% (n=149); 61-70 yaş – 18,0% (n=155); 70 yaşdan yuxarı – 5,5% (n=47)).

Mycobacterium tuberculosis ştammlarının dərmana davamlı genetik spektrin araşdırılması hibrid texnologiyaya əsaslanan molekulyar-genetik metod HAIN testinin nəticələrinə əsasən tədqiq edilmişdir. HAIN test sistemi rifampisinə qarşı davamlılıq

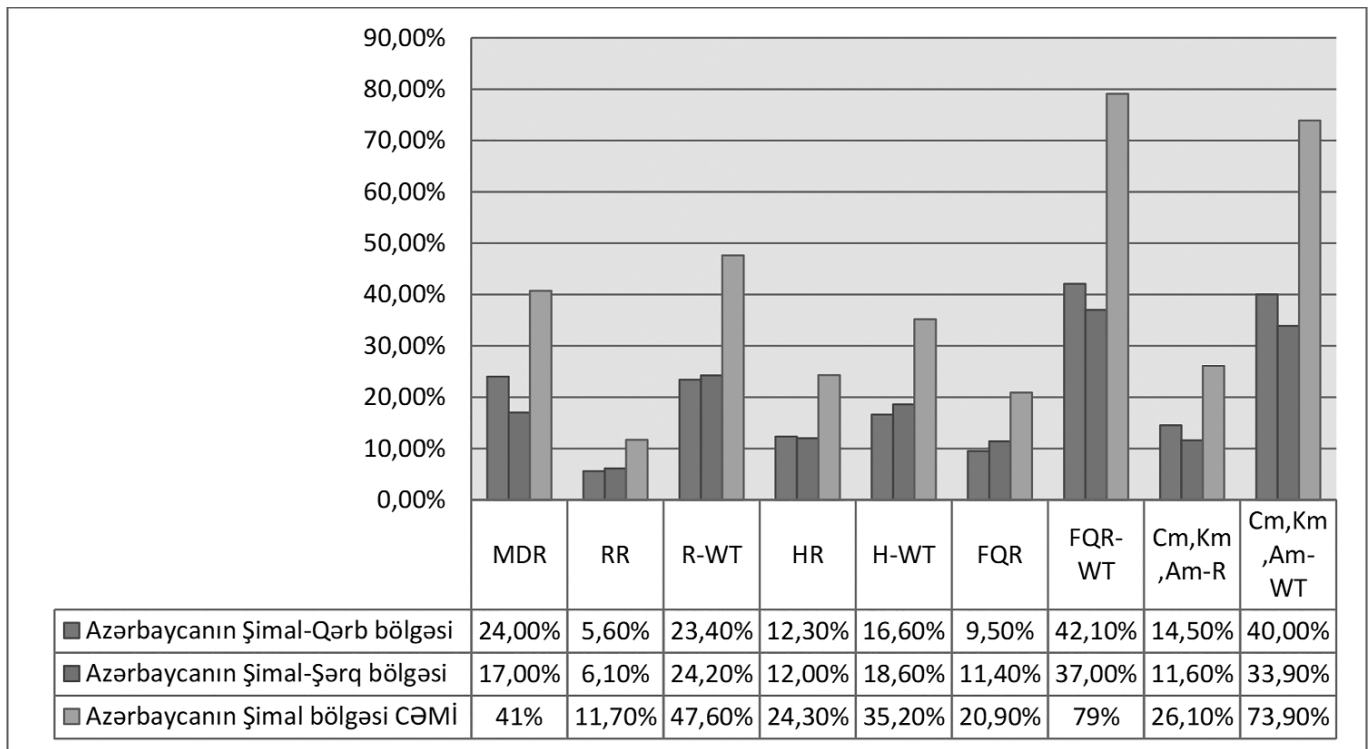
*e-mail: akhundova.irada@gmail.com

üçün həssaslıq 96,7% və spesiflik 98,8%; izoni- azidə qarşı davamlılıq üçün həssaslıq 90,2% və spe- siflik 99,2%; ftorxinolonlara qarşı davamlılıq üçün həssaslıq 86,2% və spesiflik 98,6% və ikin- ci sıra inyeksiyalara qarşı davamlılıq üçün həssaslıq 87,0% və spesiflik 99,5% təşkil edir [4,6].

