

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ НАУЧНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ «ЦЕНТРАЛЬНЫЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ИНСТИТУТ ТУБЕРКУЛЁЗА»

На правах рукописи

Бурменская Валентина Васильевна

**ЭФФЕКТИВНОСТЬ ЛЕЧЕНИЯ БОЛЬНЫХ С ШЛУ-ТУБЕРКУЛЕЗОМ
ЛЕГКИХ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ГЕНОТИПИЧЕСКОЙ И
ФЕНОТИПИЧЕСКОЙ УСТОЙЧИВОСТИ *M. TUBERCULOSIS* К
ЛИНЕЗОЛИДУ И БЕДАКВИЛИНУ**

3.1.26. Фтизиатрия

Диссертация на соискание учёной степени

кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
член-корреспондент РАН, профессор,
доктор медицинских наук
Эргешов Атаджан

Научный консультант:
кандидат медицинских наук
Смирнова Татьяна Геннадьевна

Москва – 2026 г.

ОГЛАВЛЕНИЕ

| | |
|---|----|
| ВВЕДЕНИЕ | 5 |
| Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ..... | 18 |
| 1.1 Эпидемиологическая ситуация по туберкулезу в России и в мире | 18 |
| 1.2 Линезолид и бедаквилин в лечении больных с МЛУ/ШЛУ-туберкулезом | 19 |
| 1.3 История лечения туберкулеза | 24 |
| 1.4 Линезолид | 29 |
| 1.4.1 История открытия линезолида | 29 |
| 1.4.2 Механизм действия линезолида | 30 |
| 1.4.3 Лечение туберкулеза с применением линезолида | 31 |
| 1.4.4 Лекарственная устойчивость <i>M.tuberculosis</i> к линезолиду | 34 |
| 1.5 Бедаквилин | 37 |
| 1.5.1 История открытия бедаквилина | 37 |
| 1.5.2 Механизм действия бедаквилина | 38 |
| 1.5.3 Лечение туберкулеза с применением бедаквилина | 39 |
| 1.5.4 Лекарственная устойчивость <i>M.tuberculosis</i> к бедаквилину | 40 |
| 1.6 Методы определения лекарственной устойчивости <i>M.tuberculosis</i> к линезолиду и бедаквилину и роль генотипического тестирования к линезолиду и бедаквилину | 44 |
| ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ | 47 |
| 2.1 Материалы | 47 |
| 2.1.1 Дизайн исследования | 47 |
| 2.1.2 Характеристика больных с ШЛУ МБТ, включенных в исследование | 48 |
| 2.1.3 Характеристика штаммов МБТ, включенных в исследование | 54 |
| 2.2 МЕТОДЫ | 54 |

| | |
|--|-----|
| 2.2.1. Клинические методы | 55 |
| 2.2.2. Лабораторные методы | 55 |
| 2.2.3. Инструментальные методы | 64 |
| ГЛАВА 3. ФЕНОТИПИЧЕСКАЯ И ГЕНОТИПИЧЕСКАЯ УСТОЙЧИВОСТЬ МБТ К ЛИНЕЗОЛИДУ И БЕДАКВИЛИНУ | 67 |
| 3.1 Распространённость устойчивости <i>M.tuberculosis</i> к линезолиду и бедаквилину и профиль дополнительной лекарственной устойчивости | 67 |
| 3.2 Молекулярно-генетические маркеры устойчивости <i>M.tuberculosis</i> к линезолиду и бедаквилину | 75 |
| Глава 4. ОСОБЕННОСТИ КЛИНИЧЕСКИХ ПРОЯВЛЕНИЙ ТУБЕРКУЛЕЗА ОРГАНОВ ДЫХАНИЯ У БОЛЬНЫХ С ШИРОКОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТЬЮ МБТ | 79 |
| 4.1 Клинические проявления туберкулеза органов дыхания у пациентов с разными вариантами фенотипической устойчивости <i>M.tuberculosis</i> к линезолиду и бедаквилину | 79 |
| 4.2 Клинические проявления туберкулеза органов дыхания у пациентов с разными вариантами генотипической устойчивости <i>M.tuberculosis</i> к линезолиду и бедаквилину | 89 |
| ГЛАВА 5. ЭФФЕКТИВНОСТЬ ХИМИОТЕРАПИИ ТУБЕРКУЛЁЗА ЛЁГКИХ У ПАЦИЕНТОВ С ШЛУ МБТ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ФЕНОТИПИЧЕСКОЙ И ГЕНОТИПИЧЕСКОЙ УСТОЙЧИВОСТИ МБТ К ЛИНЕЗОЛИДУ И БЕДАКВИЛИНУ | 101 |
| 5.1 Эффективность лечения пациентов с определенной фенотипической устойчивостью МБТ к линезолиду и/или бедаквилину | 101 |
| 5.2 Композитный индекс эффективности химиотерапии туберкулёза с ШЛУ возбудителя по генетическим подгруппам | 103 |
| ЗАКЛЮЧЕНИЕ | 118 |

| | |
|---|-----|
| ВЫВОДЫ..... | 127 |
| ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ..... | 130 |
| СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ..... | 134 |
| СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ..... | 136 |

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность исследования

В Российской Федерации в последние годы отмечается устойчивая тенденция к снижению основных эпидемиологических показателей по туберкулёзу. Так, в 2024 году заболеваемость туберкулёзом составила 26,9 на 100 тыс. населения, что существенно ниже показателей 2009 года (82,6 на 100 тыс. населения). Смертность от туберкулёза в 2024 году снизилась до 3,2 на 100 тыс. населения. Несмотря на положительную динамику, эпидемиологическая ситуация по туберкулёзу в стране продолжает оставаться напряжённой, прежде всего вследствие роста доли форм заболевания, вызванных микобактериями туберкулёза с лекарственной устойчивостью [15].

Особую обеспокоенность вызывает высокая распространённость туберкулёза с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ МБТ). В РФ общая заболеваемость туберкулёзом с МЛУ МБТ в 2024 году составила 11,8 на 100 тысяч населения. Эффективность лечения туберкулёза в Российской Федерации остаётся ниже среднемировых показателей: по данным Всемирной организации здравоохранения в РФ при лекарственно-устойчивых формах туберкулёза эффективность лечения МЛУ/РУ-ТБ составила 65%, а при пре-ШЛУ-ТБ и ШЛУ-ТБ - 52%. По данным ВОЗ, в мире среди пациентов, начавших лечение туберкулёза с множественной лекарственной устойчивостью или устойчивостью к рифампицину (МЛУ/РУ-ТБ) в 2022 году, успешный исход был достигнут лишь в 71%. Ещё более неблагоприятные результаты отмечены у больных с устойчивостью как к рифампицину, так и к фторхинолонам (пре-ШЛУ-ТБ/ШЛУ-ТБ): успешность лечения составила 66% [15].

Современные международные рекомендации предусматривают применение препаратов группы А, в частности линезолида и бедаквилина, в схемах лечения туберкулёза с МЛУ и ШЛУ возбудителя. В 2021 году, с учётом внедрения новых противотуберкулёзных препаратов и изменения структуры лекарственной устойчивости МБТ, была пересмотрена дефиниция туберкулёза с пре-широкой и широкой лекарственной устойчивостью. Вместе с тем официальные данные о

распространённости устойчивости МБТ к линезолиду и/или бедаквилину как в мире, так и в Российской Федерации в настоящее время отсутствуют.

Анализ данных научной литературы свидетельствует о нарастающем числе сообщений о формировании устойчивости МБТ к линезолиду и бедаквилину, особенно в регионах с их активным применением и высокой распространённостью МЛУ туберкулёза [5, 20, 70]. По данным отечественных исследований, выполненных в 2020 году с включением материалов из восьми регионов Российской Федерации, установлено, что частота туберкулёза с широкой лекарственной устойчивостью (ШЛУ МБТ) среди пациентов с пре-ШЛУ МБТ составила 3,0%, при этом доля первичной ШЛУ МБТ достигала 1,6% [20].

В настоящее время в Российской Федерации и за рубежом активно ведутся исследования, направленные на выявление генетических детерминант устойчивости МБТ к линезолиду и бедаквилину. Несмотря на то, что фенотипическое тестирование лекарственной чувствительности остаётся «золотым стандартом» диагностики устойчивости к данным препаратам, расширение спектра выявляемых мутаций и внедрение молекулярно-генетических методов рассматриваются как приоритетные направления современной фтизиатрии. Использование молекулярных подходов позволяет обеспечить более раннюю диагностику лекарственной устойчивости, оптимизировать схемы терапии, осуществлять мониторинг её эффективности и предупреждать дальнейшее распространение резистентных форм туберкулёза.

Особое значение в современных исследованиях придаётся изучению взаимосвязи между конкретными мутациями, ассоциированными с устойчивостью МБТ к линезолиду и бедаквилину, и клиническими исходами лечения. Получение таких данных является необходимым условием для персонализации терапии и повышения эффективности лечения пациентов с лекарственно-устойчивыми формами туберкулёза, что и определяет актуальность настоящего исследования.

Степень разработанности исследования

Проблема туберкулёза с лекарственной устойчивостью, включая формы с широкой лекарственной устойчивостью МБТ, на протяжении последних десятилетий является предметом пристального внимания отечественных и зарубежных исследователей. В научных работах подробно изучены эпидемиологические особенности, клиническое течение и результаты лечения пациентов с множественной и широкой лекарственной устойчивостью микобактерий туберкулёза, а также факторы, влияющие на эффективность химиотерапии и прогноз заболевания [1-29, 52, 76, 77, 79, 86, 87, 104, 111].

В значительном числе исследований показано, что туберкулёз с ШЛУ МБТ характеризуется более тяжёлым клиническим течением, высокой частотой осложнений, затяжным бактериовыделением и сниженной эффективностью стандартных режимов противотуберкулёзной терапии. Отдельные работы посвящены анализу клинических форм заболевания, распространённости деструктивных изменений в лёгких, частоте неблагоприятных исходов и летальности у данной категории пациентов.

С внедрением в клиническую практику новых противотуберкулёзных препаратов, в том числе линезолида и бедаквилина, в научной литературе активно обсуждаются вопросы их эффективности, безопасности и места в схемах лечения лекарственно-устойчивого туберкулёза. Ряд исследований посвящён оценке результатов терапии с включением данных препаратов, анализу частоты достижения клинического излечения, прекращения бактериовыделения и рентгенологической регрессии туберкулёзного процесса [52, 76, 77, 79, 86, 87, 104, 111].

Одновременно с этим в зарубежных и отечественных публикациях рассматриваются механизмы формирования устойчивости *M.tuberculosis* к линезолиду и бедаквилину, включая описание генетических мутаций, ассоциированных с развитием резистентности, а также вопросы фенотипической лекарственной чувствительности. Показано, что наличие устойчивости к данным препаратам может существенно снижать эффективность лечения и ограничивать

терапевтические возможности у пациентов с ШЛУ-туберкулёзом [58, 70].

Несмотря на наличие значительного массива исследований, в настоящее время большинство работ носит фрагментарный характер и, как правило, посвящено либо молекулярно-генетическим аспектам устойчивости *M.tuberculosis* к линезолиду и бедаквилину, либо общей оценке эффективности лечения лекарственно-устойчивого туберкулёза без детального учёта генотипической и фенотипической устойчивости к данным препаратам. Данные о влиянии конкретных мутаций и фенотипических профилей устойчивости *M.tuberculosis* к линезолиду и бедаквилину на особенности клинического течения ШЛУ-туберкулёза и исходы терапии остаются ограниченными и неоднородными.

Недостаточно изучены взаимосвязи между генотипической и фенотипической устойчивостью *M.tuberculosis* к линезолиду и бедаквилину, клиническими проявлениями заболевания, динамикой туберкулёзного процесса и результатами лечения у больных с ШЛУ-туберкулёзом. В отечественной литературе практически отсутствуют комплексные исследования, в которых бы одновременно анализировались клиническое течение заболевания, эффективность лечения и данные фенотипического и молекулярно-генетического тестирования лекарственной устойчивости *M.tuberculosis* к линезолиду и бедаквилину.

Таким образом, степень разработанности вопросов, связанных с особенностями клинического течения и эффективностью лечения больных с ШЛУ-туберкулёзом в зависимости от генотипической и фенотипической устойчивости *M.tuberculosis* к линезолиду и бедаквилину, следует признать недостаточной. Это обуславливает необходимость проведения настоящего исследования и определяет его научную и практическую значимость.

Цель исследования

Совершенствование подходов к химиотерапии больных ШЛУ туберкулёзом лёгких на основе оценки генотипической и фенотипической устойчивости *M.tuberculosis* к линезолиду и бедаквилину.

Задачи исследования

1. Изучить частоту встречаемости фенотипической устойчивости *M.tuberculosis* к линезолиду и бедаквилину и охарактеризовать молекулярно-генетические механизмы устойчивости к этим препаратам на основании анализа мутаций в генах *rrl*, *rplC*, *atpE* и *tmpR* у клинических штаммов, выделенных от пациентов, проходивших лечение в ФГБНУ «ЦНИИТ».
2. Изучить клинико-лабораторные и рентгенологические проявления туберкулеза у больных с фенотипической и генотипической устойчивостью МБТ к линезолиду и бедаквилину.
3. Оценить эффективность лечения больных туберкулезом при различных вариантах фенотипической и генотипической устойчивости МБТ к линезолиду и бедаквилину.
4. Разработать научно-обоснованный персонализированный подход к лечению больных туберкулезом с ШЛУ возбудителя в зависимости от вариантов мутаций в генах, ассоциированных с устойчивостью МБТ к линезолиду (*rrl* и *rplC*) и бедаквилину (*atpE* и *tmpR*).

Научная новизна

В настоящей диссертационной работе впервые в Российской Федерации проведено комплексное клинико-лабораторное исследование больных туберкулёзом лёгких с широкой лекарственной устойчивостью *Mycobacterium tuberculosis* с одновременной оценкой фенотипической и генотипической устойчивости возбудителя к линезолиду и бедаквилину и их влияния на клиническое течение и эффективность химиотерапии.

Впервые на репрезентативной когорте пациентов (n=101) показана реальная частота лекарственной устойчивости МБТ к линезолиду и/или бедаквилину в условиях федерального учреждения центра за 11-летний период (2011–2022 гг.), составившая 2,7% среди бактериовыделителей, при этом доля сочетанной устойчивости достигла 0,6%. Установлено, что скорость формирования устойчивости к бедаквилину превышает таковую к линезолиду, с ростом частоты до 12,2% в 2022 году.

Впервые продемонстрировано, что конкретные генетические детерминанты устойчивости МБТ обладают самостоятельным клинико-прогностическим значением. Показано, что мутации в гене *rplC*, ассоциированные с устойчивостью МБТ к линезолиду, являются независимым предиктором тяжёлого поражения трахеобронхиального дерева и сопровождаются более чем пятикратным увеличением риска формирования рубцовых стенозов бронхов независимо от фенотипического профиля лекарственной устойчивости.

Впервые установлено, что мутации в гене *ttmR*, ассоциированные с устойчивостью МБТ к бедаквилину, сопровождаются достоверным снижением стерилизующего эффекта бедаквилин-содержащих режимов химиотерапии: прекращение бактериовыделения к 6 месяцу лечения достигалось лишь у 70,4% пациентов по сравнению с 100% при диком типе гена, при одновременном снижении интегральных показателей эффективности лечения.

Впервые показано, что сочетанная устойчивость МБТ к линезолиду и бедаквилину формирует принципиально иной, наиболее неблагоприятный клинический фенотип туберкулёза с ШЛУ возбудителя, характеризующийся наличием полостей распада (100%), высокой частотой крупных каверн диаметром более 4 см (69,6%), замедленным закрытием каверн к 6 месяцу терапии (47,8%), низкой частотой прекращения бактериовыделения (52,2%) и максимальной летальностью (17,4%).

Впервые в отечественной фтизиатрии для оценки результатов лечения туберкулёза с ШЛУ МБТ с учётом генотипических характеристик возбудителя применён композитный индекс эффективности химиотерапии (КИЭХ), включающий клинические, микробиологические и рентгенологические критерии и летальность. Показано, что значения КИЭХ достоверно различаются в зависимости от генотипа МБТ ($p=0,001$): наивысшая эффективность терапии отмечена при диком типе по генам, ассоциированным с устойчивостью к бедаквилину (КИЭХ=0,95) и при наличии мутаций в гене *rrl* (КИЭХ=0,91), наименьшая - при сочетанной устойчивости с различными комбинациями мутаций (КИЭХ=0,58).

На основании полученных оригинальных данных впервые разработаны клинические рекомендации и предложен персонализированный алгоритм ведения больных туберкулёзом лёгких с ШЛУ возбудителя, основанный на стратификации риска в зависимости от фенотипической и генотипической устойчивости *M.tuberculosis* к линезолиду и бедаквилину, что позволяет обоснованно прогнозировать эффективность лечения и оптимизировать выбор лечебной тактики.

Теоретическая и практическая значимость

Результаты исследования конкретизируют понимание патогенетических и микробиологических основ клинического полиморфизма туберкулёза лёгких при широкой лекарственной устойчивости МБТ, в частности - роли генотипических детерминант устойчивости к линезолиду (*rrl*, *rplC*) и бедаквилину (*mmpR*, *atpE*,) в формировании фенотипа устойчивости и его влияния на течение заболевания. Установленные корреляции между молекулярно-генетическими маркерами, фенотипической чувствительностью и терапевтическим ответом вносят новые данные в развитие концепции персонализированного подхода во фтизиатрии.

На основе полученных результатов исследования разработан алгоритм индивидуального подбора режимов химиотерапии для больных туберкулёзом лёгких с ШЛУ МБТ, объединяющий данные молекулярно-генетического и фенотипического тестирования на лекарственную чувствительность к линезолиду и бедаквилину. Алгоритм позволяет обеспечить более оптимальный подбор препаратов в режим химиотерапии, тем самым повышая эффективность лечения и снижая риски формирования лекарственной устойчивости возбудителя. Результаты исследования могут быть внедрены в клиническую практику фтизиатрии, а также использованы при подготовке клинических рекомендаций.

Методология и методы диссертационного исследования

В исследование был включен 101 пациент с подтверждённым диагнозом туберкулёза лёгких, вызванного штаммами МБТ с установленной фенотипической устойчивостью МБТ к линезолиду и/или бедаквилину,

Исследование носило клинико-лабораторный, аналитический характер и было выполнено в виде ретроспективно-проспективного когортного наблюдения. Всем больным проводилось детальное общеклиническое обследование, лучевые и инструментальные методы, а также лабораторные методы исследования. Лабораторные методы исследования включали клинический анализ крови и мочи, биохимический анализ крови с исследованием функции печени, почек, поджелудочной железы, показателей электролитного обмена, уровня мочевой кислоты. Проведено комплексное микробиологическое исследование биологического материала, включающее микроскопическое исследование, культуральное выделение МБТ на жидких и плотных питательных средах, фенотипическое определение лекарственной чувствительности к основным противотуберкулёзным препаратам, включая линезолид и бедаквилин, молекулярно-генетические методы (выявление мутаций в генах, ассоциированных с устойчивостью к изониазиду, рифампицину и фторхинолонам, таргетное секвенирование по Сэнгеру ключевых генов, ассоциированных с устойчивостью к линезолиду (*rrl*, *rplC*) и бедаквилину (*mmpR*, *atpE*)). Оценка эффективности химиотерапии осуществлялась по комплексу клинических, микробиологических и рентгенологических критериев. Учитывались следующие параметры: купирование клинических симптомов, прекращение бактериовыделения, закрытие полостей распада и регрессия инфильтративных изменений в лёгочной ткани по данным МСКТ.

Статистическая обработка данных выполнена с использованием программного пакета SPSS Statistics версии 27.0. Для сравнения качественных признаков применялись критерий χ^2 Пирсона и точный критерий Фишера, для количественных - t-критерий Стьюдента (при нормальном распределении) или U-критерий Манна-Уитни (при ненормальном). Связь между генотипическими маркерами и терапевтическими исходами оценивалась с помощью однофакторного и многофакторного логистического регрессионного анализа; уровень статистической значимости оценивался при $p < 0,05$.

Исследование проведено в соответствии с принципами Хельсинкской

декларации Всемирной медицинской ассоциации (2013) и одобрено этическим комитетом ФГБНУ «ЦНИИТ» (протокол № 5/4 от «14» декабря 2022 г.). Все участники исследования предоставили информированное добровольное согласие на использование анонимизированных данных в научных целях.

Положения, выносимые на защиту

1. За 11-летний период с 2011 по 2022 гг наблюдается нарастание устойчивости МБТ к линезолиду и бедаквилину. При этом скорость развития устойчивости возбудителя к бедаквилину значительно выше, чем к линезолиду. Мутации в гене *rplC* чаще всего являются маркерами устойчивости МБТ к линезолиду, устойчивость к бедаквилину чаще связана с изменениями в гене *mpvR* (*Rv0678*), при сочетанной резистентности преобладают комбинации мутаций в генах *rplC* + *mpvR*. Генетический анализ показал существенное многообразие выявленных мутаций.
2. Среди пациентов с ШЛУ-туберкулезом преобладают мужчины трудоспособного возраста, ранее леченные от МЛУ/преШЛУ-туберкулеза, с неоднократными курсами противотуберкулезной терапии в анамнезе. Наиболее тяжелое клиническое течение туберкулёза с ШЛУ возбудителя наблюдается при одновременной устойчивости МБТ к линезолиду и бедаквилину, у таких пациентов отмечено преобладание фиброзно-кавернозных форм, с крупными кавернами более 4 см. При этом мутации в гене *rplC*, ассоциированные с лекарственной устойчивостью МБТ к линезолиду, являются независимым предиктором тяжёлого поражения трахеобронхиального дерева с формированием рубцовых стенозов бронхов.
3. У больных с устойчивостью МБТ к линезолиду прекращение бактериовыделения и клиническое улучшение достигались в большинстве случаев к пятому-шестому месяцу терапии. У пациентов с устойчивостью МБТ к бедаквилину положительная динамика наблюдалась в те же сроки, но реже, тогда как у больных с устойчивостью МБТ одновременно к линезолиду и бедаквилину купирование симптомов, закрытие полостей распада и

конверсия мокроты происходили значительно медленнее и регистрировались менее чем у половины пациентов к шестому месяцу лечения.

4. Наличие различных генетических детерминант устойчивости МБТ к линезолиду и бедаквилину оказывает достоверное влияние на эффективность химиотерапии. Наиболее высокая эффективность отмечена у пациентов, инфицированных МБТ с диким типом по генам, ассоциированным с устойчивостью к бедаквилину, наименьшая эффективность - у пациентов, инфицированных МБТ с устойчивостью одновременно к линезолиду и бедаквилину с разными сочетаниями мутаций в генах. Мутации в гене *mmpR*, контролирующем систему эффлюкса MmpS5-MmpL5, ассоциированы со значительным снижением эффективности бедаквилин-содержащих режимов химиотерапии в сравнении с диким типом гена.