Tədqiqatın nəticələri. Müayinəyə cəlb edilmiş 860 xəstənin bəlgəm nümunəsi molekulyar-genetik üsul **HAİN testi** ilə (*GenoType MTBDRplus V2* və *GenoType MTBDRsl V2*) müayinə aparılmış və birinci sıra preparatlara (izoniazid (H) və rifampisin (RİF)) qarşı həssaslıq təyin edilmişdir: Nəticədə 40,7% (n=350) multirezistentlik (MDR); 11,7% (n=101) RİF monorezistentlik; 47,6% (n=409) RİF həssaslıq; 24,3% (n=209) H monorezistentlik; 35% (n=301) H həssaslıq qeydə alınmışdır. Xəstələrin 49,1% (n=422) ikinci sıra preparatlara (ftorxinalon qrupu (FQ), kanamisin (Km)Ş kapriomisin (Cm), amikasin (Am)) qarşı rezistentlik öyrənilmişdir:

20,9% (n=88) FQ preparatlarına qarşı davamlılıq, 79,1% (n=334) həssaslıq və Cm, Km, Am preparat- larına qarşı davamlılıq 26,1% (n=110), 73,9% (n=312) həssaslıq aşkarlanmışdır (Şək. 1).

Molekulyar-genetik müayinənin nəticəsində 860 nümunədən 51,8% (n=446) nümunədə RİF davam- lı **rpoB** genində müxtəlif kodonlarda lokalizasiya olunan rezistentlik qeydə alınmışdır. Davamlılıq aşkar edilmiş 446 nümunənin 18,4% (n=159) naməlum mutasiyalar müəyyən edilmişdir, yəni rpoB genin müəyyən kodonlarında mutasiya tipi məlum olmayan rezistentliyə təsadüf edilmişdir. Buna səbəb HAİN metodunun rast gəlmə tezliyinə görə daha çox üstünlük təşkil edən mutasiyaları müəyyən edilməsi ilə əlaqədardır və sonradan sekvens üsulu ilə daha geniş spektrə malik mutasiyaların araşdırılmasını tələb edir. Müayinə zamanı 33,4% (n=287) nümunədə müxtəlif kodon- larda 7 tipdə 351 mutasiya aşkar edilmişdir (Şək. 2).

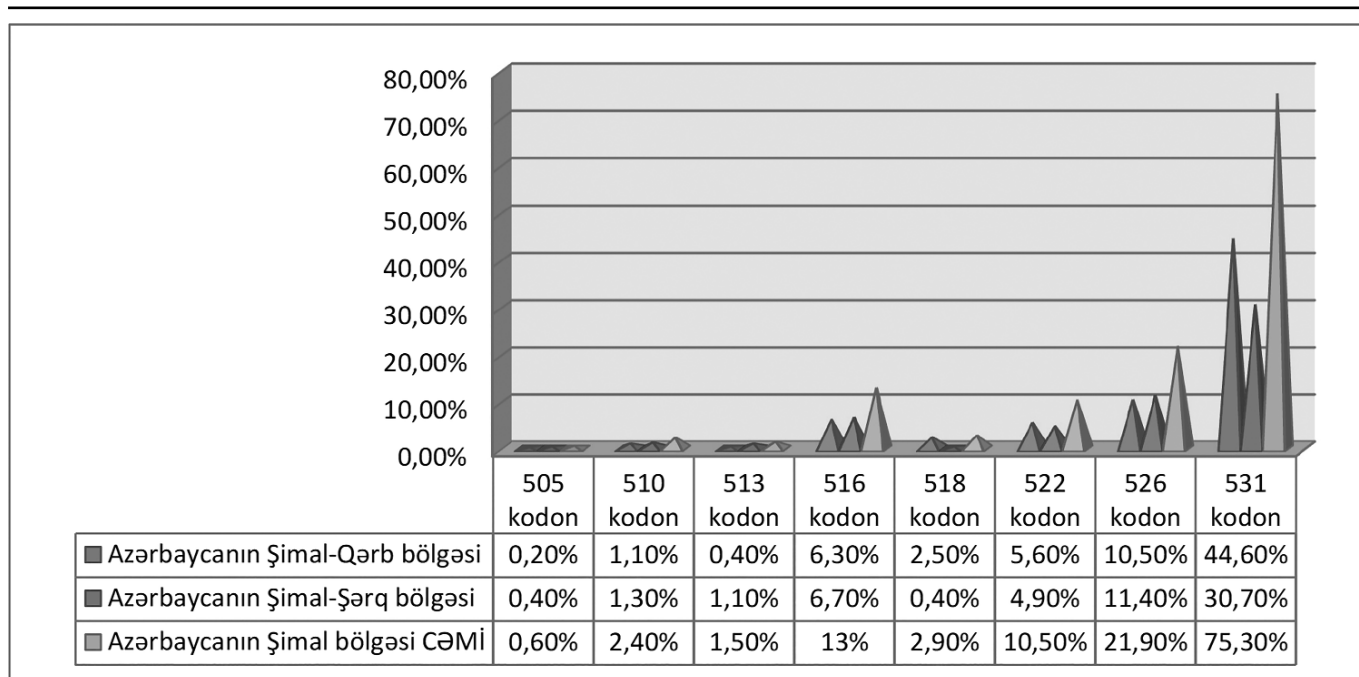


Şək. 1. Azərbaycanın Şimal bölgəsində birinci və ikinci sıra preparatlara qarşı rezistentliyin səviyyəsi.

Şək. 2-dən görüldüyü kimi ən çox 531 kodonda rezistentlik qeydə alınmışdır və rast gəlmə tezliyinə görə 75,3% (n=336) təşkil etmişdir. HAİN testi ilə müayinə zamanı rifampisinə davamlı 9 tip mutasiyadan 7 tip mutasiya aşkar edilmişdir. Rast gəlmə tezliyinə görə birinci yerdə 78,9% (n=277) **S531L**; ikinci yerdə 12,5% (n=44) **H526D**; üçüncü yerdə 3,1% (n=11) **D516V** tip mutasiyaları üstünlük təşkil etmişdir. Müa-

yinə zamanı eyni vaxtda rpoB genin müxtəlif kodon- larda mutasiya birləşmələri qeydə alınmışdır (Cə. 1).

Molekulyar-genetik müayinənin nəticəsində 860 nümunədən 65% (n=559) nümunədə izoniiazid preparatına qarşı 59,5% (n=512) **katG** və 14,7% (n=126) **inhA** genlərində rezistentlik qeydə alın- mışdır. Eyni vaxtda hər iki gendə mutasiyaların aşkarlanmasına təsadüf edilmişdir. Nümunələrin



Şək. 2. RİF davamlı rpoB gendə mutasiyaların kodonlara görə lokalizasiyası.

Cədvəl 1

Vərəm mikobakteriyasının rifampisinə davamlı rpoB genində aşkar olunan mutasiyalar

Preparatrat	Gen	Aminturşu əvəzlənməsi	Azərbaycanın Şimal-Qərb bölgəsi n (%)	Azərbaycanın Şimal-Şərq bölgəsi n (%)	Azərbaycanın Şimal bölgəsi Cəmi: n (%)
Rifampisin	rpoB	S531L	165 (81,7%)	112 (75,2%)	277 (78,9%)
		D516V	6 (2,9%)	5 (3,4%)	11 (3,1%)
		E510H	1 (0,5%)	-	1 (0,3%)
		H526D	24 (11,9%)	20 (13,4%)	44 (12,5%)
		H526R	1 (0,5%)	2 (1,3%)	3 (0,9%)
		H526Y	5 (2,5%)	9 (6,0%)	14 (4,0%)
		N518I	-	1 (0,7%)	1 (0,3%)
Cəmi:			202 (100%)	149 (100%)	351 (100%)

9,5% (n=82) naməlum mutasiya aşkar edilmişdir. zamanı H preparatına davamlı 6 tip mutasiyadan 4 HAIN testi ilə 55,5% (n=477) nümunədə müayinə müxtəlif tipli mutasiya aşkarlanmışdır (Cədv. 2).