Степень достоверности и апробация диссертационной работы

Достоверность результатов обеспечена использованием методов, рекомендованных международными и национальными Клиническими руководствами – исследования МБТ в системе MGIT 960, тестирования ЛУ возбудителя в стандартизированных условиях, таргетного секвенирования по Сэнгеру ключевых генов устойчивости (*rrl*, *rplC*, *mmpR*, *atpE*), а также стандартизированных и общепринятых критериев оценки клинической эффективности.

Репрезентативность данных подтверждена включением в исследование 101 пациента с ШЛУ-туберкулёзом лёгких, госпитализированных в ФГБНУ «ЦНИИТ» в период с 2011 по 2023 гг. Внутренняя валидность исследования обеспечена сопоставлением генотипических и фенотипических профилей лекарственной устойчивости МБТ, а также динамической оценкой клинических, микробиологических и лучевых показателей в строго фиксированные временные точки (2, 4 и 6 месяцев химиотерапии).

Статистический анализ выполнен с применением методов, соответствующих типу распределения данных; уровень значимости принят за $p < 0,05$. Объём выборки обеспечивал статистическую мощность не менее 80%.

Выводы работы основаны на принципах доказательной медицины и подтверждены статистически значимыми ассоциациями между генотипическими маркерами устойчивости и композитным индексом эффективности химиотерапии.

Основные положения и результаты диссертации доложены на конференциях и конгрессах: Конференция молодых ученых ФГБНУ «ЦНИИТ» 23-24 марта 2023г., Москва; Юбилейная всероссийская научно-практическая конференция «Фтизиатрия в XXI веке: взгляд в будущее» 18-20 октября 2023 г., Новосибирск; XIII Конгресс Национальной ассоциации фтизиатров 27-29 ноября 2024 г., Санкт-Петербург; Покровские Чтения V Ежегодная Конференция по инфекционным болезням 27-28 октября 2025 г., Москва.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Научные положения диссертации соответствуют паспорту научной специальности 3.1.26. Фтизиатрия и направлениям исследования: пунктам 4. Средства и методы диагностики социально – значимых инфекций, предикторы их неблагоприятного течения; 6. Персонализация лечения пациентов, больных туберкулезом и/или сочетанными с ним заболеваниями.

Внедрение результатов исследования в практику

Результаты работы внедрены в научную и практическую деятельность отдела фтизиатрии, а также используются в учебном процессе в отделе подготовки кадров высшей квалификации, последипломного образования и телемедицины ФГБНУ «ЦНИИТ» для подготовки ординаторов и на курсах повышения квалификации врачей-фтизиатров.

Личный вклад автора

Автором лично определены цель и задачи исследования, разработан дизайн диссертационной работы, проведён анализ современной отечественной и зарубежной научной литературы по проблеме туберкулёза с широкой лекарственной устойчивостью МБТ и лекарственной устойчивости *M.tuberculosis* к линезолиду и бедаквилину.

Автор принимал непосредственное участие в формировании исследуемых групп пациентов, сборе первичных клинических данных, динамическом

наблюдении за больными туберкулёзом лёгких с ШЛУ МБТ, а также в оценке эффективности проводимой противотуберкулёзной химиотерапии.

Автором сформирована, структурирована и верифицирована база данных исследования, включающая клинические, рентгенологические, микробиологические, фенотипические и молекулярно-генетические показатели. Обеспечены корректность ввода данных, их актуализация и подготовка массива информации для статистического анализа.

Автором выполнен сбор, систематизация и анализ лабораторных данных, включая результаты бактериоскопических, культуральных и фенотипических исследований лекарственной чувствительности *M.tuberculosis*, а также интерпретация результатов молекулярно-генетического тестирования, направленного на выявление мутаций, ассоциированных с устойчивостью к линезолиду и бедаквилину. При выполнении лабораторных исследований автор осуществлял контроль качества получаемых данных и их сопоставление с клиническими характеристиками пациентов.

Статистическая обработка полученных данных, анализ и интерпретация результатов исследования, формулирование выводов и практических рекомендаций выполнены автором самостоятельно. Автором разработан научно обоснованный алгоритм применения противотуберкулёзной химиотерапии у больных туберкулёзом лёгких с ШЛУ МБТ с учётом данных генотипической и фенотипической устойчивости *M.tuberculosis* к линезолиду и бедаквилину.

Подготовка текста диссертации, автореферата, научных публикаций по теме исследования, а также представление и апробация результатов работы на научных конференциях выполнены автором лично.

Публикации

По теме диссертации всего опубликовано 5 печатных работ, в том числе 2 статьи с результатами исследования в научных журналах и изданиях, включённых в «Перечень рецензируемых научных изданий», рекомендуемых Высшей аттестационной комиссией при Министерстве науки и высшего

образования Российской Федерации для опубликования основных научных результатов диссертаций.

Связь темы диссертационной работы с планом научных работ организации

Диссертационная работа подготовлена в рамках выполнения темы НИР ФГБНУ «ЦНИИТ» №1024032600106-9-3.2.7 «Совершенствование комплексного лечения больных МЛУ/ШЛУ туберкулезом легких, в том числе с коморбидной патологией».

Объем и структура диссертации

Работа состоит из 154 страниц машинописного текста и включает введение, обзор литературы, главу материалов и методов исследования, 3 главы результатов собственных исследований, заключение, выводы, практические рекомендации, а также библиографический указатель, включающий 142 источника, из них 112 иностранных. Диссертация иллюстрирована 14 рисунками и документирована 34 таблицами.

Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Эпидемиологическая ситуация по туберкулезу в России и в мире

Туберкулез (ТБ), вызываемый *Mycobacterium tuberculosis* (МБТ), остается одной из ведущих причин смертности от инфекционных заболеваний в мире. Согласно оценкам ВОЗ за 2024 год, общее число новых случаев туберкулеза в мире составило 10,7 миллионов человек в год, что соответствует уровню заболеваемости 131 на 100 тыс. населения. Несмотря на реализацию глобальных стратегий по борьбе с туберкулезом, данные показатели свидетельствуют о сохраняющейся высокой распространенности заболевания на глобальном уровне. Смертность от туберкулеза также остается высокой. В 2024 году среди ВИЧ-отрицательных лиц от туберкулеза умерли 1,08 миллионов человек, что соответствует уровню смертности 13 на 100 тыс. населения [128].

По данным ВОЗ, лекарственно-устойчивые формы туберкулеза продолжают оказывать существенное влияние на глобальное бремя заболевания и эффективность противотуберкулезных программ. В 2024 году в мире было зарегистрировано около 390 тыс. новых случаев туберкулеза с множественной лекарственной устойчивостью или устойчивостью к рифампицину (МЛУ/РУ-ТБ), что соответствует показателю 4,8 на 100 тыс. населения. Таким образом, МЛУ/РУ-ТБ составляет значимую долю от общего числа случаев туберкулеза и остается одной из ключевых проблем глобального здравоохранения. Среди пациентов с рифампицин-устойчивым туберкулезом значительную долю составляют больные с более тяжелыми формами лекарственной резистентности. По оценкам ВОЗ, в 2024 году в мире было выявлено 148 084 пациента с бактериологически подтвержденным туберкулезом, устойчивым к рифампицину и не имеющим установленной устойчивости к фторхинолонам, что соответствует категории МЛУ/РУ-ТБ. Особую эпидемиологическую и клиническую значимость представляют формы туберкулеза с устойчивостью как к рифампицину, так и к фторхинолонам, соответствующие категории пре-ШЛУ-ТБ и ШЛУ-ТБ. В 2024 году в мире было зарегистрировано 25 224 случая бактериологически

подтверждённого туберкулёза данной категории, что составляет около 6–7% от всех случаев МЛУ/РУ-ТБ [128].

В Российской Федерации в настоящее время наблюдается улучшение эпидемической обстановки по туберкулёзу, о чем свидетельствует положительная динамика основных показателей: в 2024 году заболеваемость составила 26,9 на 100 тысяч населения, по сравнению с 2023 годом показатель снизился на 9,2% - с 29,6 до 26,9 на 100 000 населения. В 2024 г. В РФ умерло от туберкулёза 4697 человек (в 2023 г. – 5055 человек). Показатель смертности от туберкулёза снизился на 7,0%, с 3,5 до 3,2 на 100 000 населения [15].

Проблема распространения туберкулеза с множественной (МЛУ) и широкой лекарственной устойчивостью (ШЛУ) МБТ для РФ также актуальна. Из числа больных туберкулёзом органов дыхания с бактериовыделением МЛУ МБТ была у 17 172 пациентов (55,8%). В РФ общая заболеваемость туберкулезом с МЛУ МБТ в 2024 году составила 11,8 на 100 тысяч населения [15].

Эффективность лечения больных туберкулёзом с лекарственной устойчивостью МБТ в РФ, как и в мире, остаётся невысокой. По данным ВОЗ, в мире среди пациентов, начавших лечение туберкулёза с множественной лекарственной устойчивостью или устойчивостью к рифампицину (МЛУ/РУ-ТБ) в 2022 году, успешный исход был достигнут лишь в 71%. Ещё более неблагоприятные результаты отмечены у больных с устойчивостью как к рифампицину, так и к фторхинолонам (пре-ШЛУ-ТБ/ШЛУ-ТБ): успешность лечения составила 66%. В Российской Федерации при лекарственно-устойчивых формах туберкулёза эффективность лечения МЛУ/РУ-ТБ составила 65%, а при пре-ШЛУ-ТБ и ШЛУ-ТБ - 52% [128].

1.2 Линезолид и бедаквилин в лечении больных с МЛУ/ШЛУ-туберкулезом

В настоящее время лечение больных туберкулезом с лекарственной устойчивостью возбудителя подразумевает обязательное назначение недавно

разрешенных для применения во фтизиатрии препаратов, в первую очередь - бедаквилина и линезолида [14, 24, 134, 135, 136].

Бедаквилин и линезолид вошли в клиническую практику как ключевые компоненты терапии лекарственно-устойчивого туберкулёза (ЛУ-ТБ), причём доказательная база их эффективности сформирована серией наблюдательных исследований, когортных анализов и рандомизированных работ, в которых оценивались исходы лечения, конверсия культуры, безопасность и летальность.

Традиционные длительные режимы с использованием фторхинолонов и инъекционных препаратов демонстрировали ограниченную эффективность: метаанализе данных более чем 12 000 пациентов с МЛУ-ТБ из 25 стран доля успешных исходов лечения составила около 60%. Установлено, что включение в режим лечения препаратов с высокой бактерицидной активностью (линезолид, бедаквилин, клоfazимин, фторхинолоны поздних поколений) статистически значимо ассоциировано с повышением вероятности успешного исхода и снижением риска неудачи лечения и летального исхода [29]. По результатам метаанализа, включившего данные из более чем 30 исследований, суммарная доля успешных исходов лечения ШЛУ-ТБ составила около 44%, что существенно ниже показателей при МЛУ-ТБ и значительно уступает целевым ориентирам ВОЗ. Отмечено, что у пациентов с ШЛУ-ТБ отмечается высокая доля летальных исходов (около 27%), а также значительная частота неудач лечения [29, 128].

Одними из наиболее цитируемых данных по линезолиду являются южнокорейские исследования Lee и соавт.: в работе 2012 года у больных с хроническим ШЛУ-ТБ назначение линезолида приводило к высокой частоте конверсии мокроты; позже группа представила финальные итоги, подтвердив эффективность лечения [76, 77].

В Китае Tang и соавт. провели проспективное мультицентровое рандомизированное исследование у пациентов с ШЛУ-ТБ: назначение линезолида повышало вероятность благоприятного исхода по сравнению с контролем [113].

В ретроспективном анализе Ndjeka и соавт. продемонстрировали, что включение бедаквилина ассоциировано со значимым снижением общей

смертности у больных МЛУ/РУ-ТБ и ШЛУ-ТБ по сравнению с инъекционно-содержащими режимами [87, 104].

Позднее Ndjeka и соавт. сообщили, что у пациентов, получавших схемы с бедаквилином, отмечены лучшая выживаемость и эффективность лечения по сравнению с режимами без применения бедаквилина [86, 87].

В клинической практике Российской Федерации накоплен значительный опыт применения линезолида и бедаквилина у пациентов с множественной и широкой лекарственной устойчивостью возбудителя туберкулёза. Эти препараты способствуют повышению частоты клинического выздоровления, ускоряют прекращение бактериовыделения и позволяют достичь благоприятных исходов даже у пациентов с тяжёлыми формами заболевания.

По данным А. Э. Эргешова и соавт., повышение эффективности лечения туберкулёза с МЛУ и ШЛУ возбудителя в Российской Федерации было ассоциировано с внедрением препаратов резервного ряда, прежде всего бедаквилина и линезолида [28].

В работах И.А. Васильевой и соавт. показано, что включение линезолида в состав индивидуализированных режимов лечения больных с ШЛУ-туберкулёзом способствует повышению вероятности бактериологической конверсии, особенно при использовании молекулярных методов раннего выявления лекарственной устойчивости. Отмечается, что эффективность таких режимов во многом зависит от длительности применения линезолида и тщательного мониторинга нежелательных явлений [3, 4, 6].

В региональном исследовании, выполненном в Томской области и включившем 39 пациентов с пре-ШЛУ- и ШЛУ-туберкулёзом (по прежнему определению), лечение по V режиму с применением новых препаратов обеспечило излечение у 82,0% больных; при этом у пациентов, получавших бедаквилин в течение всего курса терапии (в среднем 19,3 месяца), доля благоприятных исходов достигала 95,6% [7].

В исследовании Тихонова и соавт. показано, что включение бедаквилина в индивидуализированные схемы у 70 пациентов с МЛУ/пред-ШЛУ/ШЛУ-ТБ

сопровождалось высокой частотой прекращения бактериовыделения к окончанию основного курса: 100% в группах МЛУ и пред-ШЛУ и 89,3% при ШЛУ; при этом продлённое назначение бедаквилина ассоциировалось с дальнейшим регрессом деструктивных изменений без увеличения частоты серьёзных нежелательных явлений [22].

Региональные исследования (Амурская область и др.) подтвердили высокую клиническую эффективность бедаквилина: в различных сериях наблюдений показано увеличение доли успешных исходов лечения и положительная рентгенологическая динамика; отмена препарата фиксировалась крайне редко и была связана преимущественно с сопутствующей патологией [10, 23].

В диссертационном исследовании А.В. Филиппова (2020) доказана высокая эффективность режимов химиотерапии с бедаквилином (78,7% успешных исходов) у больных туберкулезом с множественной лекарственной устойчивостью, при этом ключевыми факторами, определяющими результат лечения, являются не столько исходный спектр резистентности, сколько сохраненная чувствительность к бедаквилину и приверженность пациента терапии [26].

Многоцентровое ретроспективное исследование (n>200), проведённое А.А. Старшиновой и соавт. (2022–2023), показало, что включение бедаквилина в схемы лечения ассоциировано с высокой долей благоприятных исходов: 82% в общей выборке, 89,9% у пациентов с МЛУ-ТБ и 71,9% при ШЛУ-ТБ. При этом летальные исходы чаще были связаны с тяжестью основного заболевания и коморбидной патологией, а не с нежелательными явлениями терапии [18, 19].

Отдельные российские работы отражают особенности реальной клинической практики применения бедаквилина и линезолида. Так, в ретроспективном анализе больных МЛУ-ТБ показано, что полный курс бедаквилина был проведён у большинства пациентов, а использование препарата в составе комбинированных режимов позволяло достичь устойчивой клинико-микробиологической динамики [1]. В исследовании 2020 года показано, что при использовании бедаквилин-содержащих режимов прекращение

бактериовыделения достигалось у 94,4% пациентов, а также отмечалась высокая частота закрытия полостей распада [8].

Обзоры и аналитические работы отечественных специалистов последних лет подчёркивают, что внедрение бедаквилина стало одним из ключевых факторов повышения эффективности лечения больных с лекарственно-устойчивым туберкулёзом в России [3, 4].

Результаты многофакторного анализа, проведённого Н.В. Ставицкой и соавт., подтверждают высокую эффективность и безопасность бедаквилин-содержащих режимов даже у пациентов с длительным неэффективным лечением в анамнезе. Пролонгированный приём бедаквилина более 24 недель не ассоциировался с ростом частоты нежелательных реакций, а значительный вклад в благоприятный исход оказывало сочетание бедаквилина с циклосерином/теризидоном [17].

По данным обзоров, включение линезолида в индивидуализированные схемы у пациентов с МЛУ/ШЛУ-ТБ приводит к ускорению конверсии мокроты и увеличению доли клинических излечений по сравнению со схемами без данного препарата. При этом отмечается необходимость строгого контроля за безопасностью и индивидуализации дозы, что позволяет достичь баланса между эффективностью и переносимостью [27].

Совместное использование бедаквилина и линезолида в клинической практике, в том числе в послеоперационном периоде, показало преимущество по скорости достижения терапевтических целей и сокращению общей продолжительности курса химиотерапии при сопоставимой частоте неблагоприятных явлений по сравнению с традиционными схемами. Этот вывод подтверждён данными С.З. Сулейманова и соавт. [21].

В условиях реальной клинической практики режимы химиотерапии туберкулёза с МЛУ/ШЛУ возбудителя, основанные на применении бедаквилина в сочетании с линезолидом и другими эффективными препаратами, обеспечивают высокую эффективность лечения (до 84,3% при продлении приёма бедаквилина свыше 24 недель) при удовлетворительной переносимости. Продление курса

бедаквилина ассоциируется с более стойким бактериологическим эффектом и не сопровождается значимым увеличением частоты тяжёлых нежелательных реакций при условии тщательного мониторинга безопасности [2].

По данным диссертации А.В. Кукурики (2025), включение бедаквилина и линезолида в схемы химиотерапии является определяющим фактором повышения эффективности лечения у наиболее сложной категории пациентов с коинфекцией ВИЧ и гепатита С. Применение режимов, основанных на этих препаратах (в комбинации с деламаанидом и клофазимином), позволило увеличить долю благоприятных исходов с 75,0% до 87,8% и снизить частоту неблагоприятных исходов с 25,0% до 12,2% по сравнению с группами, где эти препараты не использовались. Отсутствие бедаквилина в схеме лечения является независимым предиктором неблагоприятного исхода (увеличивает шансы в 2,78 раза) [9].

Таким образом, линезолид и бедаквилин в настоящее время являются ключевыми компонентами современных режимов лечения МЛУ/преШЛУ/ШЛУ-туберкулёза, обеспечивая повышение эффективности терапии и улучшение бактериологических и клинических исходов. Однако их применение сопровождается риском развития клинически значимых нежелательных реакций, что требует строгого мониторинга безопасности и индивидуализации терапии [16, 25].

1.3 История лечения туберкулёза

Анализ исторических данных свидетельствует о значительной эволюции подходов к лечению туберкулёза. До 1940-х годов, в доантибактериальную эру, основными методами лечения являлись санаторно-курортное лечение, коллапсотерапия и хирургическое удаление поражённых участков лёгких. Санаторная система рассматривалась как основной способ сдерживания распространения туберкулёза за счёт изоляции пациентов. Несмотря на проводимые профилактические и лечебные мероприятия, в период Первой мировой войны заболеваемость и смертность от туберкулёза резко возросли; смертность увеличилась примерно на 40%. Отсутствие эффективных

лекарственных средств делало лечение длительным, дорогостоящим и малоэффективным [11, 33, 45, 82, 94, 142].

Качественный перелом в лечении туберкулёза произошёл в середине XX века с открытием антибиотиков. Первым эффективным противотуберкулёзным препаратом стал стрептомицин, выделенный З. Ваксманом и его сотрудниками из *Streptomyces griseus*. С 1944 года стрептомицин начал применяться в клинической практике и впервые позволил добиться улучшения и выздоровления у пациентов с ранее смертельными формами туберкулёза, включая милиарный туберкулёз и туберкулёзный менингит. Вместе с тем быстрое развитие лекарственной устойчивости *Mycobacterium tuberculosis* ограничило эффективность монотерапии стрептомицином и обусловило необходимость поиска новых препаратов [40, 48, 64, 65, 101, 121].

В начале 1950-х годов был открыт изониазид - первый пероральный высокоэффективный и относительно недорогой противотуберкулёзный препарат. Его антимикобактериальная активность была независимо выявлена несколькими исследовательскими группами, а уже с 1952 года препарат широко применялся в клинической практике и получил быстрое одобрение регулирующих органов. Несмотря на развитие устойчивости при монотерапии, изониазид стал базовым препаратом для лечения активного туберкулёза и профилактической терапии [38, 100, 107].

Осознание проблемы лекарственной устойчивости привело к формированию принципа комбинированной химиотерапии. В последующие годы были внедрены ключевые противотуберкулёзные препараты: парааминосалициловая кислота (ПАСК), пиразинамид, этамбутол и рифампицин. Особенно важную роль сыграл рифампицин, обладающий выраженным бактерицидным эффектом и позволивший существенно сократить длительность лечения [73, 78, 108, 122].

К 1970–1980-м годам были сформированы стандартные схемы лечения лекарственно-чувствительного туберкулёза продолжительностью 6–9 месяцев, основанные на комбинации изониазида, рифампицина, пиразинамида и

этамбутола (HRZE/HR), которые на длительное время стали основой противотуберкулёзной терапии [54].

Неправильное или прерванное лечение привело к глобальному распространению штаммов ТБ, устойчивых к изониазиду и рифампицину (МЛУ-ТБ), а затем и к препаратам второго ряда (ШЛУ-ТБ).

В начале 1990-х ВОЗ и Международный союз борьбы с туберкулезом и легочными заболеваниями выделили определение: МЛУ-ТБ — это устойчивость как минимум к изониазиду и рифампицину [52, 129].

Распространение МЛУ-ТБ привело к использованию препаратов «второго ряда»:

1. Фторхинолоны: Офлоксацин, левофлоксацин, моксифлоксацин (1980-е-1990-е). Стали ключевыми в схемах лечения МЛУ-ТБ.
2. Инъекционные препараты: Канамицин, амикацин, капреомицин. Показали эффективность, но оказались достаточно токсичными препаратами.
3. Пероральные препараты: Этионамид/протионамид, циклосерин/теризидон.

На фоне применения препаратов «второго ряда» также отмечалось быстрое распространение штаммов с устойчивостью к ним.

Глобальная рабочая группа ВОЗ в 2006 году ввела термин ШЛУ-ТБ: МЛУ-ТБ + дополнительная устойчивость к любому фторхинолону и как минимум к одному инъекционному препарату второй линии (канамицин, амикацин, капреомицин). Устойчивость к H и R резко снижала эффективность стандартных 6-месячных схем, требовала длительного (18-24 мес), дорогого и токсичного лечения с худшими исходами [39, 126].

Распространение штаммов с МЛУ и ШЛУ МБТ значительно снижала эффективность противотуберкулезных мероприятий. Традиционные схемы лечения не давали должного эффекта, а разработка новых препаратов с

антимикобактериальной активностью не велась последние десятилетия.

Учитывая актуальность проблемы, проводились множественные исследования для поиска новых эффективных противотуберкулезных препаратов.

Для лечения туберкулеза стали доступны следующие препараты:

1. Линезолид (Lzd): Антибиотик класса оксазолидинонов, изначально не применявшийся для лечения ТБ, но показавший высокую эффективность при МЛУ/ШЛУ-ТБ [44].

2. Бедаквилин (Bdq) (2012): Первый препарат нового класса (ингибитор АТФ-синтазы) за 40 лет, одобренный FDA специально для лечения МЛУ-ТБ (разработан Janssen Pharmaceutica). Показывает высокую эффективность в лечении туберкулеза с лекарственной устойчивостью возбудителя [31].

3. Деламамид (Dlm) (2014): Ингибитор синтеза миколовых кислот, одобрен для лечения МЛУ-ТБ (Otsuka Pharmaceutical) [83].

4. Претоманид (Pa) (2019): Аналогичен деламаниду, одобрен FDA (разработан TB Alliance) [42].

С появлением новых пероральных препаратов (бедаквилин, линезолид, деламамид) и данных об их эффективности, ВОЗ модернизировала классификацию. Новое определение ШЛУ-ТБ: МЛУ/Рифампицин-устойчивый ТБ (RR/MDR-ТБ) + устойчивость к любому фторхинолону (FQ). Устойчивость к инъекционным препаратам больше не являлась обязательной [134].

Новые противотуберкулезные препараты показывали высокую эффективность в лечении лекарственно-устойчивого туберкулеза, в связи с чем ВОЗ классифицировала препараты на три группы по степени их эффективности и необходимости добавления во все режимы противотуберкулезной терапии с лекарственной устойчивостью возбудителя. Такие препараты как Линезолид и Бедаквилин относятся к группе А – высокоэффективным препаратам, которые рекомендуется включать во все режимы лечения устойчивого туберкулеза при отсутствии противопоказаний. К группе А также относятся препараты группы

фторхинолонов. Группа В: Другие основные пероральные препараты высокой эффективности (Клоfazимин, Циклосерин/Теризидон, Этионамид/Протионамид, Пиразинамид, Этамбутол, Деламамид). Группа С: дополнительные препараты для завершения схемы лечения и случаи, когда препараты групп А и В не могут быть использованы: включает инъекционные препараты (амикацин, капреомицин, стрептомицин), ПАСК, имипенем-циластатин/меропенем, амоксициллин-клавуланат, тиацетазон (в некоторых регионах) [135].

Даже новые схемы лечения лекарственно-устойчивого туберкулеза остаются длительными и могут иметь серьезные побочные эффекты, в связи с чем часто отмечается снижение приверженности к лечению больных туберкулезом (прерывание лечения, нерегулярный прием противотуберкулезных препаратов), что приводит к распространению туберкулеза с более широким спектром лекарственной устойчивости, включая недавно зарегистрированные для лечения ТБ препараты.

По литературным данным появляются сообщения об устойчивости МБТ к линезолиду и бедаквилину. В 2020 году, учитывая внедрения новых препаратов и подходов к лечению, рост лекарственной устойчивости, была изменена дефиниция туберкулеза с широкой лекарственной устойчивостью МБТ и введена в официальный международный оборот дефиниции туберкулеза с пред-широкой лекарственной устойчивостью [13, 131]. В соответствии с обновленными дефинициями туберкулезом с пред-широкой лекарственной устойчивостью возбудителя (пре-ШЛУ-ТБ) считается туберкулез, вызванный штаммами микобактерий туберкулеза, устойчивых как минимум к рифампицину и любому фторхинолону. Туберкулезом с широкой лекарственной устойчивостью возбудителя (ШЛУ-ТБ) считается туберкулез, вызванный микобактериями, устойчивыми как минимум к рифампицину и фторхинолону и одному из препаратов группы «А» (бедаквилину и/или линезолиду).

Развитие методов лечения туберкулёза прошло путь от эмпирических и в значительной мере паллиативных подходов - санаторно-курортного лечения и хирургических вмешательств - к созданию высокоэффективных

комбинированных схем химиотерапии. Внедрение стрептомицина в 1940-е гг., изониазида в начале 1950-х и рифампицина в 1960-х гг. определило основу стандартных режимов терапии и позволило впервые достичь устойчивого контроля над туберкулёзом. Однако распространение множественной и широкой лекарственной устойчивости МБТ вновь сделало проблему лечения крайне актуальной.

Появление новых противотуберкулёзных препаратов - бедаквилина и линезолида - стало принципиальным этапом в терапии МЛУ- и ШЛУ-ТБ. Их включение в приоритетные режимы лечения, рекомендованные ВОЗ, способствовало увеличению частоты успешных исходов и сокращению длительности терапии. Вместе с тем именно для этих препаратов крайне важно развитие и внедрение методов надёжного определения лекарственной устойчивости, включающих не только фенотипические, но и молекулярно-генетические подходы.

1.4. Линезолид

1.4.1 История открытия линезолида

В конце 1970-х гг. были описаны первые соединения группы оксазолидинонов, обладавшие антибактериальной активностью против грамположительных микроорганизмов. Это был принципиально новый класс антибиотиков, не имеющий структурного родства с ранее известными средствами. Ранние оксазолидиноны демонстрировали выраженную токсичность и имели недостаточные фармакокинетические свойства. Продолжался поиск молекулы, которая сохранила бы антибактериальную активность, но при этом обладала безопасностью для клинического применения. Из множества кандидатов именно линезолид показал: почти 100% пероральную биодоступность, высокий уровень активности против метициллин-резистентного золотистого стафилококка (MRSA) и ванкомицин-резистентных энтерококков (VRE), лучший профиль безопасности по сравнению с ранними аналогами. Это позволило вывести линезолид в клинические исследования и далее для применения в клинической практике.

Линезолид стал первым антибиотиком нового класса, одобренным для клинического применения (FDA, 2000). Его появление имело критически важное значение в условиях нарастающей проблемы антибиотикорезистентности [53, 56, 89].

1.4.2 Механизм действия линезолида

Механизм действия линезолида обусловлен ингибированием синтеза белка в микробной клетке. В отличие от традиционных антибиотиков, действующих на белковый синтез (макролиды, аминогликозиды, тетрациклины, хлорамфеникол), линезолид блокирует самый ранний этап трансляции - формирование иницирующего комплекса.

Основная мишень линезолида - 23S рРНК в составе 50S субъединицы бактериальной рибосомы. 23S рРНК (рибосомальная рибонуклеиновая кислота) — это крупный компонент 50S субъединицы прокариотической рибосомы. Она играет ключевую роль в катализе образования пептидной связи, являясь частью пептидилтрансферазного центра (ПТЦ) [91, 103, 112, 138].

23S рРНК делится на шесть доменов (I–VI):

Домен I: участвует в связывании рибосомных белков L3 и L4, начало формирования структуры 50S.

Домен II: Важен для формирования межсубъединичных мостиков с 30S.

Домен III: поддерживает структуру пептидилтрансферазного центра.

Домен IV: Связан с туннелем выхода полипептида (exit tunnel), здесь связываются некоторые макролиды (например, эритромицин).

Домен V: основная мишень линезолида и других антибиотиков, содержит пептидилтрансферазный центр (ПТС) — катализирует перенос аминокислот.

Домен VI: менее изучен, но участвует в стабилизации 3D-структуры.

Линезолид связывается вблизи центра пептидилтрансферазы, точнее - в домене V 23S рРНК, частично перекрывая участок, где взаимодействуют инициаторная тРНК и мРНК. Такое связывание препятствует нормальной стыковке 30S и 50S субъединиц в полноценный 70S иницирующий комплекс [53, 71, 75, 123].

В отличие от многих других антибиотиков, линезолид не нарушает удлинение (элонгацию) цепи и не разрушает уже существующие рибосомы, а предотвращает начало сборки [123].

Блокада инициации приводит к бактериостатическому эффекту (для большинства микроорганизмов). В отношении *Mycobacterium tuberculosis* линезолид проявляет выраженную активность, но также в основном бактериостатическую, хотя при высоких концентрациях может наблюдаться бактерицидный эффект [140].

1.4.3 Лечение туберкулеза с применением линезолида

Линезолид изначально синтезирован для лечения внебольничных и госпитальных пневмоний, тяжелых кожных инфекций и других инфекций, вызванных устойчивыми к антибиотикам микроорганизмами

Мировой рост случаев лекарственно-устойчивого туберкулёза (МЛУ-ТБ и ШЛУ-ТБ) привёл к поиску новых терапевтических подходов. Интерес к линезолиду как противотуберкулезному средству возник почти сразу после его появления. Ключевой предпосылкой стала его уникальная механизм действия, который отличается от действия других противотуберкулезных препаратов, что теоретически снижало риск перекрестной устойчивости.

Первые работы по применению линезолида при туберкулезе были опубликованы в середине 2000-х. Одно из первых масштабных исследований успешного применения линезолида принадлежало G. H. Park et al. В этой работе представлен ретроспективный анализ 10 пациентов больных туберкулезом с МЛУ возбудителя, лечение которых было безуспешно. Добавление линезолида к индивидуальной схеме терапии привело к стойкому абациллированию мокроты у

9 из 10 пациентов. После публикации этой работы интерес к линезолиду, как противотуберкулёзному препарату, возрос [93].

Активно изучалась бактерицидная активность линезолида. По данным Dietze et al. (2008), установлено, что линезолид обладает умеренной ранней бактерицидной активностью в отношении быстро делящихся микобактерий туберкулёза у пациентов с кавернозным туберкулёзом лёгких в течение первых двух дней приёма, но его ранняя бактерицидная активность непродолжительна [49].

В исследовании 2008 года у 9 пациентов из 10 с ШЛУ-ТБ достигнуто излечение, у всех пациентов, применявших линезолид, достигнута конверсия мокроты [41].

В дальнейшем появлялись новые публикации, которые подтверждали высокую эффективность линезолида в достижении конверсии мокроты и излечения у пациентов с ШЛУ-ТБ. Также стали появляться данные о серьезных побочных эффектах (миелосупрессия, периферическая и оптическая нейропатия), что стало ограничивать длительное применение линезолида. Велись активные поиски оптимального режима дозирования препарата для сохранения его эффективности и снижения риска токсического действия. Появились исследования, предполагающие, что сниженная доза (600 мг 1 раз в сутки или даже 300 мг/сут) может сохранять эффективность при значительном снижении частоты нежелательных явлений [85]. Установлено, что добавление линезолида к основной схеме противотуберкулезной терапии повышает эффективность лечения. Через 6 месяцев конверсия мокроты наблюдалась у 34 из 39 пациентов (87%) [49].

В ретроспективном исследовании Xu et al. (2012) проанализировано лечение у 18 пациентов с кавернозным туберкулезом легких и ШЛУ МБТ. Установлено, что бактериовыделение прекратилось в среднем через 7 недель [137].

Интерес к линезолиду не угасал. Появились данные более строгих клинических испытаний [111]. В исследовании Liénhardt et al. (2012) официально

подтверждена роль линезолида в лечении туберкулеза, проведено рандомизированное контролируемое исследование, проводившиеся в Африке, которое показало, что добавление линезолида к стандартной схеме лечения МЛУ-ТБ значительно ускоряет конверсию мокроты [79].

Систематический обзор, опубликованный в *2014 году*, показал, что линезолид может быть эффективным при лечении МЛУ и ШЛУ-ТБ, однако его применение ограничено из-за серьёзных побочных эффектов, таких как миелосупрессия и нейропатия. Доля конверсий посева мокроты в группе, получавшей линезолид, составила 78,8% к 24 месяцам, что значительно выше, чем в контрольной группе (37,6%, $p < 0,001$). Эффективность лечения в группе, получавшей линезолид, составила 69,7 %, в контрольной группе - 34,4 %, $p=0,004$. В 81.8% пациентов наблюдались клинически значимые нежелательные явления [113].

В работе Conradie et al. (2020) было показано, что через 6 месяцев после окончания лечения выявлен благоприятный исход у 98 пациентов (90 %; 95 % доверительный интервал от 83 до 95 %). Токсические эффекты линезолида, такие как периферическая нейропатия (возникшая у 81 % пациентов) и миелосупрессия (48 %), хотя и были распространёнными, поддавались лечению и часто приводили к снижению дозы или прерыванию лечения линезолидом [42].

В настоящее время линезолид прочно вошел в рекомендации ВОЗ по лечению МЛУ/ШЛУ-ТБ как ключевой препарат группы А (высокоприоритетный). Линезолид рекомендуется для всех пациентов с МЛУ/ШЛУ-ТБ в составе пероральных схем длительностью 6-9 месяцев (режим ВPaLM) или более длительных индивидуальных режимов [136].

Таким образом, линезолид прошёл путь от препарата, синтезированного для лечение неспецифических инфекций, до ключевого компонента современных схем терапии лекарственно-устойчивого туберкулёза. Несмотря на токсичность,

оптимизация дозы и длительности приёма позволила включить его в режимы первой линии для лекарственно-устойчивого туберкулеза.

1.4.4 Лекарственная устойчивость *M.tuberculosis* к линезолиду

1.4.4.1 Молекулярные механизмы развития устойчивости МБТ к линезолиду

Лекарственная устойчивость возникает вследствие спонтанных мутаций в геноме, приводящих к изменению белка-мишени для препарата, в результате чего противотуберкулезный препарат не может связаться с измененным белком, приводя к лекарственной устойчивости. Как было сказано ранее, линезолид взаимодействует с 23S рРНК и близко расположенными рибосомными белками L3/L4, блокируя инициацию трансляции и синтез белка. Известно, что мутации в генах: *rrl* (кодирует синтез 23S рРНК), *rplC* (L3 рибосомальный белок), *rplD* (L4 рибосомальный белок) могут приводить к устойчивости к линезолиду [70].

Мутации в гене *rrl* (23S рРНК)

Важным механизмом развития устойчивости является появление замен нуклеотидов в домене V 23S рРНК. В литературе описан широкий спектр мутаций в гене *rrl*. Наиболее частые мутации возникают в 4 положениях: G2299T, G2814T, G2270T/C and G2746A [35, 36, 62, 63, 77, 84, 92, 139, 140,141]. Мутации в гене *rrl* ассоциированы со значительным повышением МИК линезолида в диапазоне от 8 до 50 раз [36, 70].

Мутации в гене *rplC* (L3 рибосомальный белок)

Наиболее изученный и клинически значимый механизм устойчивости к линезолиду связан с мутациями в гене *rplC*, кодирующем рибосомный белок L3. Наиболее часто описанной и клинически значимой мутацией является замена Cys154Arg, возникающая вследствие нуклеотидной замены T460C (*rplC*:C154R) [37,117,141]. Данный вариант был впервые идентифицирован в экспериментальных моделях *in vitro* [37], а позднее подтверждён в клинических изолятах, в том числе в России [117, 141].

Согласно «Каталогу мутаций ВОЗ» (2021), мутация *rplC:C154R* отнесена к категории с высокой достоверностью как основной маркер устойчивости к линезолиду. Однако её диагностическая чувствительность ограничена и составляет около 38%, что связано с наличием альтернативных механизмов резистентности, включая изменения в *rrl* и другие пока неидентифицированные факторы [124].

В многоцентровых исследованиях частота выявления мутации *rplC:C154R* среди резистентных изолятов варьирует от 37 до 90% [70].

Другие замены в *rplC* описывались реже и, как правило, не воспроизводились в различных выборках [55].

1.4.4.2 Распространенность устойчивости к линезолиду

С самого начала применения линезолида в лечении туберкулеза стали появляться сообщения о возникновении устойчивости штаммов МБТ к линезолиду. Первым документированным сообщением о клинических линезолид-резистентных изолятах появилось в 2007 году. В исследовании из Германии среди 210 штаммов с МЛУ выявлено 4 штамма (1.9%) резистентных к линезолиду (MIC 4–8 мг/мл). Авторами не были выявлены мутации в ожидаемых генах, таким образом механизм в тех образцах остался неясным [99].

В период 2008-2014 гг проводятся расширенные наблюдения *in vitro*. В это же время начинается клиническое применение линезолида в лечении туберкулеза с МЛУ и ШЛУ МБТ. В исследовании из Тайваня 2008 года *in vitro* показана активность линезолида в отношении МБТ, в том числе изолятов с МЛУ. Исследование подтверждало общую чувствительность штаммов МБТ к линезолиду. Однако были выявлены 3 штамма с повышенной MIC, которая составила 4 мкг/мл. Пациенты, которые выделяли МБТ с повышенной MIC к линезолиду, ранее не получали лечение с применением этого препарата [67].

В последующие года проводилось накопление данных о формировании устойчивости МБТ к линезолиду. Повышение клинического применения линезолида в лечении лекарственно-устойчивого туберкулеза привело к сообщениям о циркуляции штаммов МБТ с устойчивостью к линезолиду. В

исследовании Du et al. (2021г) проанализированы 277 пациентов, в лечении 115 из них применялся линезолид. Было показано, что у 19/277 (6.9%) штаммов МБТ, выделенных от пациентов, зарегистрирована устойчивость к линезолиду. Устойчивость чаще выявлялась у пациентов, ранее получавших линезолид [51].

В обзоре Azimi et al., (2022г) отмечено, что частота устойчивости МБТ к линезолиду среди с пациентов с МЛУ-ТБ составляет около 4.2% (95% CI 3.5–5.0%) [34].

В 2023 году была проанализирована когорта пациентов за 2016 - 2020 года. Среди 365 пациентов с лекарственно-устойчивым туберкулезом резистентность обнаружена у 72/365 (19.7%); 78% из них ранее лечились с применением линезолида. Однако в 22% случаев не имелось документально подтвержденного применения линезолида. Сделан вывод о циркуляции линезолид-устойчивых штаммов в популяции, что представляет собой серьезную проблему в регионах с высокой распространенностью лекарственно-устойчивого туберкулеза [118].

В РФ ряд исследователей также показывает нарастание лекарственной устойчивости штаммов МБТ к линезолиду. В работе Зименкова и соавт. (2017г) проанализированы 85 изолятов от 27 пациентов с приобретенной устойчивостью МБТ к линезолиду [141].

В Москве проанализированы культуры 322 пациентов, которые получали лечение с применением линезолида. Всего в период с января 2017 года по ноябрь 2020 года было выявлено 20 случаев туберкулеза с приобретенной или первичной резистентностью к линезолиду [117].

В исследовании 2020 года проанализированы данные из 8 регионов РФ, получены данные, что частота ШЛУ МБТ среди пациентов с преШЛУ МБТ составила 3,0% для всех случаев, первичная ШЛУ составила 1,6% [20].

По данным национального мониторинга за 2023–2024 гг. устойчивость *Mycobacterium tuberculosis* к линезолиду в Российской Федерации составляла 3,0–7,6% [5].

Литературные данные показывают увеличение числа случаев устойчивости МБТ к линезолиду, особенно в регионах с активным применением линезолида и в регионах с большой распространенностью МЛУ туберкулеза. Исследования демонстрируют, что предшествующее лечение с применением линезолида повышает риск приобретенной резистентности. Таким образом, длительное применение линезолида, прерывание лечения способствует росту резистентности.

1.5 Бедаквилин

1.5.1 История открытия бедаквилина

История бедаквилина начинается в конце 1990-х годов, когда исследователи компании Janssen Pharmaceutica (Johnson & Johnson) проводили систематический скрининг соединений класса диарилхинолинов. Целью было найти новые молекулы с принципиально иным механизмом действия по сравнению с традиционными противотуберкулёзными препаратами. В 2005 году Andries и соавт. впервые описали соединение R207910 (позднее получившее кодовое обозначение TMC207). Оно продемонстрировало выраженную активность *in vitro* против чувствительных и лекарственно-устойчивых штаммов *Mycobacterium tuberculosis*, а также высокую эффективность в моделях туберкулёза на мышах. Препарат проявил уникальный механизм действия - ингибирование протонного насоса АТФ-синтазы микобактерий, что резко отличало его от всех доступных на тот момент средств [31]. В последующие годы были проведены доклинические исследования, подтвердившие эффективность и безопасность соединения на животных моделях [43]. В середине 2000-х годов стартовали клинические испытания I и II фаз с участием пациентов с множественной и широкой лекарственной устойчивостью возбудителя. Эти исследования продемонстрировали более быстрое наступление конверсии культур мокроты при включении бедаквилина в состав комбинированной терапии [47].

31 декабря 2012 г. управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA) выдало ускоренное одобрение бедаквилина для лечения взрослых пациентов с легочным МЛУ-ТБ в составе

комбинированной терапии (U.S. FDA, 2012). Это стало первым случаем регистрации нового противотуберкулёзного препарата за более чем 40 лет. В дальнейшем бедаквилин получил одобрение в других странах, был включён в рекомендации Всемирной организации здравоохранения (WHO, 2013) и стал важным компонентом схем лечения устойчивых форм туберкулёза [97, 133].

1.5.2 Механизм действия бедаквилина

Основной мишенью препарата является мембранный фермент АТФ-синтаза *Mycobacterium tuberculosis*, отвечающий за синтез аденозинтрифосфата (АТФ). Препарат связывается преимущественно с субъединицей *c* (AtpE) ротора фермента, блокируя протонный транспорт и вращение комплекса, что приводит к остановке процесса синтеза АТФ [31]. Структурные исследования подтвердили данное взаимодействие: показано, что молекула бедаквилина внедряется в полость *c*-кольца, препятствуя протонному току, а также стабилизирует интерфейс субъединиц *a-c* [57, 96]. Такое специфическое ингибирование вызывает падение внутриклеточного уровня АТФ и нарушение протондвижущей силы, что приводит к гибели микобактерий даже в условиях гипоксии и в фазе замедленного метаболизма [98].

Характерной особенностью препарата является отсроченный бактерицидный эффект: вначале наблюдается быстрое прекращение роста микобактерий, а гибель наступает лишь после значительного снижения уровня АТФ. Это связано с метаболической перестройкой клетки, направленной на временную компенсацию энергетического дефицита [72]. Дополнительно описаны ионофорные и разобщающие свойства бедаквилина, способствующие ускоренному истощению энергетических ресурсов микобактерий [59, 60].

Важно отметить, что АТФ-синтаза микобактерий имеет ряд структурных особенностей, отличающих её от митохондриальной АТФ-синтазы человека, что обеспечивает относительную селективность действия препарата [80]. Тем не менее при высоких концентрациях бедаквилин способен ингибировать

митохондриальную АТФ-синтазу и вызывать удлинение интервала QT, что объясняет часть его побочных эффектов [50, 81].

Таким образом, механизм действия бедаквилина основан на специфическом ингибировании АТФ-синтазы микобактерий с последующим глубоким нарушением энергетического метаболизма клетки, что обеспечивает высокую эффективность препарата при лечении МЛУ- и ШЛУ-ТБ.

1.5.3 Лечение туберкулеза с применением бедаквилина

Первые данные о клинической эффективности бедаквилина (ранее TMC207) были получены в рандомизированном исследовании Diason и соавт. (2009), где показано, что добавление препарата к терапии у пациентов с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ-ТБ) ускоряет конверсию посевов мокроты [46]. В дальнейшем в рамках исследований II фазы (C208/C209) было продемонстрировано, что бедаквилин обеспечивает более высокую частоту и скорость конверсии культуры по сравнению с плацебо [47].

Реальные данные из программного применения в Южной Африке подтвердили высокую эффективность схем с включением бедаквилина при лечении лекарственно-устойчивого туберкулеза. В исследовании Ndjeka и соавт. (2018) доля успешных исходов достигала 73–80 % [86]. В более поздних когортных наблюдениях отмечено преимущество коротких пероральных схем на основе бедаквилина над стандартными режимами [86, 87].