Cədvəl 2

VMB-nin izoniazidə davamlı katG, inhA genlərində aşkar olunan mutasiyalar

Preparatrat	Gen	Aminturşu əvəzlənməsi	Azərbaycanın Şimal-Qərb bölgəsi n (%)	Azərbaycanın Şimal-Şərq bölgəsi n (%)	Azərbaycanın Şimal bölgəsi n (%)
İzoniazid	katG	S315T1	275 (31,9%)	177 (20,6%)	452 (52,5%)
		S315T2	2 (0,2%)	-	2 (0,2%)
	inhA	T8C	4 (0,5%)	9 (1,0%)	13 (1,5%)
		C15T	56 (6,5%)	52 (6,0%)	108 (12,5%)

Cədv. 2-dən görüldüyü kimi H preparatına qarşı tezliyinə görə katG genində 315 kodonda serin rezistentliyə səbəb olan mutasiyalardan rastgəlmə amin turşusunun treonin amin turşusuna əvəz olun-

ması ilə müşahidə edilən (**Ser315=>Thr(1)**)-(52,5%) tip mutasiya üstünlük təşkil etmişdir, hansı ki, izoniazidə qarşı qarşı yüksək davamlılığın əmələ gəlməsinə səbəb olur. İkinci yerdə rastgəlmə tezliyinə görə nukleotidlərin əvəz olunması ilə qeydə alınan mutasiyalar aşkarlanmışdır, hansı ki, izoniazidə qarşı zəif davamlılıq əmələ gətirir, xüsusilə, inhA genin 15-ci pozisiyasında lokalizasiya olan sitozin nukleotidinin timinə əvəz olunması (**T15(C->T) – 12,5%**) üstünlük təşkil etmişdir.

Ftorxinalon qrupu preparatlarına qarşı davamlılıq 422 nümunədən 20,9% (n=88) aşkar edilmişdir. Bunlardan 20% (n=84) **gyrA** və 0,9% (n=4) **gyrB** genlərində təsadüf etmişdir. Naməlum mutasiyalar **gyrB** genində **536-541**, **gyrA** genində **82-89** və **92-96 pozisiyalarda** lokalizə olunmuşdur; **gyrA** genində 7 tip mutasiya müəyyən edilmişdir ki, ən çox rast gəlinən mutasiya 7,1% (n=30) **D94G** tip mutasiya olmuşdur. İkinci yerdə 4,3% (n=18) **A90V** və 2,8% (n=12) **S91P** tip mutasiyalar aşkarlanmışdır (Cə.d. 3).

Cədvəl 3

VMB-nın Ftorxinalon qrupu preparatlarına qarşı davamlılığa səbəb olan **gyrA genində aşkar olunan mutasiyalar**

Preparatrat	Gen	Aminturşu əvəz olunması	Azərbaycanın Şimal-Qərb bölgəsi n (%)	Azərbaycanın Şimal-Şərq bölgəsi n (%)	Azərbaycanın Şimal bölgəsi n (%)
Ftorxinalon qrupu	gyrA	A90V	11 (2,6%)	7 (1,7%)	18 (4,3%)
		D94A	4 (1%)	3 (0,7%)	7 (1,7%)
		D94G	14 (3,3%)	16 (3,8%)	30 (7,1%)
		D94N,D94Y	2 (0,5%)	4 (0,9%)	6 (1,4%)
		D94N,D94H1	1 (0,2%)	-	1 (0,2%)
		S91P	1 (0,2%)	11 (2,6%)	12 (2,8%)

Cə.d. 3-dən görüldüyü kimi FQ qrupu preparatlarına qarşı rezistentliyi əmələ gətirən mutasiyalardan Şimal-Qərb bölgəsi üçün **A90V**, Şimal-Şərq bölgəsi üçün isə 2,6% **S91P** tip mutasiyalar daha çox xarakterikdir.

Kanamisin, amikasin və kapriomisin preparatlarına qarşı davamlılıq 422 nümunədən 11,6% (n=49) aşkar olunmuşdur. Bunlardan 8,3% (n=35) eis genində və 13,3% (n=55) rrs genində lokaliza-

siya olmuşdur. İnyeksiya preparatlarına qarşı rezistentliyə səbəb olan mutasiyalardan 1,7% (n=7) eis gendə aşkar edilən **C14T** mutasiya, digərləri isə həmin genin 37 və 10-15 pozisiyalarda qeydə alınan naməlum mutasiyalar (6,6% (n=28)) olmuşdur; rrs genin 1400 pozisiyada (0,7% (n=3)) naməlum mutasiya və 12,1% (n=52) **A1401G**, 0,2% (n=1) **G1484T** tip mutasiyaları müşahidə edilmişdir (cə.d. 4).