Новые режимы терапии с бедаквилином включают комбинации с претоманидом и линезолидом (ВРаL). В исследовании Nix-ТВ было показано, что режим ВРаL обеспечивает высокую частоту благоприятных исходов — около 90 % [42].

Таким образом, от первых исследований II фазы до современных 24-недельных полностью пероральных режимов бедаквилин показал значимое улучшение исходов лечения МЛУ- и ШЛУ-ТБ, что позволило включить его в международные рекомендации как один из основных препаратов для терапии лекарственно-устойчивых форм заболевания.

1.5.4 Лекарственная устойчивость *M.tuberculosis* к бедаквину

*1.5.4.1 Молекулярные механизмы развития устойчивости *M.tuberculosis* к бедаквину*

Устойчивость *Mycobacterium tuberculosis* к бедаквину формируется за счёт специфических и неспецифических механизмов. Наиболее изученными являются мутации в гене *atpE*, кодирующем субъединицу с АТФ-синтазы. Эти изменения препятствуют связыванию препарата с мишенью и приводят к развитию резистентности [32].

Другим важным механизмом является инактивация регулятора Rv0678, контролирующего систему эффлюкса MmpS5–MmpL5. Мутации в этом гене вызывают активацию транспортного насоса и снижение внутриклеточной концентрации препарата. Кроме того, подобные изменения часто сопровождаются перекрёстной резистентностью к клоfazимину [61, 120].

К дополнительным механизмам относится участие гена *perQ*, изменения в котором ассоциированы с низким уровнем устойчивости к бедаквину и снижением эффективности схем терапии [30]. В последние годы появились сообщения о вовлечении других генов, например *glpK*, однако их роль требует дальнейшего подтверждения [58].

Таким образом, формирование устойчивости к бедаквину у *M.tuberculosis* связано как с мутациями в мишени препарата (*atpE*), так и с нетаргетными изменениями, влияющими на транспорт и метаболизм. Наибольшее клиническое значение в настоящее время имеют мутации в *Rv0678*, которые считаются основной причиной резистентности в реальной практике.

Мутации в гене *atpE*

В первых экспериментах по селекции устойчивости *in vitro* были выявлены изменения в кодонах 28, 63 и 66 *atpE*, которые сопровождались значительным повышением минимальной подавляющей концентрации (МПК) бедаквина [68]. Наиболее часто описываемыми вариантами являются замены A28V/P, A63P и I66M/L, обеспечивающие рост МИК в десятки раз [32, 58]. Эти изменения локализируются в области связывания бедаквина с с-кольцом АТФ-синтазы, что

подтверждается структурными и биофизическими исследованиями [106]. Дополнительные варианты, такие как G61A и V32A, также были зарегистрированы при лабораторных экспериментах и ассоциированы с выраженным снижением чувствительности к препарату [58, 106].

Несмотря на то, что мутации в *atpE* встречаются реже, чем изменения в генах, связанных с системой эффлюкса, они имеют большее клиническое значение. В клинической практике такие варианты встречаются у больных, получавших терапию бедаквилином, и сопровождаются существенным ростом МИК [32, 116].

В исследовании И.В. Перетокиной с соавторами (2024) изучены 16 штаммов *M. tuberculosis*, выделенных от 16 больных туберкулезом легких, которые сохранили бактериовыделение после окончания курса лечения, включавшего бедаквалин. В результате исследования в гене-мишени *atpE*, кодирующем субъединицу АТФ-синтазы, обнаружено 6 мутаций с нуклеотидными заменами в кодонах 73, 82, 83, 183, 187 и 188. Авторы отмечают, что мутации встречались как в виде единичных вариантов, так и в виде смешанных (наличие нескольких мутаций в одном гене или одновременные мутации в обоих генах) [12].

Однако отдельные публикации указывают, что не все мутации в *atpE* обязательно приводят к клинической неудаче лечения, что подчёркивает необходимость фенотипической верификации результатов молекулярного тестирования [74].

Мутации в гене *mmpR*

Ген *mmpR* (*Rv0678*) кодирует белок-регулятор, который в норме подавляет экспрессию транспортной системы MmpS5–MmpL5. Эта система является насосом активного эффлюкса и отвечает за выведение из клетки ряда гидрофобных соединений, включая бедаквалин и клофазимин. Мутации в *mmpR* приводят к активации экспрессии эффлюксного насоса и повышенному выведению препарата из бактериальной клетки. Это вызывает формирование

устойчивости к бедаквилину, которая клинически может приводить к снижению эффективности терапии [32, 61].

Первые публикации, указывающие на роль *mpvR* в формировании устойчивости, появились в 2014 г., когда было показано, что изменения в этом гене встречаются как у лабораторно селективированных, так и у клинических изолятов *M.tuberculosis*, устойчивых к бедаквилину [70]. В дальнейшем многочисленные исследования подтвердили, что именно мутации в *mpvR* являются наиболее частой причиной устойчивости к бедаквилину в клинической практике [69, 70, 120].

Изменения в *mpvR* обеспечивают лишь частичное повышение минимальной ингибирующей концентрации. Однако из-за своей распространённости и связи с перекрёстной устойчивостью к клофазимину они имеют существенное клиническое значение [70].

Мутации *mpvR* гетерогенны и могут встречаться в различных участках гена, включая как точечные замены, так и делеции и вставки [90]. Кроме того, у ряда пациентов устойчивость, связанная с *mpvR*, развивается во время терапии бедаквилином, что подтверждает их роль в приобретённой резистентности [95].

В литературе описан широкий спектр изменений в *mpvR*. Среди точечных замен выделяют варианты Q22P, A35V, R50W, S53P, D88G, F62V, R72W, I67S, A99V, A101V [69]. Сообщались также нонсенс-мутации (E49, Q114, W42***), приводящие к укорочению белка и полной утрате функции репрессии [110, 120]. Кроме того, выявлены многочисленные делеции и вставки (например, delA28, insG64, delG137, insC198), вызывающие сдвиг рамки считывания и синтез нефункционального белка [90]. Описаны даже случаи полной или частичной делеции гена *Rv0678*, также сопровождающиеся устойчивостью к бедаквилину [95].

Таким образом, мутации в *mpvR* являются ключевым нетаргетным механизмом устойчивости *M.tuberculosis* к бедаквилину. Их выявление имеет важное значение для молекулярно-генетической диагностики и для подбора адекватных схем лечения лекарственно-устойчивого туберкулёза.

1.5.4.2 Распространенность устойчивости к бедаквилину

Сразу после внедрения бедаквилина в клиническую практику начали поступать сообщения о появлении случаев устойчивости. Первые публикации, отражающие формирование фенотипической резистентности *Mycobacterium tuberculosis*, появились вскоре после одобрения препарата, в середине 2010-х гг. В клинических исследованиях II фазы, а также при наблюдениях в реальных условиях отмечались случаи отсутствия конверсии культуры или рецидива заболевания у отдельных пациентов, что интерпретировалось как возможное развитие устойчивости к препарату [47].

К 2014–2016 гг. в ряде стран (Южная Африка, Франция) были описаны первые документированные случаи формирования резистентности к бедаквилину у пациентов с лекарственно-устойчивым туберкулёзом, проходивших лечение в рамках национальных программ [32, 119]. Уже тогда подчёркивалась необходимость активного мониторинга чувствительности к препарату в условиях широкого внедрения новых схем терапии. Дальнейшие наблюдения в программных когортах показали, что устойчивость может формироваться как в процессе лечения, так и выявляться у пациентов, ранее не получавших бедаквилин, что указывало на появление первичной резистентности [69, 120].

Эти данные были подтверждены в ретроспективных исследованиях и систематических обзорах, где сообщалось о фиксируемой, пусть и пока относительно низкой, распространённости устойчивости к бедаквилину среди больных туберкулёзом с множественной и широкой лекарственной устойчивостью [88, 90].

К 2020-м годам накопился значительный массив данных о том, что случаи устойчивости к бедаквилину регистрируются в разных регионах мира, причём как у пациентов с предшествующим лечением препаратом, так и у впервые выявленных больных. Распространённость такой резистентности варьирует в зависимости от региона и особенностей применения препарата, но остаётся важным вызовом для программ борьбы с лекарственно-устойчивым туберкулёзом [66, 95, 130]. По данным национального мониторинга за 2023–2024 гг.

устойчивость *Mycobacterium tuberculosis* к бедаквину в Российской Федерации составляла 6,5–12,1% [5].

Таким образом, литературные данные подтверждают, что устойчивость к бедаквину начала фиксироваться вскоре после начала его клинического применения и со временем приобрела всё более широкое распространение в мире.

1.6 Методы определения лекарственной устойчивости *M.tuberculosis* к линезолиду и бедаквину и роль генотипического тестирования к линезолиду и бедаквину

В настоящее время основным методом определения лекарственной устойчивости *Mycobacterium tuberculosis* (МБТ) к новым противотуберкулёзным препаратам, включая линезолид и бедаквлин, остаются фенотипические тесты. Согласно руководствам ВОЗ (2024), стандартом является метод пропорций на твёрдых средах Löwenstein–Jensen или Middlebrook 7H10/7H11, а также системы в жидких средах ВАСТЕС MGIT 960 с установленными критическими концентрациями для линезолида и бедаквина [132]. Эти методы позволяют количественно оценивать рост микобактерий в присутствии препаратов, определять минимальные ингибирующие концентрации (МИК) и классифицировать изоляты как чувствительные или резистентные [125]. Однако фенотипическое тестирование характеризуется длительностью (результаты доступны только через несколько недель) и подвержено вариабельности в зависимости от условий инкубации, состава среды и методических нюансов [114].

Одновременно с этим всё большее значение приобретает генотипическая диагностика устойчивости. Для линезолида ключевыми молекулярными мишенями являются мутации в генах *rplC* (замена Cys154Arg - наиболее частая и связана с высоким уровнем устойчивости), *rrl* (мутации в 23S рРНК, формирующие низкоуровневую устойчивость) и реже *rplD* [105, 125]. Для бедаквина основными механизмами служат мутации в гене-репрессоре *Rv0678*, контролирующем экспрессию насосов MmpL5-MmpS5, что ведёт к перекрёстной устойчивости с клоfazимином; реже встречаются изменения в генах *atpE* и *perQ*

[66, 110, 125]. Выявление этих мутаций позволяет перейти от исключительно фенотипических методов к более быстрым молекулярно-генетическим подходам. Применение секвенирования отдельных генов, панельных тестов или полногеномного секвенирования (WGS) даёт возможность:

1. оперативно определять наличие резистентных вариантов ещё до получения фенотипических результатов;
2. интерпретировать случаи с пограничными значениями МИК;
3. выявлять гетерорезистентность и сочетанные механизмы (например, перекрёстную устойчивость к бедаквилину и клофазимину).

Таким образом, в то время как фенотипическое тестирование остаётся «золотым стандартом» для подтверждения лекарственной устойчивости к линезолиду и бедаквилину, расширение поиска мутаций и внедрение молекулярно-генетических методов рассматривается как ключевое направление, обеспечивающее более раннюю диагностику, мониторинг эффективности терапии и предупреждение распространения устойчивых форм туберкулёза.

Особое внимание в современной литературе уделяется необходимости изучения взаимосвязи выявляемых мутаций, ассоциированных с устойчивостью к линезолиду и бедаквилину, с клиническими исходами терапии. Несмотря на то, что наличие определённых генетических маркеров (например, *rplC* Cys154Arg или мутации в *rrl* для линезолида, а также изменения в *Rv0678*, *atpE*, *pepQ* для бедаквилина) достоверно коррелирует с повышением минимальных ингибирующих концентраций, клиническое значение этих мутаций остаётся недостаточно изученным. В частности, не во всех случаях выявленные изменения сопровождаются неэффективностью лечения, что может быть связано с уровнем резистентности, фармакокинетическими параметрами препарата, сопутствующей терапией и индивидуальными особенностями пациента [110, 114].

Понимание прямой связи между генотипическими маркерами устойчивости и реальными клиническими результатами лечения имеет ключевое значение для практического здравоохранения. Во-первых, это позволит более точно интерпретировать результаты молекулярно-генетического тестирования и

избегать гипердиагностики резистентности. Во-вторых, интеграция данных о мутациях с клиническими исходами (скорость конверсии мокроты, вероятность рецидива, частота неблагоприятных исходов) создаёт предпосылки для разработки клинически значимых порогов резистентности и алгоритмов индивидуализации терапии. Наконец, такая работа необходима для уточнения роли линезолида и бедаквилина в современных противотуберкулёзных схемах, учитывая их центральное значение в режимах лечения лекарственно-устойчивого туберкулёза.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1 Материалы

2.1.1 Дизайн исследования

Для решения поставленных задач проведено аналитическое, сплошное, нерандомизированное, комбинированное (ретроспективно-проспективное) когортное исследование на базе ФГБНУ «Центральный научно-исследовательский институт туберкулёз». Все пациенты находились на лечении в клинических подразделениях учреждения в период с 2011 по 2023 гг.. при этом анализ динамики лекарственной устойчивости возбудителя к линезолиду и бедаквилину проводился за период 2011-2022 годы.

Критерии включения:

- больные туберкулёзом органов дыхания с культурально подтверждённой ШЛУ МБТ (устойчивость к рифампицину, изониазиду, фторхинолонам и к линезолиду и/или бедаквилину);
- возраст старше 18 лет.

Критерии невключения:

- отсутствие данных о лекарственной чувствительности МБТ.

За исследуемый период выявлено 104 пациента с устойчивостью к линезолиду и/или бедаквилину. Три пациента исключены из-за несоответствия критериям включения. В окончательный анализ включено 101 наблюдение. В соответствии с целью исследования пациенты были распределены на три группы:

Группа 1 – больные с лекарственной устойчивостью (ЛУ) МБТ к линезолиду при сохранённой чувствительности к бедаквилину (n = 38; 37,6%);

Группа 2 – больные с лекарственной устойчивостью МБТ к бедаквилину при сохранённой чувствительности к линезолиду (n = 40; 39,6%);

Группа 3 – больные с устойчивостью МБТ к обоим химиопрепаратам (n = 23; 22,8%).

В диаграмме на рис. 1 представлен дизайн диссертационного исследования.

ДИЗАЙН ИССЛЕДОВАНИЯ



Рисунок 1 – Схема дизайна исследования, формирования когорт пациентов с устойчивостью *M.tuberculosis* к линезолиду и/или бедаквилину и последовательность этапов анализа.

На рисунке 1 представлена диаграмма дизайна исследования, отражающая последовательность этапов отбора пациентов и постановки задач. Исследование охватывает период с 2011 по 2023 гг. и включает 3817 пациентов с подтверждённым туберкулёзом, из которых на I этапе выделена подгруппа из 101 пациента с устойчивостью *M.tuberculosis* к линезолиду и/или бедаквилину, что является основным объектом анализа.

На II этапе проведено молекулярно-генетическое исследование для выявления мутаций, ассоциированных с устойчивостью к указанным препаратам. На III и IV этапах анализировались клинические особенности течения заболевания и эффективность химиотерапии с учётом как фенотипической, так и генотипической устойчивости МБТ.

2.1.2 Характеристика больных с ШЛУ МБТ, включенных в исследование

Распределение пациентов по региону проживания

Большинство пациентов проживали в Московской области (16/101; 15,8%) и Республике Дагестан (10/101; 9,9%). По 6 человек (5,9%) приходилось на

Курскую, Калужскую и Самарскую области. Остальные пациенты были распределены по 25 регионам РФ и странам СНГ. Данные по региону проживанию представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Распределение пациентов по региону проживания (n = 101)

| Регион | Абс. (n) | % |
|-------------------------|-----------------|----------|
| Московская область | 16 | 15,84 |
| Республика Дагестан | 10 | 9,90 |
| Курская область | 6 | 5,94 |
| Калужская область | 6 | 5,94 |
| Самарская область | 6 | 5,94 |
| Краснодарский край | 6 | 5,94 |
| Ростовская область | 5 | 4,95 |
| Республика Татарстан | 3 | 2,98 |
| Чеченская Республика | 3 | 2,98 |
| Республика Азербайджан | 3 | 2,98 |
| Северная Осетия | 3 | 2,98 |
| Пермский край | 2 | 1,98 |
| Республика Башкортостан | 2 | 1,98 |
| Республика Тыва | 2 | 1,98 |
| Владимирская область | 2 | 1,98 |
| Волгоградская область | 2 | 1,98 |
| Ивановская область | 2 | 1,98 |
| Москва | 2 | 1,98 |
| Тверская область | 2 | 1,98 |
| Ленинградская область | 1 | 0,99 |
| Липецкая область | 1 | 0,99 |
| Нижегородская область | 1 | 0,99 |
| Новосибирская область | 1 | 0,99 |
| Оренбургская область | 1 | 0,99 |
| Пензенская область | 1 | 0,99 |
| Республика Крым | 1 | 0,99 |
| Республика Мордовия | 1 | 0,99 |
| Республика КЧР | 1 | 0,99 |

| | | |
|---------------------------|-----|------|
| Свердловская область | 1 | 0,99 |
| Смоленская область | 1 | 0,99 |
| Челябинская область | 1 | 0,99 |
| Ярославская область | 1 | 0,99 |
| Еврейская автономная обл. | 1 | 0,99 |
| Курганская область | 1 | 0,99 |
| Чукотский АО | 1 | 0,99 |
| Ямало-Ненецкий АО | 1 | 0,99 |
| Всего | 101 | 100 |

Следует отметить, что географическое распределение пациентов отражает эпидемиологическую ситуацию в плане концентрации случаев ШЛУ-ТБ в регионах с высокой заболеваемостью и миграционной активностью.

Распределение пациентов по полу и возрасту

Среди обследованных больных преобладали мужчины (66/101; 65,3%). Возраст пациентов варьировал от 18 до 65 лет. Наиболее частой возрастной группой были лица в возрастном диапазоне 30-39 лет (35/101; 34,7%), за ними следовали 40-49 лет (27/101; 26,7%). Пациенты моложе 30 лет и старше 50 лет составили 18,8% и 19,8% соответственно. Лиц старше 60 лет было 2/101 (2,0%).

Распределение больных по полу и возрасту представлено в таблице 2.

Как следует из таблицы 2 представленная когорта характеризуется преобладанием мужчин трудоспособного возраста (30–49 лет), что согласуется с данными о современной эпидемиологии МЛУ/ШЛУ туберкулёза.

Таблица 2 – Распределение пациентов по полу и возрасту (n = 101)

| Пол | Возрастная группа | | | | | Всего |
|------------------|-------------------|------------|------------|------------|----------|------------|
| | 18–29 лет | 30–39 лет | 40–49 лет | 50–59 лет | ≥60 лет | |
| Мужчины (n = 66) | 8 (12,1%) | 25 (37,9%) | 20 (30,3%) | 11 (16,7%) | 2 (3,0%) | 66 (65,3%) |
| Женщины (n = 35) | 11 (31,4%) | 10 (28,6%) | 7 (20,0%) | 7 (20,0%) | 0 | 35 (34,7%) |
| Всего (n = 101) | 19 (18,8%) | 35 (34,7%) | 27 (26,7%) | 18 (17,8%) | 2 (2,0%) | 101 (100%) |

Для исключения рисков конфаундинга проведен статистический анализ групп на различия распределения по полу и возрасту. Полученные данные представлены в таблице 3.

Таблица 3 – Сопоставимость больных по полу и возрасту в наблюдаемых группах

| Сравниваемые параметры | Группа 1 n = 38 | Группа 2 n = 40 | Группа 3 n = 23 | Всего | p* |
|--|--------------------|--------------------|--------------------|------------|------|
| Мужчины, n (%) | 21 (55,3%) | 29 (72,5%) | 16 (69,6%) | 66 (65,3%) | 0,16 |
| Женщины, n (%) | 17 (44,7%) | 11 (27,5%) | 7 (30,4%) | 35 (34,7%) | |
| Возраст, Me(Q ₁ -Q ₃) | 38 (31-46) | 39 (32-48) | 37 (30-45) | 38 (31-47) | 0,72 |
| <40 лет, n (%) | 21 (55,3%) | 22 (55,0%) | 13 (56,5%) | 56 (55,4%) | 0,99 |

* p-значение рассчитано с использованием точного критерия Фишера для пола и U-критерия Манна–Уитни / ANOVA для возраста.

Статистически значимых различий в распределении по полу и возрасту между тремя группами выявлено не было ($p > 0,05$). Это свидетельствует о сопоставимости групп по демографическим характеристикам и снижает риск конфаундинга при анализе исходов лечения.

Социальный статус пациентов

Показатели, характеризующие социальный статус пациентов, представлены в таблице 4.

Таблица 4 – Социальный статус пациентов

| Социальный статус | Абс. кол-во (n) | % |
|-------------------|-----------------|------------|
| Инвалидность | 43 | 42,6 |
| Неработающий | 38 | 37,6 |
| Нахождение в ИТУ | 22 | 21,8 |
| Работающий | 9 | 8,9 |
| Учащийся | 6 | 5,9 |
| Пенсионер | 5 | 5,0 |
| Всего | 101 | 100 |

Как следует из представленных в таблице 4 данных, преобладают лица с инвалидностью и неработающие пациенты, что свидетельствует о тяжёлом

течении заболевания, длительном пребывании в стационаре и социальной деинтеграции больных, факторах, влияющих на приверженность лечению и исходы терапии. Доля пациентов, имеющих в анамнезе ИТУ составила 21,8%-22/101.

Следует отметить, что среди наблюдаемых больных не встречалось впервые выявленных пациентов. Доли ранее леченных и больных с рецидивами заболевания представлены в диаграмме на рисунке 2.



Рисунок 2 – Распределение пациентов по истории заболевания

Как следует из данных, представленных на рисунке 2, подавляющее большинство составили ранее леченные пациенты (81,2%).

Вредные привычки

Из вредных привычек у пациентов преобладало курение, оно составило 46,5%-47/101. Злоупотребление алкоголем отмечено у 12,9%-13/101, употребление психоактивных веществ было зафиксировано у 6,9%-7/101, несколько вредных привычек имели 23,8%-24/101 больных.

Клинические формы туберкулёза лёгких.

Клинические формы туберкулёза лёгких у наблюдаемых больных представлены в диаграмме на рисунке 3.

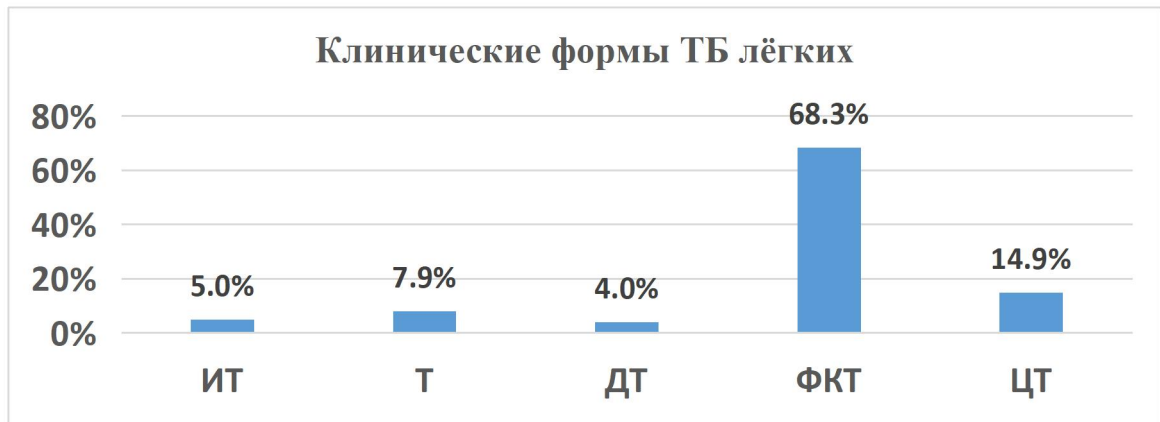


Рисунок 3 – Клинические формы туберкулёза лёгких

ИТ-инфильтративный, ДТ-диссеминированный, Т-туберкулёма, ФКТ-фиброзно-кавернозный, ЦТ-цирротический

Как видно из диаграммы на рисунке 3, преобладали больные с фиброзно-кавернозным туберкулёзом лёгких, что отражает тяжесть и давность процесса.

Распространённость поражения и характеристика деструкции

Данные о распространённости поражения лёгочной ткани и характере деструктивных изменений представлены в таблице 5.

Таблица 5 – Распространённость туберкулёзного процесса и размеры полостей распада

| Параметры | Абс. кол-во (n) | % |
|-------------------------------------|-----------------|------|
| Распространённость поражения | | |
| 1–2 доли | 56 | 55,4 |
| >2 долей | 45 | 44,6 |
| Размеры полостей распада | | |
| До 2 см | 12 | 11,8 |
| 2–4 см | 27 | 26,7 |
| >4 см | 51 | 50,5 |

Из представленных в таблице 5 данных следует, что с небольшим преимуществом преобладали изменения в пределах 1-2 долей (55,4%). Полости распада наблюдались у 90 больных (89,1%), при этом у половины пациентов

полости имели размер более 4 см, что отражает распространённость и тяжесть изменений в лёгочной ткани.

Бактериовыделение и материал для диагностики

Бактериовыделение при поступлении наблюдалось у 90 больных – 89,1%. Материалом для выделения *M.tuberculosis* у 90 больных (89,1%) послужила мокрота, в бронхоальвеолярном лаваже МБТ были выделены у 5,9%-6/101, в операционном материале – у 5,0%-5/101 больных.

2.1.3 Характеристика штаммов МБТ, включенных в исследование

Объектом исследования явились клинические штаммы *M.tuberculosis* с установленной фенотипической устойчивостью к рифампицину, изониазиду, фторхинолонам, линезолиду и/или бедаквилину, всего 101 изолят, полученные от пациентов с туберкулёзом органов дыхания, находившихся на лечении в ФГБНУ «ЦНИИТ» в период 2011–2023 гг. При этом до 2022 года в исследование включались замороженные культуры МБТ, хранившиеся в коллекции (музее) клинических изолятов ФГБНУ «ЦНИИТ» и ранее выделенные от пациентов данного учреждения, тогда как начиная с 2022 года исследуемый диагностический материал получали проспективно - непосредственно от пациентов, проходивших стационарное лечение в ФГБНУ «ЦНИИТ», с последующим культуральным и фенотипическим подтверждением лекарственной устойчивости.

2.2 МЕТОДЫ

Всем пациентам, включённым в исследование, проводилось комплексное клиничко-лабораторное и инструментальное обследование при поступлении, а также в динамике - на 2, 4 и 6 месяцах химиотерапии. Оценка клинического течения туберкулёзного процесса и эффективности противотуберкулёзной химиотерапии осуществлялась в соответствии с действующими на момент

проведения лечения пациентов Клиническими рекомендациями «Туберкулёз у взрослых».

2.2.1. Клинические методы

Сбор анамнеза включал уточнение характера туберкулёзного процесса (впервые выявленный, ранее леченный, рецидив), длительности заболевания, истории предшествующей противотуберкулёзной терапии, в том числе применения линезолида, бедаквилаина и фторхинолонов. Особое внимание уделялось оценке приверженности лечению, выявлению причин её нарушения, а также социальному статусу пациента (работающий, неработающий, инвалидность, пенсия, учащийся). При расспросе фиксировались наличие вредных привычек (курение, употребление алкоголя и психоактивных веществ), сопутствующие соматические и инфекционные заболевания (вирусные гепатиты В и С, ВИЧ-инфекция, патология сердечно-сосудистой, дыхательной, эндокринной и других систем). Клиническая оценка включала анализ выраженности интоксикационного синдрома (лихорадка, потливость, слабость, снижение массы тела) и бронхолёгочного синдрома (характер кашля, мокроты, одышки).

2.2.2. Лабораторные методы

Общеклиническое обследование включало общий анализ крови и мочи, биохимический анализ крови (печёночные пробы, креатинин, общий белок, СРБ, фибриноген) и коагулограмму.

Микробиологическое исследование проводилось в соответствии с международными стандартами.

Получение культур *M.tuberculosis*

1. Из диагностического материала в системе ВАСТЕС MGIT 960

Микобактерии из диагностического материала были выделены посевом на жидкую питательную среду Middlebrook 7H9 в системе автоматической регистрации роста культур ВАСТЕС MGIT 960 проводили согласно стандартному протоколу производителя (Becton Dickinson, США) [109]. Патологический материал подвергали

деконтаминации при помощи раствора, готового к применению BD MycoPrep (Cat. No. 240862, 240863, Becton Dickinson, США). Это стандартный метод предпосевной обработки диагностического материала для технологии MGIT, рекомендованный CDC как наиболее оптимальный метод деконтаминации материала.

Одновременно работали максимум с 10-ю образцами. Каждый раз готовили свежий раствор BBL MycoPrep NALC-NaOH для разжижения и деконтаминации мокроты, добавляли в 50 мл пробирку с образцом мокроты в соотношении 1:1 к объему образца. Для предотвращения перекрестной контаминации при работе в шкафу биобезопасности одновременно работали только с одной открытой пробиркой с образцом. Содержимое пробирки перемешивали в течение 15 секунд на встряхивателе, оставляли пробирку со смесью при комнатной температуре на 15 минут. Затем доливали объем образца в пробирке до 50 мл стерильным фосфатным буфером (BBL MycoPrep Phosphate Buffer, Becton Dickinson, США). Перемешивали. Центрифугировали при скорости 3000g в центрифуге с охлаждением в течение 20 минут. В шкафу биобезопасности аккуратно сливали супернатант. Добавляли к осадку 0,8-1 мл стерильного фосфатного буфера и тщательно ресуспендировали осадок с помощью пипетки.

После осмотра пробирки MGIT подписывали лабораторными номерами, избегая штрих-кода. Инокулировали 0,5 мл ресуспендированного осадка в подготовленную пробирку MGIT. Для исключения перекрестной контаминации и поддержания оптимальной концентрации углекислого газа в пробирках, всегда открывали только одну пробирку на минимально возможное время. Все засеянные пробирки MGIT помещали в прибор согласно рекомендациям производителя. Ежедневно проверяли показания прибора на предмет наличия положительных и отрицательных результатов. Протокол исследования на автоматизированной системе BACTEC MGIT 960 - 42 дня.

Для подтверждения положительных результатов культурального исследования контролировали чистоту выросшей культуры с помощью микроскопии с окраской по Ziehl-Neelsen и иммунохроматографического теста для качественного определения антигена MPT64 микобактерий туберкулезного комплекса. Отсутствие

неспецифической микрофлоры контролировали посевом выросшей культуры на кровяной агар

2. из диагностического материала на плотных питательных средах

Посев диагностического материала на плотную питательную среду Финна II проводили согласно рекомендациям, изложенным в Приказе № 109 МЗ РФ от 21.03.2003 "О совершенствовании противотуберкулезных мероприятий в Российской Федерации".

Подготовленные деконтаминированные осадки диагностического материала в объеме 0,5 мл инокулировали в пробирку со средой Левенштейна-Йенсена или Финна II, соблюдая стерильность. Инкубацию проводили при 37°C в течение 12 недель.

3. Из депонированных культур в системе ВАСТЕС MGIT 960

Штаммы МБТ, хранящиеся в криопробирках с жидкой средой Дюбо (Difco) с 20% глицерином при -70°C в коллекции микобактериальных культур ЦНИИТ, были медленно разморожены и засеяны по 150 мкл в пробирки MGIT. Предпосевной обработке культуры не подвергали.

Контроль контаминации неспецифической микрофлорой

Для контроля контаминации неспецифической микрофлорой культуры, выросшей на жидкой питательной среде Middlebrook 7H9, проводили посев на кровяной агар. Для этого 150 мкл выросшей культуры наносили на поверхность кровяного агара, равномерно распределяли и культивировали при 37°C в течение 24 часов. При наличии роста микроорганизмов на кровяном агаре через 24 часа инкубации при 37°C делался вывод о контаминации исследуемого материала неспецифической микрофлорой.

Определение чувствительности к противотуберкулезным препаратам

Модифицированным методом пропорций в системе ВАСТЕС MGIT 960

Определение лекарственной чувствительности в системе ВАСТЕС MGIT 960 базируется на сравнении роста изолята *M.tuberculosis* в пробирке, содержащей лекарственный препарат и пробирке без лекарственного препарата.

Для постановки теста лекарственной чувствительности (ТЛЧ) использовали чистые субстанции препаратов (Sigma-Aldrich). Конечное рабочее разведение препаратов, необходимое для достижения в пробирке критической концентрации препарата (изониазид (H) - 0,1 мкг/мл, рифампицин (R) - 1,0 мкг/мл, этамбутол (E) - 5,0 мкг/мл, пиразинамид (Z) - 100,0 мкг/мл, амикацин (Am) - 1,0 мкг/мл, капреомицин (Cm) - 2,5 мкг/мл, левофлоксацин (Lfx) - 1 мкг/мл, этионамид (Eto) - 5,0 мкг/мл, моксифлоксацин (KK) – 0,25 мкг/мл, моксифлоксацин (ПК) – 1,0 мкг/мл, линезолид (Lzd) - 1,0 мкг/мл, бедаквилин (Bq) – 1.0 мкг/мл) вносили в количестве 0,1 мл в пробирку MGIT, содержащую 7,8 мл готовой среды. Культуры МБТ тщательно встряхивали на вортексе, добавляли 0,5 мл суспензии микобактерий в каждую пробирку с препаратами. Культуру МБТ, разведенную стерильным физиологическим раствором в соотношении 1:100 или 1:10 (для ТЛЧ к пиразинамиду), засекали в количестве 0,5 мл в пробирку MGIT без препарата и использовали ее в качестве контроля.

Микроскопические исследования

1.Световая микроскопия с окраской мазка по Ziehl-Neelsen

Для микроскопического подтверждения кислотоустойчивости выделенного микроорганизма проводили исследование мазка с культуры, окрашенного по Ziehl-Neelsen. Метод окраски по Ziehl-Neelsen является наиболее употребляемым и распространенным методом для выявления кислотоустойчивых микобактерий. Он основан на использовании нескольких специальных методических приемов:

- окраска фуксином (с подогреванием) - при одновременном воздействии нагревания и сильного протравливающего действия карболовой кислоты повышается способность красителя проникать в микробную клетку и особенно в структуры ее клеточной стенки, состоящей из липидов, миколовых кислот и восков. Обычные анилиновые красители не проникают в клеточную стенку микобактерий, и последние не окрашиваются;

- обесцвечивание (3 мин.) - последующая обработка мазка 25% раствором серной кислоты или 3% раствором солянокислого спирта приводит к обесцвечиванию красителя, проникшего в структуры, не обладающие достаточной

гидрофобностью и стойкостью к разрушению в кислоте (кислотоустойчивостью). Только кислото- и спиртоустойчивые микроорганизмы стойко удерживают краситель и остаются после обесцвечивания окрашенными в малиново-красный цвет;

- контрастирующая окраска (1 мин.) - обесцвеченные элементы мазка докрашивают метиленовым синим для придания контрастности препарату.

Для проведения исследования мазок с выросшей культуры наносили на центр обезжиренного предметного стекла, распределяя по площади около 1 см x 2 см. Приготовленные мазки помещали на 15-30 минут на лотки (подносы), выстланные фильтровальной бумагой, и высушивали при комнатной температуре в вытяжном шкафу. Стекла с высохшими мазками пинцетом брали за конец, на который нанесена маркировка, и трижды медленно проводили через верхнюю треть пламени спиртовки до исчезновения признаков запотевания стекла (общая продолжительность пребывания мазка в пламени - не более 3-5 секунд). Затем стекла помещали на специальную подставку ("рельсы") для окрашивания так, чтобы они не касались друг друга, и расстояние между ними составляло порядка 1 см, а маркировка была направлена в одну сторону. Для того, чтобы краска не разливалась по стеклу и для предотвращения осаждения на мазок кристаллов краски, на каждое стекло накладывали полоску фильтровальной бумаги так, чтобы она полностью закрывала мазок. Наливали на бумагу раствор карболового фуксина с избытком и нагревали препарат над пламенем горелки до легкого появления паров. При подогревании препарата следили за тем, чтобы краска не закипела, а фильтровальная бумага не высыхала. Подогретый мазок оставляли на 5 минут, чтобы краситель проник в клеточную стенку микобактерий и окрасил ее.

Пинцетом снимали и удаляли фильтровальную бумагу. Водой комнатной температуры осторожно смывали остатки краски слабой струей дистиллированной воды до тех пор, пока не прекратится видимое отхождение краски. После чего, для предотвращения разбавления следующего раствора, каждое стекло щипцами или пинцетом брали за маркированный конец и наклоняли, чтобы с него стекла вода.

Далее мазок обесцвечивали 3 минуты 25% раствором серной кислоты, полностью покрывая всю поверхность мазка, после чего тщательно промывали

дистиллированной водой и докрашивали в течение 1 минуты, не превышая экспозицию, 0,3% раствором метиленового синего. Вновь аккуратно промывали проточной водой, наклоняя каждое стекло, чтобы стекала вода. Высушивали на открытом воздухе при комнатной температуре в вертикальном положении.

Препарат исследовали в проходящем свете с помощью светового бинокулярного микроскопа с иммерсионным объективом 100x и окулярами 10x.

На первом этапе добивались четкого изображения объекта в поле зрения с помощью сухого объектива малого увеличения и определяли наиболее подходящий для исследования участок препарата. Поворотом револьверного устройства смещали сухой объектив так, чтобы стал свободным доступ к препарату. Наносили на выбранный участок препарата одну каплю иммерсионного масла так, чтобы капля свободно упала на стекло. Поворотом головки револьверного устройства устанавливали объектив с сильным увеличением (100x) непосредственно над препаратом. Глядя сбоку, под контролем глаза медленно вращали макровинт грубой фокусировки и поднимали столик микроскопа до появления мениска в момент соприкосновения фронтальной линзы объектива с поверхностью капли масла. Глядя в окуляр, с помощью винтов грубой и тонкой регулировки производили настройку на резкость.

Просматривали препарат начиная с левого верхнего выбранного в мазке поля зрения, постепенно передвигаясь либо вдоль продольной оси препарата до конца мазка, либо смещаясь вниз и затем вновь поднимаясь вверх и т.д., проходя все поля зрения до границы мазка. При положительном результате на наличие кислотоустойчивых микобактерий в мазке обнаруживаются яркие малиново-красные палочковидные клетки, лежащие одиночно или группами, образуя переплетения в виде "кос".

2. Люминесцентная микроскопия

Люминесцентную микроскопию осадков образцов проводили по методике, указанной в источниках [115]. Кратко, осадок диагностического материала наносили на обезжиренное предметное стекло. После высыхания материала проводили фиксацию мазков на стекле в сухожаровом шкафу при 85°C 40 минут. Далее мазки

укладывали на на рельсы и заливали раствором, содержащим аурамин О (0,1%) и родамин С (0,01%) на 60 минут. По окончании времени инкубации мазки промывали дистиллированной водой и обесцвечивали раствором солянокислого спирта (3 минуты) и после этого снова промывали водой. Высушенные окрашенные мазки микроскопировали в ультрафиолетовом свете на микроскопе Olympus с окуляром 10X и объективом 40X (увеличение 400). Результат микроскопирования выражали в крестах.

Молекулярно-генетические методы исследования

1. Выделение ДНК из культур *M.tuberculosis*

ДНК из культур выделяли «Набором реагентов для выделения, обнаружения и количественного определения ДНК микобактерий туберкулезного комплекса методом полимеразной цепной реакции в реальном времени (Амплитуб-РВ) по ТУ 9398-001-46395995-2008, комплект реагентов для выделения ДНК микобактерий (комплект № 1)» (Синтол, Россия) в роботизированной системе Freedom EVO (TECAN, Швейцария) с предварительной обработкой образцов «Реагентом для предобработки образцов, предположительно содержащих ДНК микобактерий (Амплитуб-Преп) по ТУ 9398-002-46395995-2015» (Синтол, Россия).

Для этого пробирку с культурой перемешивали на встряхивателе и отбирали стерильной одноразовой пастеровской пипеткой по 0,5 мл суспензии клеток в 1,5 мл микропробирки, содержащие 0,5 мл реагента «Амплитуб-Преп». Пробирки перемешивали на встряхивателе и инкубировали при комнатной температуре в течение как минимум 1 часа. Центрифугировали 5 мин. при 10000 об/мин. Немедленно после центрифугирования удаляли надосадочную жидкость путем аспирации одноразовой пастеровской пипеткой, остаточный объем супернатанта составлял не более 0,1-0,2 мл.

Для выделения ДНК микобактерий комплектом № 1 «Амплитуб-РВ» с помощью роботизированной раскапывающей станции Tecan Freedom Evo включали управляющий компьютер и саму станцию.

В ШББ 2 класса на штативе «рабочее место» расставляли пробирки с образцами, перемежая их пробирками с отрицательным контролем выделения (ОКО-

В). Центрифугировали пробирки с исследуемыми образцами и ОКО-В в микроцентрифуге (не менее 13000 об/мин при комнатной температуре).

Сорбирующий раствор (СР-ФС Туб) тщательно перемешивали вручную или на вортексе до полного ресуспендирования. Все реагенты комплекта - лизирующий раствор (ЛР+ВПК Туб), осаждающий раствор (ОР Туб), промывочный раствор (ПР Туб), элюирующий раствор (ЭР Туб) и сорбирующий раствором (СР-ФС Туб) - переносили в предназначенные для них емкости объемом 100 мл и загружали в станцию.

В соответствующие штативы на рабочем столе станции загружали пустые открытые пробирки типа «Эппендорф» для ДНК объемом 1,7 мл, пустые пробирки типа «Эппендорф» без крышек объемом 1,7 мл и кондуктивные наконечники на 200 и 1000 мкл. Исследуемые образцы и ОКО-В помещали в соответствующие штативы и открывали в ШББ 2 класса, затем загружали в станцию. Запускали протокол Msorb_EVO150 и следовали инструкциям протокола.

2. Выявление мутаций в генах, ассоциированных с устойчивостью к ПТП

Определение мутаций в целевых генах с использованием мультиплексной ПЦР ПЦР на определение генотипической устойчивости к рифампицину и изониазиду микобактерий туберкулеза в образце проводили набором «Амплитуб-МЛУ-РВ» в амплификаторе с оптическим модулем «CFX96» (Bio-Rad, США) согласно инструкции производителя набора, согласно которой выявление генных мутаций ДНК МБТ, ассоциированных с устойчивостью к рифампицину и/или изониазиду, набором «Амплитуб-МЛУ-РВ» включает 2 этапа:

- проведение предварительной ПЦР-РВ (комплект «Multi»);
- определение генных мутаций в определенных кодонах генных локусов *rpoB*, *katG* и *inhA*.

Выявление генных мутаций ДНК МБТ, ассоциированных с устойчивостью к фторхинолонам, набором «Амплитуб-FQ-РВ» включало 2 этапа:

- 1) проведение предварительной ПЦР-РВ (комплект «Multi-FQ»);
- 2) определение генных мутаций в определенных кодонах генного локуса *gyrA* МБТ.

3. Секвенирование по методу Сэнгера с применением флуоресцентных меток

Секвенирование проводили на приборе Нанофор-05 (Синтол, Россия).

1. Нарботка специфических фрагментов генов

Постановку ПЦР-РВ осуществляли на приборе CFX96 (Bio-Rad, США) согласно инструкции к прибору. Температурный протокол ПЦР-РВ: 950С – 5 минут, 40 циклов: 620С – 50 секунд, 950С – 20 секунд.

2. Экстракция и очистка ПЦР-продукта из агарозного геля.

Очистку ПЦР-продуктов проводили с помощью набора реагентов «Cleanup Mini» серии #SC002250766 (Евроген, Россия) для очистки на колонках из агарозного геля. Фрагмент геля со специфическим амплификационным фрагментом ДНК генов вырезали и взвешивали в 1,5 мл пробирке типа «эппендорф» (масса одного гелевого фрагмента в пробирке не должна превышать 200 мг). Добавили 3 объема связывающего раствора к 1 объему геля из расчета 100 мг геля≈100 мкл. Смесь инкубировали при 50-55°С, периодически перемешивая, до полного растворения геля. Пробу с растворенным гелем перенесли в подготовленную спин-колонку и центрифугировали 30 секунд при 10000-13000 об/мин. Добавили в колонку 700 мкл промывочного раствора, центрифугировали 30 секунд. Удалили фильтрат. Центрифугировали пустую колонку 60 секунд для удаления остатков промывочного раствора. Поместили колонку в чистую 1,5 мл пробирку. Нанесли в колонку (в центр мембраны) 15 мкл элюирующего раствора и центрифугировали 30 секунд. Полученный элюат повторно нанесли на колонку и центрифугировали 30 секунд. Очищенный ПЦР-фрагмент использовали далее для секвенирования.

3. Проведение электрофореза для оценки концентрации ПЦР-фрагмента перед постановкой реакции секвенирования.

Для оценки концентрации ПЦР-фрагмента использовали маркер длины ДНК «100+bp DNA Ladder» (Евроген, Россия). Концентрация очищенных ПЦР-фрагментов для всех исследуемых образцов составила от 5 нг/мкл до 20 нг/мкл.

4. Вакуумная сушка и проведение ПЦР для секвенирования.

В лунки плашки для проведения секвенирования вносили 0,4-1,4 мкл очищенного ПЦР-продукта в зависимости от его концентрации из расчета (1 лунка –

7 нг ДНК). С каждым образцом проводили две реакции – с прямым и обратным праймером. К раскапанным в лунки плашки образцам добавляли праймеры в количестве 5 пмоль на реакцию. Вакуумную сушку проводили в концентраторе Eppendorf при 65 С в течение 15 мин. Для постановки ПЦР использовали набор Bright Dye LOT 52016M37-K (NIMAGEN, Нидерланды). Программа ПЦР: 950С – 1 минута; 30 циклов: 500С – 10 секунд, 600С – 1 мин. 30 секунд, 950С – 10 секунд; 40С – хранение.