Cədvəl 4

VMB-nın Kanamisin, kapriomisin və amikasinə qarşı davamlılığa səbəb olan rrs və eis genlərdə aşkar olunan mutasiyalar

Preparatrat	Gen	Aminturşu əvəz olunması	Azərbaycanın Şimal-Qərb bölgəsi n (%)	Azərbaycanın Şimal-Şərq bölgəsi n (%)	Azərbaycanın Şimal bölgəsi n (%)	
Km,Cm,Am	eis	C14T	7 (1,7%)	-	7 (1,7%)	
		rrs	A1401G	19 (4,5%)	32 (7,6%)	51 (12,1%)
			G1484T	1 (0,2%)	-	1 (0,2%)

Azərbaycanın Şimal-Şərq bölgəsindən fərqli olaraq Şimal-Qərb bölgəsində kanamisin, kapriomisin və amikasinə qarşı davamlılığa səbəb olan

C14T mutasiyasına təsadüf edilmişdir.

Yekun. Azərbaycanın Şimal bölgəsi üçün xarakterik tip mutasiyalar aşağıdakılardan ibarətdir:

1. Rifampisinə qarşı rpoB genində S531L tip mutasiyası yüksək davamlılıq əmələ gətirir və bu tip mutasiyalarda rifampisin preparatı ilə müalicə tam effektivsizdir.
 2. İzoniazid preparatı üçün 2 tip mutasiya bu bölgədə üstünlük təşkil etmişdir:
 - a) İzoniazid preparatına qarşı katG genində S315T1 tip mutasiya yüksək davamlılıq əmələ gətirir və bu tip mutasiyada preparatın dozası artırılrsa da müalicə effekti olmur; inhA genində C15T tip mutasiya izoniazidə qarşı zəif davamlılıq əmələ gətirir və izoniazidin yüksək dozasında müalicəni davam etdirmək olar;
 - b) inhA genində aşkar edilən mutasiyalar etionamid və protionamid preparatlarına qarşı da davamlılıq yaradır. Bu səbəbdən preparatın yüksək dozasında belə müalicə effektivsizdir.
 3. Ftorsinalon preparatına qarşı mutasiyalar gyrA genində D94G, A90V və S91P tip mutasiyalar üstünlük təşkil etmişdir:
 - a) D94G tip mutasiyasında levofloksasin (Lfx) qarşı davamlılıq müəyyən edilmişdir və mofloksasin (Mfx) üçün yüksək MİK səviyyəsi ilə əlaqəli mutasiya aşkar olunmuşdur ki, Lfx və Mfx yüksək dozasında belə müalicə effektivsiz olur;
 - b) A90V tip mutasiyada Lfx qarşı davamlılıq müəyyən edilmişdir və Mfx üçün aşağı MİK səviyyəsi ilə əlaqəli mutasiya aşkar olunmuşdur ki, levofloksasinlə yüksək dozada müalicə effektivsizdir, Mfx-in yüksək dozada istifadə etmək olar.
 - c) S91P tip mutasiyada Lfx qarşı davamlılıq müəyyən edilmişdir və Mfx üçün aşağı MİK səviyyəsi ilə əlaqəli mutasiya aşkar olunmuşdur ki, levofloksasinlə yüksək dozada müalicə effektivsizdir, Mfx-in yüksək dozada istifadə etmək olar.
 4. Kapriomisin, kanamisin və amikasinə qarşı davamlılığa səbəb olan rrs genində lokalizasiya olunmuş A1401G tip mutasiyasında müalicəni bu preparatlar ilə yüksək dozada davam etdirmək effektivsizdir, C14T tip mutasiyada kanamisinlə müalicə effektivsizdir, amikasin və kapreomisinlə müalicə effektivlik ehtimal olunur.
- Vərəmin diaqnostikasının müasir molekulyar-genetik üsulları ənənəvi üsullarla müqayisədə daha yüksək həssaslıq və spesifikasiyə malikdir və biosubstratlarda vərəm mikobakteriyasının mövcudluğunu, onların dərmana davamlılığını tez aşkar etməyə və aşkar edilən mutasiya tipinə görə müalicənin vaxtında düzgün seçilməsi və korreksiya olunması müalicə effektivliyini artırır, xəstələrin abasilyasiya müddətinin azalmasına və Mycobacterium tuberculosis dərmana davamlı ştammların yayılmasının qarşısını alınmasına imkan verir.