5. Осаждение спиртом, денатурация ПЦР-продукта, секвенирование.

После проведения ПЦР проводили очистку реакционной смеси от свободной флуоресцентной метки путем спиртового осаждения. К ПЦР-смеси добавляли 15 мкл 96% ледяного этанола и 1 мкл 5М ацетата натрия и центрифугировали при 40С 3000 об/мин в течение 30 мин. Плашку подсушивали путем переворачивания и инкубирования на чистой салфетке. Для денатурации ПЦР-продукта в лунки вносили по 10 мкл HiDi формамида и накрывали плашку металлизированной клейкой лентой. Денатурацию проводили при 940С в течение 5 мин. Далее плашку загружали в секвенатор Нанофор-05 и проводили секвенирование.

Результаты секвенирования оценивали в программе UniproUGENE v.1.26.1.

2.2.3. Инструментальные методы

Лучевая диагностика включала цифровую рентгенографию органов грудной клетки в двух проекциях и мультиспиральную компьютерную томографию высокого разрешения. Исследование проводили при поступлении, а также в динамике - на 2, 4 и 6 месяцах химиотерапии. Функциональное состояние лёгких оценивалось с помощью спирометрии (ФВД), сердечно-сосудистой системы - электрокардиографией (ЭКГ). Эндоскопическое обследование (фибробронхоскопия) с забором бронхоальвеолярного лаважа (БАЛ) проводилось по клиническим показаниям. Ультразвуковое исследование органов брюшной полости, почек и плевральных полостей использовалось для оценки сопутствующей патологии и осложнений.

Оценка эффективности химиотерапии больных ШЛУ-туберкулезом

Оценка эффективности химиотерапии осуществлялась по комплексу

клинических, микробиологических и рентгенологических критериев. Учитывались следующие параметры: купирование клинических симптомов, прекращение бактериовыделения, закрытие полостей распада и регрессия инфильтративных изменений в лёгочной ткани по данным МСКТ.

Анализ эффективности проводился в стратифицированных группах пациентов в зависимости от: наличия/отсутствия мутаций в целевых генах, фенотипической устойчивости МБТ, сочетания генотипических и фенотипических профилей.

Для комплексной оценки связи генотипических характеристик МБТ с клиническими исходами лечения использован «композитный индекс эффективности химиотерапии» (КИЭХ) – интегративный показатель, отражающий степень достижения ключевых терапевтических целей к 6 месяцам лечения. КИЭХ рассчитывался как среднее арифметическое четырёх бинарных компонентов, каждый из которых кодировался как «1» при достижении цели и «0» — при её отсутствии:

- А - купирование основных клинических симптомов (лихорадка, кашель, интоксикация);
- В - прекращение бактериовыделения;
- С - закрытие полостей распада по данным компьютерной томографии;
- D - отсутствие летального исхода к 6 месяцам терапии.

Связь между наличием мутаций в генах, ассоциированных с устойчивостью к линезолиду и бедаквилину, и уровнем КИЭ оценивалась с использованием методов непараметрической статистики (U-критерий Манна–Уитни, корреляция Спирмена), а также логистической регрессии с оценкой КИЭХ как высокая или низкая эффективность, для определения прогностической значимости генетических маркеров.

Статистическая обработка данных выполнена с использованием программного пакета SPSS Statistics версии 27.0. Для сравнения качественных признаков применялись критерий χ^2 Пирсона и точный критерий Фишера, для

количественных - t-критерий Стьюдента (при нормальном распределении) или U-критерий Манна-Уитни (при ненормальном). Связь между генотипическими маркерами и терапевтическими исходами оценивалась с помощью однофакторного и многофакторного логистического регрессионного анализа; Уровень статистической значимости оценивался при $p < 0,05$.

ГЛАВА 3. ФЕНОТИПИЧЕСКАЯ И ГЕНОТИПИЧЕСКАЯ УСТОЙЧИВОСТЬ МБТ К ЛИНЕЗОЛИДУ И БЕДАКВИЛИНУ

3.1 Распространённость устойчивости *M.tuberculosis* к линезолиду и бедаквину и профиль дополнительной лекарственной устойчивости

Частота встречаемости устойчивости МБТ к линезолиду и бедаквину

Изучены изоляты МБТ, полученные от пациентов, находящихся на лечении в ФГБНУ «Центральный научно-исследовательский институт туберкулеза» за период 2011–2023 гг, которым проводились тесты лекарственной чувствительности. За данный период всего было выполнено тестов на лекарственную чувствительность в системе ВАСТЕС MGIT960 для 3817 пациентов.

Всего выявлен 101 пациент с установленной устойчивостью к линезолиду и/или бедаквину, что составило 2.65% от всех бактериовыделителей за 2011-2023гг.

Пациенты, выделяющие МБТ с устойчивостью к линезолиду без устойчивости к бедаквину, составили 1.0% (38 человек из 3817 обследованных). 1.0% (40/3817) пациентов выделяли МБТ с устойчивостью к бедаквину без устойчивости к линезолиду. Доля пациентов, выделяющих МБТ с устойчивостью одновременно к линезолиду и бедаквину, составила 0.6% (23/3817). В таблице 6 представлено число пациентов с устойчивостью к линезолиду и бедаквину.

Таблица 6 – Общее число пациентов с устойчивостью к линезолиду и/или бедаквину за период 2011-2023 гг.

| Категория | Абс. | % |
|-------------------|------------|------------|
| ЛУ к Lzd (без Bq) | 38 | 1,0 |
| ЛУ к Bq (без Lzd) | 40 | 1,0 |
| ЛУ к Lzd + Bq | 23 | 0,6 |
| Всего | 101 | 2,7 |

Все пациенты с резистентностью к линезолиду и/или бедаквину имели, как минимум, устойчивость к рифампицину, изониазиду и фторхинолонам, что

соответствует определению туберкулёза с широкой лекарственной устойчивостью (ШЛУ).

Проведена оценка динамики выявления штаммов МБТ с устойчивостью к линезолиду и бедаквилину за период 2011 - 2023 гг.

В таблице 7 представлена динамика формирования лекарственной устойчивости к линезолиду и бедаквилину у пациентов за период 2011-2023гг.

Таблица 7 – Динамика формирования ЛУ к линезолиду и бедаквилину (2011-2023гг)

| Год | Всего с МБТ(+) | ЛУ к Lzd | | ЛУ к Bdq | |
|------|----------------|----------|-----|----------|------|
| | | абс | % | абс | % |
| 2011 | 497 | 1 | 0.2 | -- | -- |
| 2012 | 249 | 2 | 0.8 | -- | -- |
| 2013 | 345 | 3 | 0.9 | -- | -- |
| 2014 | 420 | 3 | 0.7 | -- | -- |
| 2015 | 417 | 6 | 1.4 | -- | -- |
| 2016 | 327 | 8 | 2.4 | 0 | 0 |
| 2017 | 334 | 7 | 2.0 | 0 | 0 |
| 2018 | 283 | 8 | 2.8 | 4 | 1.4 |
| 2019 | 257 | 6 | 2.3 | 11 | 4.3 |
| 2020 | 149 | 5 | 3.4 | 10 | 6.7 |
| 2021 | 195 | 7 | 3.6 | 11 | 5.6 |
| 2022 | 164 | 9 | 5.5 | 20 | 12.2 |
| 2023 | 180 | 3 | 1.0 | 10 | 5.6 |

Линезолид применяется в клинике ФГБНУ «ЦНИИТ» с 2007 года, при этом с 2008 году определяется лекарственную чувствительность к линезолиду. В 2011 был выявлен первый случай лекарственной устойчивости (ЛУ) к линезолиду. Частота ЛУ к линезолиду возросла с 0,2 % (1/497) в 2011 г. до пика 5,5 % (9/164) в 2022 г. Включение в режимы химиотерапии бедаквилина началось в ЦНИИТ с 2008 года в рамках клинических испытаний. Лекарственную чувствительность к бедаквилину в отделе микробиологии ЦНИИТ начали определять с 2016 года. Первый пациент с устойчивостью к бедаквилину был выявлен в 2018 г. Доля Вq-

устойчивости увеличилась с 0% до 12,2% (20/164) за период 2016-2022 г. Оценка динамики выявления резистентных штаммов до 2022 года показала статистически значимый рост ($p < 0,05$) как для Lzd, так и для Vd. Динамика формирования ЛУ к Lzd и Vdq представлена в диаграмме на рисунке 4.

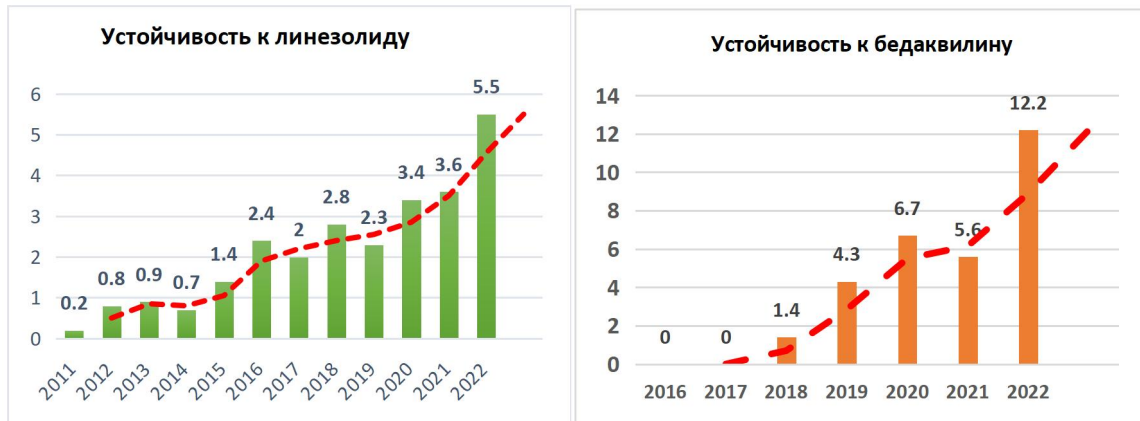


Рисунок 4 – Динамика формирования ЛУ к Lzd и Vdq

Спектры дополнительной ЛУ штаммов МБТ

Спектры лекарственной чувствительности МБТ к другим противотуберкулёзным препаратам представлены в таблице 8.

Штаммы МБТ, устойчивые к линезолиду

Все штаммы МБТ с лекарственной устойчивостью к линезолиду без устойчивости к бедаквилину были устойчивы, как минимум, к изониазиду, рифампицину и левофлоксацину. Из дополнительного спектра лекарственной устойчивости чаще всего встречалась устойчивость к этамбутолу, пиразинамиду, этионамиду, моксифлоксацину (кк) (6/38; 16%). 11% штаммов (4/38) имели устойчивость к этамбутолу, пиразинамиду, этионамиду, амикацину, капреомицину, моксифлоксацину (кк) и моксифлоксацину (пк). Данные представлены в таблице 9.

Спектр устойчивости штаммов МБТ, устойчивых к линезолиду, включал от 6 до 10 ПТП (включая линезолид). Устойчивость одновременно к 10 ПТП – в 19%

случаев, к 9 ПТП - 17%, к 8 препаратам - 42%, к 7 препаратам - 1%, к 6 препаратам - 3%.

Таблица 9 - Спектры ЛУ изолятов МБТ, устойчивых к Lzd

| Характер ЛУ | Спектр резистентности | | Число штаммов | |
|-----------------|-----------------------|------------------------------|---------------|-----|
| | Дополнительная ЛУ | | Абс. | % |
| ЛУ к Lzd (n=38) | HRFq | Е Z Eto Mfx КК | 6 | 16% |
| | | Am Mfx КК | 1 | 3% |
| | | Е Z Am, Cm, Mfx КК | 3 | 8% |
| | | Е Z Eto Am, Cm Mfx КК Mfx ПК | 4 | 11% |
| | | Е Mfx КК | 3 | 8% |
| | | Е Z Eto Am Cm | 1 | 3% |
| | | Z Am Cm Mfx КК | 2 | 5% |
| | | Е, Z, Eto, Am, Cm, Mfx КК | 3 | 8% |
| | | Е Z Mfx КК | 3 | 8% |
| | | Е Z Eto | 1 | 3% |
| | | Е Z | 1 | 3% |
| | | Е Z Eto Am | 1 | 3% |
| | | Е Eto Am Cm Mfx КК | 1 | 3% |
| | | Е Eto Cm Mfx КК | 1 | 3% |
| | | Е Eto Cm, Mfx КК, Mfx ПК | 1 | 3% |
| | | Eto Am Cm Mfx КК Mfx ПК | 1 | 3% |
| | | Е Eto Mfx КК Mfx ПК | 2 | 5% |
| | | Е Eto Am Cm Mfx КК Mfx ПК | 1 | 3% |
| | | Е Z Eto Mfx КК Mfx ПК | 2 | 5% |

Таблица 8 – Дополнительные спектры ЛУ МБТ

| № П/п | Диагнос- тически й матери- ал, из которог- о выделе- на культур- а | Чувствительность к | | | | | | | | | | | | | |
|----------|--|------------------------|------------------------|------------------------|---|--------------------------|-------------------------|-------------------------|--------------------------|---------------------------------|--------------------------------|-----|------------|--------------------------|-------------------------|
| | | H 0,1 мкг/м л | R 0,5 мкг/м л | E 0,5 мкг/м л | Z | Et0 0,5 мкг/м л | Am 1,0 мкг/м л | Cm 1,0 мкг/м л | Lfx 1,0 мкг/м л | Mfx КК 0,25 мкг/м л | Mfx ПК 1,0 мкг/м л | PAS | Cs/Tr d | Lzd 1,0 мкг/м л | Bq 1,0 мкг/м л |
| 1 | Мокрота | R | R | R | R | R | S | S | R | R | - | - | - | R | - |
| 2 | Мокрота | R | R | S | S | - | R | S | R | R | - | - | - | R | - |
| 3 | Мокрота | R | R | R | R | - | R | R | R | R | - | - | - | R | - |
| 4 | Мокрота | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | - | - | R | - |
| 5 | Мокрота | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | - | - | R | - |
| 6 | Мокрота | R | R | R | S | S | S | S | R | R | - | S | - | R | - |
| 7 | Мокрота | R | R | R | R | R | R | R | R | R | - | - | - | R | - |
| 8 | Мокрота | R | R | S | R | S | R | R | R | R | - | - | - | R | - |
| 9 | Мокрота | R | R | R | R | R | S | S | R | R | - | - | - | R | - |
| 10 | Мокрота | R | R | S | R | S | R | R | R | R | - | - | - | R | - |
| 11 | Мокрота | R | R | R | R | R | R | R | R | R | - | - | - | R | - |
| 12 | Мокрота | R | R | R | R | R | S | S | R | R | - | - | - | R | - |
| 13 | Мокрота | R | R | R | R | R | S | S | R | R | - | - | - | R | - |
| 14 | Мокрота | R | R | R | R | S | S | S | R | R | - | - | - | R | - |
| 15 | Мокрота | R | R | R | R | R | S | S | R | S | - | - | - | R | - |
| 16 | Мокрота | R | R | R | S | S | S | S | R | R | - | - | - | R | - |
| 17 | Мокрота | R | R | R | R | S | S | S | R | - | - | - | - | R | - |
| 18 | Мокрота | R | R | R | R | R | R | S | R | - | - | - | - | R | - |
| 19 | Мокрота | R | R | R | R | - | R | R | R | R | - | - | - | R | - |
| 20 | Мокрота | R | R | R | - | - | S | S | R | R | - | - | - | R | S |
| 21 | Мокрота | R | R | R | R | S | S | S | R | R | S | - | - | R | - |
| 22 | Оп.мат | R | R | R | R | R | R | R | R | R | S | - | - | R | - |
| 23 | Мокрота | R | R | R | R | S | S | S | S | R | S | - | - | R | - |
| 24 | Мокрота | R | R | R | R | R | S | S | R | R | S | - | - | R | - |
| 25 | Мокрота | R | R | R | - | R | R | R | R | R | S | - | - | R | - |
| 26 | Мокрота | R | R | R | - | R | S | R | R | R | S | - | - | R | - |
| 27 | Мокрота | R | R | R | - | R | S | R | R | R | R | - | - | R | - |

| | | | | | | | | | | | | | | | |
|----|----------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 28 | Плевр.ж | R | R | S | - | R | R | R | R | R | R | - | - | R | S |
| 29 | Мокрота | R | R | R | - | R | S | S | R | R | R | - | - | R | R |
| 30 | Мокрота | R | R | R | - | R | S | S | R | R | R | - | - | R | S |
| 31 | Оп.мат | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | - | - | R | S |
| 32 | Мокрота | R | R | R | S | R | R | R | R | R | R | - | - | R | S |
| 33 | Мокрота | R | R | R | R | R | R | R | R | R | S | - | - | R | S |
| 34 | Мокрота | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | - | - | R | S |
| 35 | Мокрота | R | R | R | R | R | S | S | R | R | S | - | - | R | S |
| 36 | Мокрота | R | R | R | R | S | R | R | R | R | S | - | - | R | S |
| 37 | Мокрота | R | R | R | R | R | S | S | R | R | R | - | - | R | - |
| 38 | Мокрота | R | R | R | R | R | S | S | R | R | R | - | - | R | S |
| 39 | Мокрота | R | R | R | R | R | R | S | R | R | R | - | - | S | R |
| 40 | Мокрота | R | R | R | - | R | R | R | R | - | - | - | - | S | R |
| 41 | Мокрота | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | - | - | S | R |
| 42 | Мокрота | R | R | R | R | R | S | S | R | R | R | - | - | S | R |
| 43 | Мокрота | R | R | R | R | R | S | S | R | R | S | - | - | S | R |
| 44 | БАЛЖ | R | R | R | R | R | R | S | R | R | R | - | - | S | R |
| 45 | Мокрота | R | R | R | R | R | S | S | R | R | R | - | - | S | R |
| 46 | Мокрота | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | - | - | S | R |
| 47 | Мокрота | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | - | - | S | R |
| 48 | Мокрота | R | R | R | R | R | S | R | R | R | R | - | - | S | R |
| 49 | Оп. мат. | R | R | R | - | R | R | R | R | R | R | - | - | S | R |
| 50 | Мокрота | R | R | R | - | R | R | R | R | R | R | - | - | S | R |
| 51 | Мокрота | R | R | R | - | R | S | S | R | R | S | - | - | S | R |
| 52 | Мокрота | R | R | R | - | R | R | R | R | R | R | - | - | S | R |
| 53 | Мокрота | R | R | R | R | R | S | S | R | R | S | - | - | S | R |
| 54 | Мокрота | R | R | R | R | R | R | S | R | R | R | - | - | S | R |
| 55 | Мокрота | R | R | R | R | R | S | S | R | R | S | - | - | S | R |
| 56 | Мокрота | R | R | R | R | R | R | S | R | R | S | - | - | S | R |
| 57 | Мокрота | R | R | R | R | R | S | R | R | S | S | - | - | S | R |
| 58 | Мокрота | R | S | R | - | R | R | S | R | R | S | - | - | S | R |
| 59 | Мокрота | R | R | R | - | R | R | R | R | R | S | - | - | S | R |
| 60 | Мокрота | R | R | R | - | R | R | R | R | R | S | - | - | S | R |
| 61 | Мокрота | R | R | R | - | S | S | R | R | S | S | - | - | S | R |
| 62 | БАЛЖ | R | R | R | - | R | R | R | R | R | S | - | - | S | R |
| 63 | Мокрота | R | S | R | - | S | S | S | S | S | R | - | - | S | R |
| 64 | Мокрота | R | R | R | - | R | S | R | R | R | R | - | - | S | R |
| 65 | Оп. мат. | R | R | R | - | R | S | R | R | R | R | - | - | S | R |
| 66 | Мокрота | R | R | R | - | R | R | R | R | R | R | - | - | S | R |

| | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|----------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 67 | Мокрота | R | R | R | - | S | S | R | R | R | R | - | - | S | R |
| 68 | Мокрота | R | R | R | - | S | S | R | R | R | S | - | - | S | R |
| 69 | Мокрота | R | R | R | - | R | R | R | R | R | R | - | - | S | R |
| 70 | Мокрота | R | R | R | - | R | S | R | R | R | S | - | - | S | R |
| 71 | Мокрота | R | R | R | - | R | S | R | R | R | S | - | - | S | R |
| 72 | Мокрота | R | R | R | - | R | R | R | R | R | R | - | - | S | R |
| 73 | БАЛЖ | R | R | R | - | R | S | S | R | R | S | - | - | S | R |
| 74 | БАЛЖ | R | R | R | - | R | S | S | R | R | S | - | - | S | R |
| 75 | Мокрота | R | R | R | - | R | S | R | R | R | R | - | - | S | R |
| 76 | Мокрота | R | R | R | - | R | S | R | R | R | R | - | - | S | R |
| 77 | Мокрота | R | R | R | - | R | S | R | R | R | R | - | - | S | R |
| 78 | Мокрота | R | R | R | - | R | S | R | R | R | R | - | - | S | R |
| 79 | Мокрота | R | R | R | - | R | S | S | R | R | S | - | - | R | R |
| 80 | Мокрота | R | R | R | - | R | R | R | R | R | R | - | - | R | R |
| 81 | Оп. мат. | R | R | R | - | R | R | R | R | R | R | - | - | R | R |
| 82 | Мокрота | R | R | R | - | R | R | R | R | R | R | - | - | R | R |
| 83 | Мокрота | R | R | R | - | R | R | R | R | R | R | - | - | R | R |
| 84 | Мокрота | R | R | R | - | R | S | R | R | R | S | - | - | R | R |
| 85 | Мокрота | R | R | R | - | R | R | R | R | R | R | - | - | R | R |
| 86 | Мокрота | R | R | R | - | R | R | R | R | R | R | - | S | R | R |
| 87 | Мокрота | R | R | R | - | R | S | R | R | R | R | - | - | R | R |
| 88 | Мокрота | R | R | R | - | R | R | R | R | R | R | - | - | R | R |
| 89 | Мокрота | R | R | R | - | S | S | S | R | R | S | - | - | R | R |
| 90 | Мокрота | R | R | R | - | R | R | R | R | R | R | - | - | R | R |
| 91 | Мокрота | R | R | R | - | R | R | R | R | R | R | - | - | R | R |
| 92 | Мокрота | R | R | R | - | R | R | R | R | R | R | - | - | R | R |
| 93 | Мокрота | R | R | R | - | R | R | R | R | R | S | - | - | R | R |
| 94 | Мокрота | R | R | R | - | R | R | R | R | R | S | - | - | R | R |
| 95 | Мокрота | R | R | R | - | R | R | S | R | R | R | S | S | R | R |
| 96 | Мокрота | R | R | R | - | R | R | R | R | R | R | S | S | R | R |
| 97 | Мокрота | R | R | R | - | R | S | S | R | R | R | - | - | R | R |
| 98 | Мокрота | R | R | R | - | R | S | S | R | R | R | - | - | R | R |
| 99 | Мокрота | R | R | R | - | R | R | R | R | R | R | - | - | R | R |
| 100 | Мокрота | R | R | R | - | R | R | R | R | R | R | - | - | R | R |
| 101 | Мокрота | R | R | R | - | R | S | S | R | R | R | - | - | R | R |

Штаммы МБТ, устойчивые к бедаквилину

Все штаммы, устойчивые к бедаквилину, были также устойчивы к изониазиду, рифампицину и левофлоксацину. 15% штаммов (6/40) имели также устойчивость к этамбутолу, этионамиду, амикацину, капреомицину, моксифлоксацину КК и моксифлоксацину ПК. Результаты представлены в таблице 10. Спектр устойчивости штаммов МБТ, устойчивых к бедаквилину, включал от 6 до 10 ПТП (включая бедаквилин). Устойчивость одновременно к 10 ПТП – в 8% случаев, к 9 ПТП - 35%, к 8 препаратам - 45%, к 7 препаратам - 9%, к 6 препаратам - 3%.