ƏDƏBİYYAT – ЛИТЕРАТУРА – REFERENCES

1. 18-й Доклад о глобальной борьбе с туберкулезом - ВОЗ, 2013
2. Старшинова А.А., Павлова М.В., Довгало И.Ф., Журавлев В.Ю. Иммунологические и молекулярно-генетические методы диагностики туберкулеза. – Инновационные технологии во фтизиатрии и пульмонологии / Научная сессия ФГБУ СПб НИИ фтизиопульмонологии, 5.04.2013г. – СПб.: 2013. – Доклад-презентация, 26 с
3. Miotto, P et al. A standardised method for interpreting the association between mutations and phenotypic drug resistance in Mycobacterium tuberculosis // European Respiratory Journal 50.6 (2017): 1701354.
4. Nathavitharana RR, et al. 2017. Accuracy of line probe assays for the diagnosis of pulmonary and multidrug-resistant tuberculosis: a systematic review and meta-analysis // Eur Respir J 49.
5. World Health Organization. (2008). Molecular line probe assay for rapid screening of patients at risk of multidrug-resistant tuberculosis (MDR-TB). Policy statement. World Health Organization
6. Theron G, et al. 2016. GenoType® MTBDRsl assay for resistance to second-line anti-tuberculosis drugs. Cochrane Database Syst Rev 9:CD010705).

РЕЗЮМЕ

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЛЕКАРСТВЕННО-УСТОЙЧИВЫХ ШТАММОВ МИКОБАКТЕРИЙ ТУБЕРКУЛЕЗА, РАСПРОСТРАНЕННЫХ В СЕВЕРНОМ РЕГИОНЕ АЗЕРБАЙДЖАНА

Ахундова И.М., Абузаров Р.М., Гасымов И.А., Салимова Н.А., Сейфаддинова М.Н.
НИИ Легочных Заболеваний МЗ Азербайджанской Республики, Баку, Азербайджан

Современные молекулярно-генетические методы диагностики туберкулеза обладают более высокой чувствительностью и специфичностью по сравнению с традиционными методами и позволяют быстро

выявлять наличие микобактерий туберкулеза в биосубстратах, их резистентность к лекарственным препаратам, а также своевременно проводить подбор и коррекцию лечения в соответствии с типом выявленной мутации, повысить эффективность лечения, сократить сроки абляции больных и микобактерий туберкулеза, дает возможность предотвратить распространение лекарственно-устойчивых штаммов.

Ключевые слова: туберкулез, микобактерия туберкулеза, лекарственная устойчивость, молекулярно-генетические методы.

SUMMARY

MOLECULAR GENETIC CHARACTERISTICS OF DRUG-RESISTANT STRAINS OF MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS COMMON IN THE NORTHERN REGION OF AZERBAIJAN

Akhundova İ.M., Abuzarov R.M., Qasimov İ.Ə., Salimova N.A., Seyfaddinova M.N.

Scientific Research Institute for ET Lungs Diseases, Baku, Azerbaijan

Modern molecular-genetic methods of tuberculosis diagnosis have higher sensitivity and specificity compared to traditional methods, and allow to quickly detect the presence of tuberculosis mycobacteria in biosubstrates, their resistance to drugs, and timely selection and correction of treatment according to the type of mutation detected, increase the effectiveness of treatment, reduce the duration of ablation of patients and Mycobacterium tuberculosis makes it possible to prevent the spread of drug-resistant strains.

Keywords: tuberculosis, mycobacterium tuberculosis, drug resistance, molecular genetic methods.

Redaksiyaya daxil olub: 31.03.2023

Çapa tövsiyə olunub: 17.04.2023

Rəyçi: t.ü.f.d. L.H.Kazımova