Таблица 10 – Спектры ЛУ изолятов МБТ, устойчивых к Bdq

| Характер ЛУ | Спектр резистентности | | Число штаммов | |
|-----------------|-----------------------|-----------------------------|---------------|-----|
| | | Дополнительная ЛУ | Абс. | % |
| ЛУ к Bdq (n=40) | HRFq | Е Z Eto Am Mfx КК Мfx ПК | 3 | 8% |
| | | Е Eto Am Cm | 1 | 3% |
| | | Е Z Eto Am Cm Mfx КК Мfx ПК | 3 | 8% |
| | | Е Z Eto Mfx КК Мfx ПК | 2 | 5% |
| | | Е Z Eto Mfx КК | 3 | 8% |
| | | Е Z Eto Cm Mfx КК Мfx ПК | 1 | 3% |
| | | Е Eto Am Cm Mfx КК Мfx ПК | 6 | 15% |
| | | Е Eto Mfx КК | 3 | 8% |
| | | Е Z Eto Am Mfx КК | 1 | 3% |
| | | Е Z Eto Cm | 1 | 3% |
| | | Е Eto Am Mfx КК | 1 | 3% |
| | | Е Eto Am Cm Mfx КК | 3 | 8% |
| | | Е Cm | 1 | 3% |
| | | Е Mfx КК Мfx ПК | 1 | 3% |
| | | Е Eto Cm Mfx КК Мfx ПК | 6 | 15% |
| | | Е Cm Mfx КК Мfx ПК | 1 | 3% |
| | | Е Cm Mfx КК | 1 | 3% |
| | | Е Eto Cm Mfx КК | 2 | 5% |

Штаммы МБТ, устойчивые к линезолиду и бедаквилину

Все штаммы были также устойчивы к изониазиду, рифампицину, левофлоксацину. Больше половины штаммов с установленной фенотипической устойчивостью к линезолиду и бедаквилину имели дополнительно устойчивость к

следующим препаратам: этамбутолу, этионамиду, амикацину, капреомицину, моксифлоксацину КК и моксифлоксацину ПК (таблица 11). Спектр устойчивости штаммов МБТ, устойчивых к линезолиду и бедаквилину, включал от 7 до 10 ПТП (включая линезолид и бедаквилин). Устойчивость одновременно к 10 ПТП – в 66% случаев, к 9 ПТП - 16%, к 8 препаратам -13%, к 7 препаратам - 4%.

Таблица 11 – Спектры ЛУ изолятов МБТ, устойчивых к Lzd+Bdq

| Характер ЛУ | Спектр резистентности | | Число штаммов | |
|----------------------|-----------------------|-------------------------------|---------------|-----|
| | Дополнительная ЛУ | | Абс. | % |
| ЛУ к Lzd и Bq (n=23) | HRFq | Е Eto Mfx КК | 1 | 4% |
| | | Е Eto, Am, Cm, Mfx КК, Mfx ПК | 13 | 57% |
| | | Е Eto Cm Mfx КК | 1 | 4% |
| | | Е Eto Cm Mfx КК Mfx ПК | 1 | 4% |
| | | Е Mfx КК | 1 | 4% |
| | | Е Eto Am Cm Mfx КК | 2 | 9% |
| | | Е Eto Am Mfx КК Mfx ПК | 1 | 4% |
| | | Е Eto Mfx КК Mfx ПК | 3 | 13% |

3.2 Молекулярно-генетические маркеры устойчивости *M.tuberculosis* к линезолиду и бедаквилину

Штаммы МБТ с устойчивостью к линезолиду

Мутации были обнаружены в 84,2% штаммов с установленной фенотипической устойчивостью МБТ к линезолиду (32/38). У 6 штаммов мутации выявлены не были (15,8%). У большинства штаммов с фенотипической устойчивостью МБТ к линезолиду отмечено наличие мутаций в гене *rplC* (21/38; 55,3%). Мутации в гене *rrl* встречались в 28,9% случаев (11/38) (таблица 12).

Таблица 12 – Генотипическая устойчивость МБТ к Lzd

| Гены, в которых определены мутации, ассоциированные с ЛУ к Lzd | ЛУ к Lzd (n=38) | |
|--|-----------------|------|
| | Абс. | % |
| Нет мутаций | 6 | 15,8 |
| <i>rrl</i> | 11 | 28,9 |
| <i>rplC</i> | 21 | 55,3 |
| ВСЕГО | 38 | 100 |

Установлено, что ЛУ МБТ к линезолиду в основном происходит при наличии мутаций в гене *rplC*, кодирующий синтез белков, входящих в структуру рибосом. Выявлена следующая мутация: *rplC_tgt460cgt*. Мутации в ген *rrl*, кодирующим синтез 23s РНК, встречались реже, в основном представлены в виде одиночной мутации или двойной мутации. Наиболее частые мутации: *rrl_g2270t/c*, *rrl_g2814t*, *rrl_g2685t*, *rrl_g2814t*, *rrl_a2810c/t*, *rrl_g2746a*

Штаммы МБТ с устойчивостью к бедаквилину

Мутации обнаружены у 77,5% штаммов с установленной фенотипической устойчивостью МБТ к бедаквилину (31/40). У 9 штаммов мутации не выявлены (22,5%). Данные представлены в таблице 13.

Чаще выявлялись мутации в гене *tmpR* (27/40; 67,5%). Мутации в гене *tmpR* в сочетании с мутациями в гене *atpE* встречались в 3 случаях из 40 (7,5%). Мутации только в гене *atpE* встречались в 2,5% (1/40).

Таблица 13 – Генотипическая устойчивость МБТ к Bdq

| Гены, в которых определены мутации, ассоциированные с ЛУ к Вq | ЛУ к Вq (n=40) | |
|---|----------------|------|
| | Абс. | % |
| Нет мутаций | 9 | 22,5 |
| <i>atpE</i> | 1 | 2,5 |
| <i>tmpR</i> | 27 | 67,5 |
| <i>tmpR, atpE</i> | 3 | 7,5 |
| ВСЕГО | 40 | 100 |

Установлено, что ЛУ к бедаквилину чаще обусловлена мутациями в гене *tmpR*. Основными нуклеотидными заменами в структуре гена *tmpR* у МБТ, устойчивых к бедаквилину были:

Замена 1 нуклеотида: *mmplR5_g361a*, *mmplR5_g184a*, *mmplR5_t157c*, *mmplR5_t128g*, *mmplR5_t236c*, *mmplR5_a97c*, *mmplR5_c251t*, *mmplR5_t134g*, *mmplR5_t425g*, *mmplR5_t124c*, *mmplR5_g281a*, *mmplR5_t2g*, *mmplR5_a208g*, *mmplR5_c100t*, *mmplR5_t136g*

Сдвиг рамки считывания: *mmplR5_ins_145c*, *mmplR5_ins_140g*, *mmplR5_del_3g*, *mmplR5_del_292a*, *mmplR5_ins_276c*,

mmplR5_del_141t, *mmplR5_ins_436g-457t* (22 нукл.), *mmplR5_del_421g-430g* (10 нукл.), *mmplR5_a4t+ins_5g*, *mmplR5_ins_140g*, *mmplR5_ins_138g*, *mmplR5_ins_199g*, *mmplR5_del_324c-335c* (12 нукл.), *mmplR5_del_198g*, *mmplR5_ins_118g-125g*, *mmplR5_ins_279t-280t*, *mmplR5_ins_264a*, *mmplR5_ins_232t*, *mmplR5_ins_140g*, *mmplR5_ins_138g*, *mmplR5_del_198g*

Мутации в гене *atpE* встречаются реже, наиболее частая мутация - замена *atpE_c198g*. Встречались мутации: *atpE_g183t*, *atpE_g82a*, *atpE_a83g/t*, *atpE_c188t*, *atpE_c198g*.

Штаммы МБТ с устойчивостью одновременно к линезолиду и бедаквилину

Мутации были обнаружены в 95,7% штаммов с установленной фенотипической устойчивостью МБТ к линезолиду и бедаквилину (22/23). В 1 штамме мутации в генах, ассоциированных с устойчивостью к линезолиду и бедаквилину, не были выявлены (4,3%).

У штаммов с фенотипической устойчивостью одновременно к линезолиду и бедаквилину чаще всего встречались сочетания мутаций в гене *rplC* (устойчивость к линезолиду) и в гене *mmpR* (устойчивость к бедаквилину), что составило 43,5% (10/23). У 3 штаммов определены сочетанные мутации в гене *rplC* и в гене *mmpR* (13,0%). У 2 штаммов отмечено сочетание мутаций в генах *rplC* и *atpE* (8,7%).

В 4,3% случаев определены следующие сочетания мутаций в генах: *rplC* и *mmpR*, *atpE* (1/23); *rplC* + отсутствие мутаций в генах, ассоциированных с лекарственной устойчивостью к бедаквилину (WT) (1/23); *rplC* и *mmpR* (1/23), *rplC* и *atpE* (1/23), *rplC* и *mmpR*, *atpE* (1/23), отсутствие мутаций в генах, ассоциированных с лекарственной устойчивостью к линезолиду, и *mmpR*, *atpE* (1/23), отсутствие мутаций, ассоциированных с лекарственной устойчивостью к линезолиду, и в гене *atpE* (1/23), отсутствие мутаций, ассоциированных с лекарственной устойчивостью к линезолиду, и в гене *mmpR* (1/23). Данные представлены в таблице 14.

Таблица 14 – Генотипическая устойчивость МБТ к Lzd+Bdq

| Сочетание мутаций | | ЛУ к Lzd и Bq (n=23) | |
|---|---|-------------------------|------|
| Гены, мутации в которых, ассоциированы с ЛУ к Lzd | Гены, мутации в которых ассоциированы с ЛУ к Bq | Абс. | % |
| Нет мутаций | Нет мутаций | 1 | 4,3 |
| <i>rplC</i> | <i>mmpR</i> | 10 | 43.5 |
| <i>rplC</i> | <i>atpE</i> | 2 | 8.7 |
| <i>rplC</i> | <i>mmpR, atpE</i> | 1 | 4.3 |
| <i>rplC</i> | WT | 1 | 4.3 |
| <i>rrl</i> | <i>mmpR</i> | 3 | 13.0 |
| <i>rrl</i> | <i>atpE</i> | 1 | 4.3 |
| <i>rrl</i> | <i>mmpR, atpE</i> | 1 | 4.3 |
| WT | <i>mmpR, atpE</i> | 1 | 4,3 |
| WT | <i>atpE</i> | 1 | 4.3 |
| WT | <i>mmpR</i> | 1 | 4.3 |
| ВСЕГО | | 23 | 100 |

Резюме

Проведённый анализ показал, что за период 2011–2023 гг. частота выявления лекарственной устойчивости *M.tuberculosis* к линезолиду и бедаквилину в исследованной выборке остаётся сравнительно низкой, однако демонстрирует тенденцию к увеличению в динамике. Анализ годовой динамики показал статистически значимый рост доли резистентных изолятов как к линезолиду ($p < 0,05$), так и к бедаквилину ($p < 0,05$), с пиковыми значениями в 2022 г. (5,5% и 12,2% соответственно).

Генотипический анализ подтвердил высокую частоту выявления мутаций у фенотипически резистентных изолятов. Для линезолида изменения в гене *rplC* встречались более в половине случаев. Для бедаквилина доминирующими оказались мутации в гене *mmpR*, тогда как изменения в *atpE* встречались реже. При сочетанной устойчивости (Lzd + Bq) мутации обнаруживались почти во всех случаях, наиболее часто встречались комбинации мутаций в генах *rplC* и *mmpR*.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о клинической значимости резистентности к линезолиду и бедаквилину, демонстрируют её нарастающий характер, а также подтверждают ключевую роль генетических маркеров (*rplC*, *rpl*, *mmpR5*, *atpE*) в развитии устойчивости *M.tuberculosis*.

Глава 4. ОСОБЕННОСТИ КЛИНИЧЕСКИХ ПРОЯВЛЕНИЙ ТУБЕРКУЛЕЗА ОРГАНОВ ДЫХАНИЯ У БОЛЬНЫХ С ШИРОКОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТЬЮ МБТ

4.1 Клинические проявления туберкулеза органов дыхания у пациентов с разными вариантами фенотипической устойчивости *M.tuberculosis* к линезолиду и бедаквилину

Проведено аналитическое, сплошное, нерандомизированное, ретроспективное, когортное исследование среди 101 больного туберкулёзом органов дыхания с подтверждённой культуральными методами широкой лекарственной устойчивостью МБТ, находившихся на лечении в ФГБНУ «ЦНИИТ» в период с 2011 по 2023 гг.

Пациенты разделены на группы в зависимости от устойчивости и чувствительности МБТ к линезолиду и бедаквилину:

1 группа – пациенты, выделяющие МБТ с устойчивостью к линезолиду при сохранённой чувствительности к бедаквилину (38/101; 37,62%),

2 группа – пациенты, выделяющие МБТ с устойчивостью к бедаквилину при сохранённой чувствительности к линезолиду (40/101; 39,6%) ,

3 группа – пациенты, выделяющие МБТ с устойчивостью к линезолиду и бедаквилину одновременно (23/101; 22,77%).

Статистический анализ выполнен с использованием критерия χ^2 (хи-квадрат) для сравнения качественных признаков между группами. Уровень статистической значимости принят за $p < 0,05$. Для выявления тенденций к различиям использован порог $p < 0,10$. Расчёт статистических показателей проведён с применением программного обеспечения Python (библиотеки SciPy, pandas).

Демографические и социальные характеристики пациентов

Группы были сопоставимы по полу и возрастной структуре, что подтверждается отсутствием статистически значимых различий (табл. 15).

Таблица 15 – Демографические и социальные характеристики пациентов с ШЛУ МБТ

| Показатель | 1 группа: ЛУ к Lzd (n=38) | 2 группа: ЛУ к Bdq (n=40) | 3 группа: ЛУ к Lzd+Bdq (n=23) | χ^2 | P |
|--------------------------|---------------------------------|---------------------------------|-------------------------------------|----------|-------|
| Пол | | | | 4,25 | 0,119 |
| Мужчины | 21 (55,3%) | 29 (72,5%) | 18 (78,3%) | | |
| Женщины | 17 (44,7%) | 11 (27,5%) | 5 (21,7%) | | |
| Возраст | | | | 9,94 | 0,269 |
| 18–29 лет | 9 (23,7%) | 8 (20,0%) | 3 (13,0%) | | |
| 30–39 лет | 15 (39,5%) | 9 (22,5%) | 11 (47,8%) | | |
| 40–49 лет | 7 (18,4%) | 13 (32,5%) | 7 (30,4%) | | |
| 50–59 лет | 7 (18,4%) | 9 (22,5%) | 1 (4,3%) | | |
| ≥60 лет | 0 (0,0%) | 1 (2,5%) | 1 (4,3%) | | |
| Социальный статус | | | | | |
| Не работает | 18 (47,4%) | 13 (32,5%) | 7 (30,4%) | 5,97 | 0,051 |
| Инвалидность | 13 (34,2%) | 18 (45,0%) | 14 (60,9%) | 4,63 | 0,099 |
| ИТУ | 5 (13,2%) | 11 (27,5%) | 7 (30,4%) | 3,57 | 0,168 |

Как следует из данных таблицы 15, группы сопоставимы по полу и возрасту, соответственно ($p=0,119 > 0,05$) и ($p=0,269 > 0,05$), различия недостоверны. По социальному статусу (не работающие) наблюдается тенденция к различиям ($p=0,051$), близкая к порогу значимости. По критерию инвалидности отмечается тенденция к достоверным различиям ($p=0,099$), с градиентным увеличением частоты от 34,2% до 60,9% при расширении спектра устойчивости. По признаку нахождения в ИТУ - различия недостоверны ($p=0,168$).

Анализ социального статуса пациентов показал, что наибольшую долю во всех трёх группах составляют неработающие лица трудоспособного возраста: 47,4% в первой группе, 32,5% во второй и 30,4% в третьей. Доля работающих лиц была невысокой - от 5,3% до 10,0%. Количество учащихся и пенсионеров также оказалось небольшим и наблюдалось преимущественно в первой и второй группах (7,9% и 7,5% учащихся; 5,3% и 5,0% пенсионеров соответственно).

Таким образом, следует признать, что группы сопоставимы по базовым демографическим характеристикам (пол, возраст), что исключает конфаундинг при анализе клинических исходов. При этом выявлена тенденция к нарастанию социальных неблагоприятных состояний (инвалидность, неработающее состояние) при сочетанной устойчивости к линезолиду и бедаквилину, что отражает более выраженную тяжесть заболевания в этой группе.

Характеристика туберкулезного процесса

Среди всех пациентов, включенных в исследование не выявлено ни одного случая впервые выявленного туберкулеза. В каждой группе преобладали лица, ранее получавшие противотуберкулезную терапию: в 1-й группе пациентов, выделяющих МБТ с устойчивостью к линезолиду, доля ранее леченных пациентов составила 84,2%, во 2-й группе пациентов с устойчивостью МБТ к бедаквилину - 80,0%, в 3-й группе пациентов с устойчивостью МБТ к линезолиду и бедаквилину - 82,6%. Рецидив туберкулезного процесса зарегистрирован у 15,8% пациентов 1-й группы, 20,0% пациентов 2-й группы, 17,39% 3-й группы. Среди пациентов первой группы преобладали лица с длительностью заболевания от 2 до 5 лет (42,1%) и 1–2 лет (23,7%). Заболевание продолжительностью более 5 лет наблюдалось у 23,7% больных, а менее 12 месяцев - лишь у 10,5%. Во второй группе доминировали пациенты с длительным течением туберкулёза - более 5 лет (55,0%), при этом доля больных с продолжительностью 2–5 лет составила 27,5%, а с длительностью менее 2 лет - 17,5%. В третьей группе 52,2% имели стаж болезни более 5 лет, 30,4% - от 2 до 5 лет, и только 17,4% - до 2 лет. (Рисунок 5)

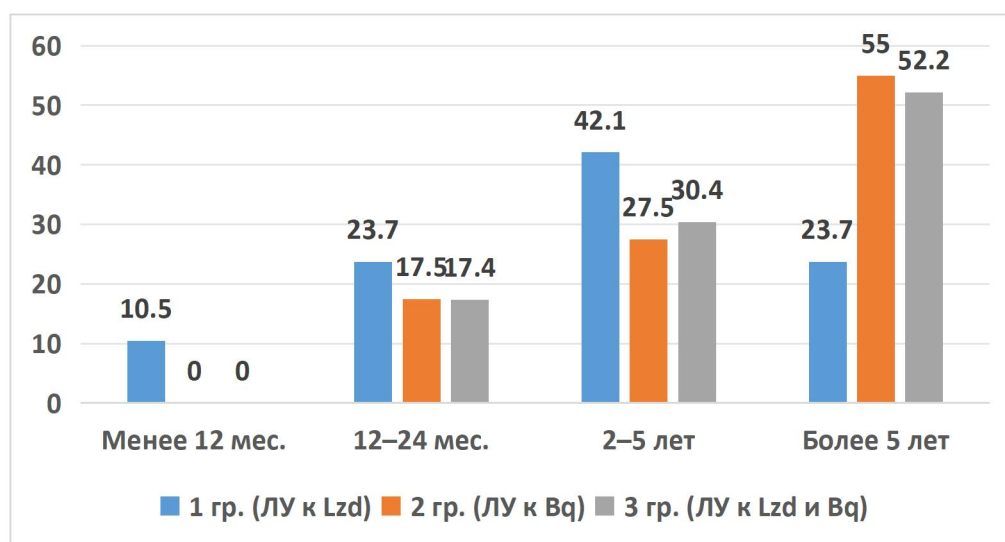


Рисунок 5 – Длительность заболевания туберкулезом до момента установления ШЛУ МБТ.

Анализ течения туберкулезного процесса до госпитализации выявил тенденцию к более неблагоприятному течению при сочетанной устойчивости (таблица 16). Отрицательная динамика до госпитализации регистрировалась у 52,2% пациентов 3-й группы против 22,5–36,8% в других группах ($\chi^2=10,96$;

$p=0,089$ - тенденция к значимости). В 3-й группе полностью отсутствовали пациенты без динамики туберкулёзного процесса.

Таблица 16 – Характер течения туберкулёзного процесса до госпитализации

| Динамика течения туберкулёзного процесса | 1 группа ЛУ к Lzd (n=38) | 2 группа ЛУ к Bdq (n=40) | 3 группа ЛУ к Lzd+Bdq (n=23) | χ^2 | p |
|--|--------------------------------|--------------------------------|------------------------------------|----------|-------|
| Без динамики | 7 (18,4%) | 5 (12,5%) | 0 (0,0%) | 10,96 | 0,089 |
| Положительная | 4 (10,5%) | 6 (15,0%) | 1 (4,3%) | | |
| Отрицательная | 14 (36,8%) | 9 (22,5%) | 12 (52,2%) | | |
| Волнообразное | 13 (34,2%) | 20 (50,0%) | 10 (43,5%) | | |

Анализ причин неэффективности предшествующего лечения показал, что наиболее частой причиной во всех группах являлся нерегулярный приём противотуберкулёзных препаратов (ПТП): 65,8% в первой, 57,5% во второй и 86,9% в третьей группе (рисунок 6). Различие между второй и третьей группами оказалось статистически значимым ($p=0,024$). Другие причины неэффективности терапии, включая отсутствие противотуберкулёзных препаратов (ПТП), нежелательные побочные реакции (НПР) на ПТП и декомпенсацию сопутствующих заболеваний, встречались с сопоставимой частотой и статистически значимо не различались между группами ($p>0,05$).

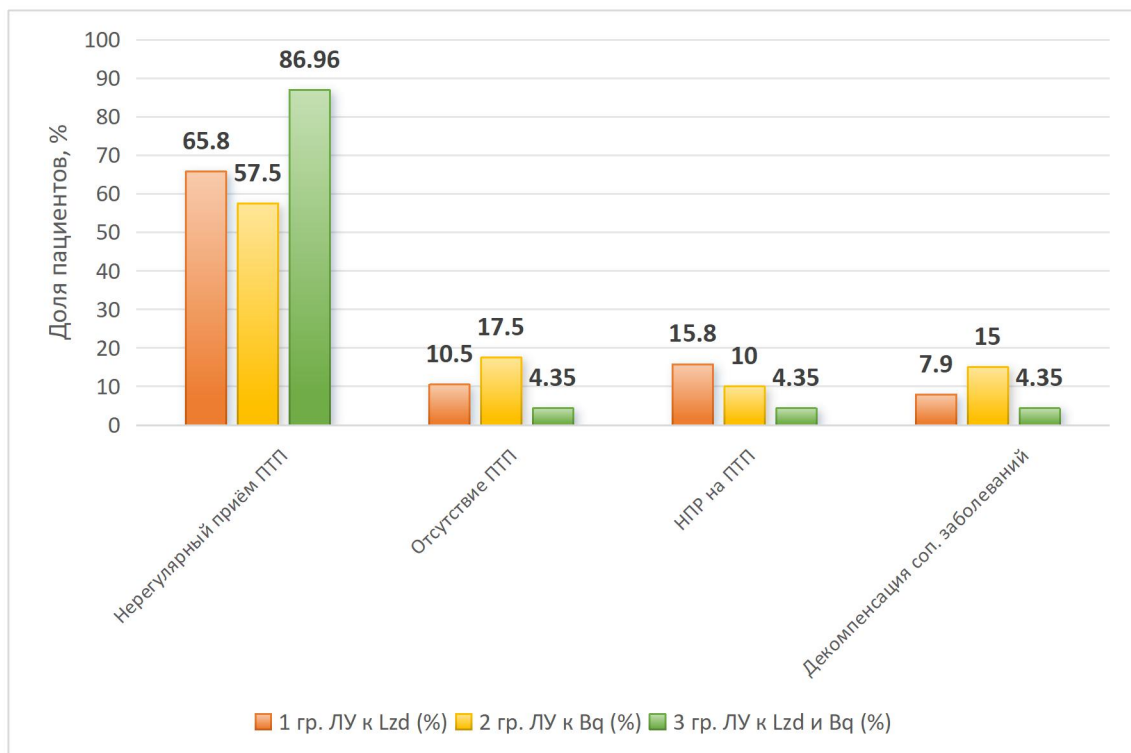


Рисунок 6 – Причины неэффективности предшествующего лечения больных ШЛУ туберкулезом.

Особый интерес представляет изучение сроков применения линезолида, бедаквилина и препаратов группы фторхинолонов (рисунки 7,8,9). Так, установлено, что наиболее длительное применение линезолида (2–5 лет) чаще встречалось в третьей группе - у 82,6% пациентов, тогда как в первой и второй группах данный показатель составил 60,5% и 42,5% соответственно ($p=0,003$). Анализ сроков применения фторхинолонов показал, что у большинства пациентов всех трёх групп длительность лечения составляла от 2 до 5 лет (63,2% - в первой, 62,5% - во второй и 62,5% - в третьей группах). Длительное применение (более 5 лет) чаще встречалось во второй (20,0%) и третьей (20,0%) группах по сравнению с первой (7,9%). При попарном сравнении установлено статистически значимое различие между первой и третьей группами по доле пациентов с длительностью лечения более 5 лет ($p=0,014$). По остальным показателям достоверных различий не выявлено ($p>0,05$).

Анализ сроков применения бедаквилина показал существенные различия между исследуемыми группами. В первой группе препарат в большинстве случаев не применялся (71,1%), тогда как во второй и третьей группах бедаквилин использовался у всех пациентов. Во второй группе наибольшая доля больных получала препарат в течение 6–12 месяцев (45,0%) и 12–24 месяцев (45,0%), что статистически значимо отличалось от первой группы ($p=0,003$ и $p<0,001$ соответственно). В третьей группе преобладали сроки терапии 12–24 месяцев (39,1%), что также достоверно отличалось от первой ($p=0,006$).

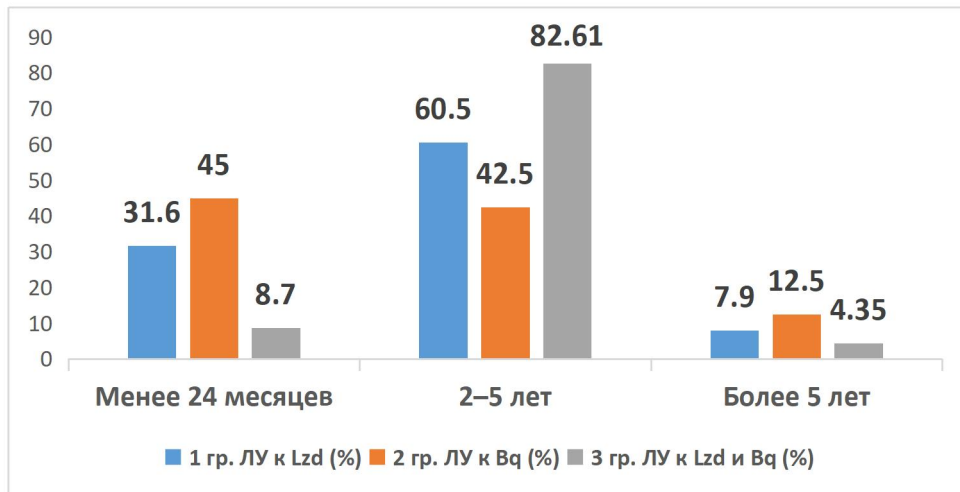


Рисунок 7 – Сроки применения линезолида у больных с разными видами широкой лекарственной устойчивости МБТ.

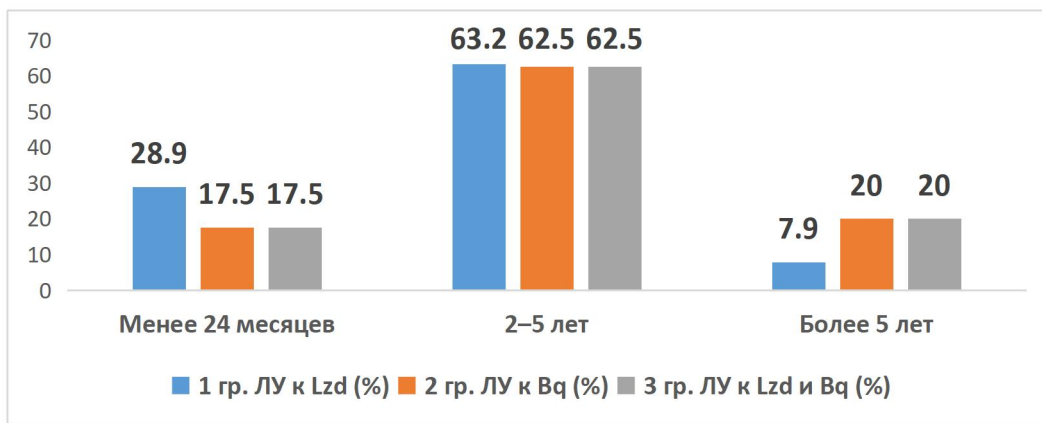


Рисунок 8 – Сроки применения фторхинолонов у больных с разными видами широкой лекарственной устойчивости МБТ.

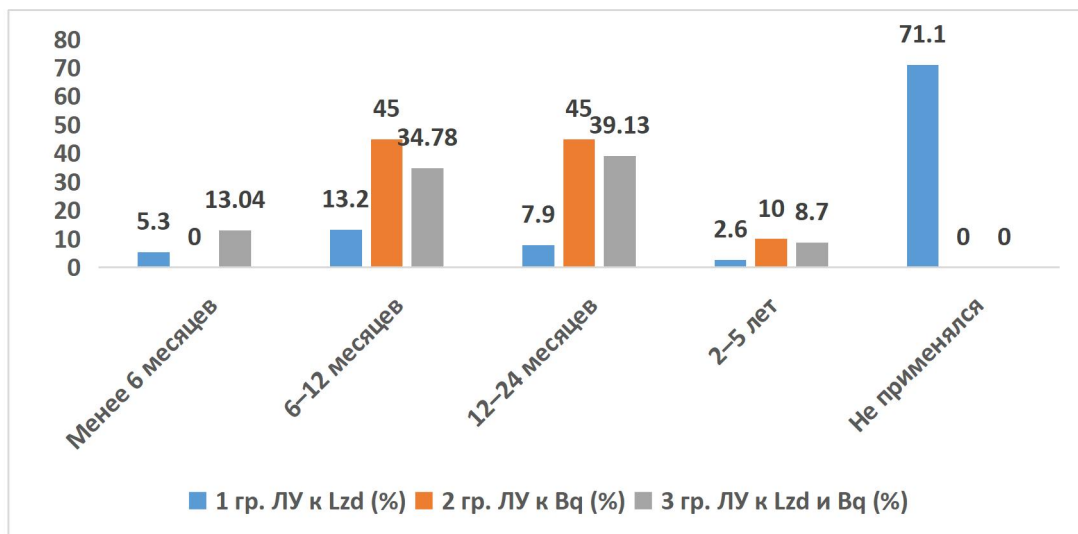


Рисунок 9 – Сроки применения бедаквиллина у больных с разными видами широкой лекарственной устойчивости МБТ.

Клинические формы туберкулеза органов дыхания

Анализ клинических форм туберкулёза при поступлении в стационар выявил доминирование фиброзно-кавернозного туберкулёза лёгких во всех группах (таблица 17). Статистически значимых различий в распределении клинических форм между группами выявлено не было ($\chi^2=9,63$; $p=0,29$), однако наблюдалась чёткая тенденция к увеличению доли фиброзно-кавернозного туберкулёза при сочетанной устойчивости (87,0% против 62,5–65,8%). Также не отмечалось статистически значимых различий по распространённости процесса ($\chi^2=3,21$; $p=0,20$)

Таблица 17 – Клинические формы туберкулёза лёгких и распространённость процесса в зависимости от варианта ШЛУ МБТ

| Показатель | 1 группа ЛУ к Lzd (n=38) | 2 группа ЛУ к Bdq (n=40) | 3 группа ЛУ к Lzd+Bdq (n=23) | χ^2 | p |
|---------------------------|-----------------------------|-----------------------------|---------------------------------|----------|-------|
| Клиническая форма | | | | 9,63 | 0,290 |
| ФКТ | 25 (65,8%) | 25 (62,5%) | 20 (87,0%) | | |
| Цирротический ТБ | 4 (10,5%) | 6 (15,0%) | 2 (8,7%) | | |
| Инфильтрат. ТБ | 4 (10,5%) | 0 (0,0%) | 1 (4,3%) | | |
| Другие формы | 5 (13,2%) | 9 (22,5%) | 0 (0,0%) | | |
| Распространённость | | | | 3,21 | 0,201 |
| 1–2 доли | 17 (44,7%) | 14 (35,0%) | 6 (26,1%) | | |
| Более 2 долей | 21 (55,3%) | 26 (65,0%) | 17 (73,9%) | | |

Ключевые различия выявлены при анализе полостей распада (таблица 18). Наличие каверн достоверно чаще определялось в 3-й группе (100% пациентов), где полностью отсутствовали случаи без деструкции лёгочной ткани ($\chi^2=6,87$; $p=0,032$). Крупные полости (>4 см) выявлялись у 69,6% пациентов 3-й группы против 42,5–50,0% в других группах, что отражает более выраженную деструкцию при сочетанной устойчивости.

Таблица 18 – Характеристика полостей распада у пациентов с ШЛУ МБТ

| Показатель | 1 группа ЛУ к Lzd (n=38) | 2 группа ЛУ к Bdq (n=40) | 3 группа ЛУ к Lzd+Bdq (n=23) | χ^2 | p |
|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|------------------------------------|----------|-------|
| Наличие полости распада | | | | 6,87 | 0,032 |
| CV+ | 31 (81,6%) | 36 (90,0%) | 23 (100,0%) | | |
| CV- | 7 (18,4%) | 4 (10,0%) | 0 (0,0%) | | |
| Размеры полостей | | | | 8,74 | 0,190 |
| до 2 см | 5 (16,1%) | 10 (27,8%) | 1 (4,3%) | | |
| 2–4 см | 11 (35,5%) | 9 (25,0%) | 6 (26,1%) | | |
| более 4 см | 15 (48,4%) | 17 (47,2%) | 16 (69,6%) | | |

Функциональное состояние дыхательной системы

Структура нарушений функции внешнего дыхания существенно различалась между группами ($\chi^2=12,21$; $p=0,058$ - тенденция к значимости) (Таблица 19). Для 1-й и 3-й групп характерно преобладание обструктивно-рестриктивных нарушений (60,5% и 60,9% соответственно), тогда как во 2-й группе чаще встречались изолированные обструктивные нарушения (35,0%). Отсутствие патологии ФВД отмечалось преимущественно во 2-й группе (22,5%).

Таблица 19 – Нарушения ФВД в зависимости от варианта ШЛУ МБТ

| Тип нарушения ФВД | 1 группа ЛУ к Lzd (n=38) | 2 группа ЛУ к Bdq (n=40) | 3 группа ЛУ к Lzd+Bdq (n=23) | χ^2 | p |
|----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|------------------------------------|----------|-------|
| Без патологии | 5 (13,2%) | 9 (22,5%) | 2 (8,7%) | 12,21 | 0,058 |
| Обструктивные | 3 (7,9%) | 14 (35,0%) | 6 (26,1%) | | |
| Рестриктивные | 7 (18,4%) | 3 (7,5%) | 1 (4,3%) | | |
| Обструктивно-рестриктивные | 23 (60,5%) | 14 (35,0%) | 14 (60,9%) | | |

Сопутствующая бронхолёгочная патология существенно различалась между группами (таблица 20). Статистически значимо чаще ХОБЛ с дыхательной недостаточностью диагностировалась в 3-й группе (52,2%) по сравнению со 2-й группой (17,5%) ($\chi^2=8,28$; $p=0,016$). Буллёзная дистрофия лёгких также достоверно чаще выявлялась при сочетанной устойчивости (30,4% против 10,5–12,5%; $\chi^2=4,01$; $p=0,045$).

Таблица 20 – Сопутствующие заболевания органов дыхания у пациентов с ШЛУ МБТ

| Сопутствующая патология | 1 группа ЛУ к Lzd (n=38) | 2 группа ЛУ к Bdq (n=40) | 3 группа ЛУ к Lzd+Bdq (n=23) | χ^2 | p |
|-------------------------|-----------------------------|--------------------------------|------------------------------------|----------|-------|
| ХОБЛ + ДН | 12 (31,6%) | 7 (17,5%) | 12 (52,2%) | 8,28 | 0,016 |
| Буллёзная дистрофия | 4 (10,5%) | 5 (12,5%) | 7 (30,4%) | 4,01 | 0,045 |
| Бронхиальная астма | 2 (5,3%) | 3 (7,5%) | 2 (8,7%) | 0,45 | 0,798 |

Противотуберкулезная терапия

Лечение пациентов включало обязательное проведение противотуберкулезной и патогенетической терапии. Режимы химиотерапии назначали в соответствии с действующими клиническими рекомендациями, актуальными на момент прохождения лечения. Наиболее часто назначаемыми препаратами являлись – линезолид, бедаквилин, препараты группы фторхинолонов, циклосерин. В большинстве случаев в схеме лечения сохранялись линезолид и бедаквилин; данные препараты включали в схему лечения еще до получения результатов фенотипической устойчивости МБТ культуральными методами. После получения данных о полном спектре лекарственной устойчивости возбудителя проводилась коррекция схемы противотуберкулезной терапии: проводился индивидуальный подбор терапии на основании данных лекарственной устойчивости возбудителя, в схему включались карбапенемы (например, меропенем имипинем/циластатин) и недавно зарегистрированные для лечения туберкулеза препараты (деламамид, клофазимин).

Анализ включения отдельных противотуберкулезных препаратов в режимы химиотерапии (табл. 21) показал, что во всех группах широко применялись пиразинамид, циклосерин (теризидон), фторхинолоны и линезолид, который входил в схемы лечения у 82,6–87,5% пациентов. Моксифлоксацин являлся наиболее часто используемым фторхинолоном во всех группах. Бедаквилин закономерно чаще применялся у пациентов 2-й и 3-й групп. В то же время в группе больных с сочетанной устойчивостью к линезолиду и бедаквилину отмечалось более редкое применение аминогликозидов, в частности амикацина. Применение карбапенемов (имипенем/циластатин) и резервных препаратов носило ограниченный характер.

Таблица 21 – Доля отдельных ПТП в режимах химиотерапии

| ПРЕПАРАТЫ | 1 гр. ЛУ к Lzd (n=38) | | 2 гр. ЛУ к Bq (n=40) | | 3 гр. ЛУ к Lzd и Bq (n=23) | |
|------------|-----------------------|------|----------------------|------|----------------------------|-------|
| | Абс. | % | Абс. | % | Абс. | % |
| Изониазид | 0 | 0,0% | 0 | 0,0% | 0 | 0,00% |
| Рифампицин | 0 | 0,0% | 0 | 0,0% | 0 | 0,00% |

| | | | | | | |
|----------------------|----|-------|----|-------|----|--------|
| Этамбутол | 7 | 18,4% | 7 | 17,5% | 0 | 0,00% |
| Пиразинамид | 17 | 44,7% | 24 | 60,0% | 14 | 60,87% |
| Этионамид | 6 | 15,8% | 10 | 25,0% | 6 | 26,09% |
| Амикацин | 12 | 31,6% | 12 | 30,0% | 1 | 4,35% |
| Капреомицин | 16 | 42,1% | 17 | 42,5% | 7 | 30,43% |
| Левофлоксацин | 11 | 28,9% | 9 | 22,5% | 3 | 13,04% |
| Спарфлоксацин | 7 | 18,4% | 12 | 30,0% | 5 | 21,74% |
| Моксифлоксацин | 22 | 57,9% | 19 | 47,5% | 12 | 52,17% |
| Циклосерин/теризидон | 30 | 78,9% | 35 | 87,5% | 20 | 86,96% |
| ПАСК | 16 | 42,1% | 12 | 30,0% | 4 | 17,39% |
| Линезолид | 32 | 84,2% | 35 | 87,5% | 19 | 82,61% |
| Бедаквалин | 14 | 36,8% | 25 | 62,5% | 15 | 65,22% |
| Имипинем/циластатин | 14 | 36,8% | 12 | 30,0% | 9 | 39,13% |
| Деламанид | 1 | 2,6% | 1 | 2,5% | 2 | 8,70% |
| Клофазимин | 0 | 0,0% | 0 | 0,0% | 0 | 0,00% |
| Претоманид | 0 | 0,0% | 0 | 0,0% | 0 | 0,00% |

Дополнительные методы лечения

Учитывая ограниченный спектр консервативных возможностей, активно вставал вопрос о необходимости дополнительных методов лечения. Для повышения эффективности лечения пациентам часто применялись дополнительные методы лечения: коллапсотерапия, хирургическое лечение и установка эндобронхиального клапана (ЭК). Анализ дополнительных методов лечения показал, что частота применения искусственного пневмоперитонеума, хирургических вмешательств и установки (ЭК) статистически значимо не различалась между группами пациентов ($p > 0,05$). Наиболее часто в качестве дополнительного метода применялись хирургические вмешательства, проводимые более чем у половины пациентов всех групп: 55,3% - в первой, 65,0% - во второй и 56,5% - в третьей группе. Операции выполнялись на разных этапах терапии, преимущественно в интервале от 2 до 6 месяцев от начала лечения. Чаще всего хирургические вмешательства проводились на 2–4 месяце у 18,4% больных первой, 30,0% - второй и 26,1% - третьей группы.

Искусственный пневмоперитонеум выполнялся реже - от 17,4% до 34,2% наблюдений, а установка ЭК применялась ограниченно (2,5–13,0%).

4.2 Клинические проявления туберкулеза органов дыхания у пациентов с разными вариантами генотипической устойчивости *M.tuberculosis* к линезолиду и бедаквилину

Проведён анализ на выборке 101 пациента с ШЛУ МБТ, распределённых на 8 генетических подгрупп в зависимости от генов, в которых обнаружены мутации, ассоциированные с устойчивостью МБТ к линезолиду и бедаквилину.

1 группа пациентов, выделяющих МБТ с устойчивостью к линезолиду разделена на 3 подгруппы: 1А - мутации в гене, кодирующим белок-мишень для линезолида (*rrl*) (11/38; 28,95%), 1Б - мутации в гене, кодирующим синтез белка, не являющийся мишенью для линезолида, но находящийся вблизи мишени для действия линезолида, в результате чего нарушается связь линезолида с мишенью (*rplC*) (21/38; 55,26%), 1В - мутации в геноме не установлены (6/38; 15,79%).

2 группа пациентов, выделяющих МБТ с устойчивостью к бедаквилину разделена на 3 подгруппы: 2А - мутации в гене, кодирующим супрессор эффлюксного насоса микобактериальной клетки (*mmpR*) (27/40; 67,50%), 2Б - комбинации мутаций в гене, кодирующим белок-мишень для бедаквилина (*atpE*) и в гене, кодирующим супрессор эффлюксного насоса микобактериальной клетки (*mmpR*) (4/40; 10,0%), 2В - мутации в геноме не установлены (9/40; 22,5%).

3 группа пациентов, выделяющих МБТ с устойчивостью к линезолиду и бедаквилину одновременно разделены на 2 группы: 3А – сочетание мутаций в генах *rplC* и *mmpR* (10/23; 43,48%), 3Б - различные сочетания мутаций в генах, ассоциированных с устойчивостью к линезолиду и бедаквилину (13/23, 56,52%).

Для сравнения пропорций использован критерий χ^2 Пирсона (при ожидаемых частотах ≥ 5) или точный критерий Фишера (при ожидаемых частотах < 5). Доверительные интервалы рассчитаны по методу Уилсона (95% ДИ). Уровень статистической значимости принят за $p < 0,05$. Анализ выполнен с использованием *Python* (библиотеки *statsmodels*, *scipy*).

В таблице 22 представлена частота выявления полостей распада (CV) в зависимости от генотипа лекарственной устойчивости *Mycobacterium tuberculosis* (МБТ) при устойчивости к линезолиду, бедаквилину и их сочетанию. При

устойчивости к линезолиду частота полостей распада была высокой во всех подгруппах генотипов (*rrl*, *rplC*, *WT*) и в целом составила 81,6% (31 из 38), при отсутствии статистически значимых различий между генотипами ($\chi^2=3,86$; $p=0,426$). В группе устойчивости к бедаквилину полости распада также выявлялись у большинства пациентов (90,0%; 36 из 40). Наиболее высокая частота отмечена при генотипах *mmpR* и *WT*, тогда как статистически значимых различий между подгруппами не обнаружено ($\chi^2=1,89$; $p=0,389$). При сочетанной устойчивости МБТ к линезолиду и бедаквилину полости распада выявлены у всех пациентов независимо от генотипа (100%; 23 из 23), различия между отдельными генотипическими вариантами не достигали статистической значимости ($\chi^2=2,54$; $p=0,111$).

Таблица 22 – Частота встречаемости полостей распада в зависимости от генотипа устойчивости МБТ

| Генотип ЛУ | n | CV (+) | 95% ДИ | CV (-) | 95% ДИ | χ^2 | p |
|--------------------------------|------------|-------------------|---------------------|-------------------|--------------------|-------------|--------------|
| Линезолид | | | | | | | |
| <i>rrl</i> | 11 | 9 (81,8%) | [48,2; 97,7] | 2 (18,2%) | [2,3; 51,8] | 3,86 | 0,426 |
| <i>rplC</i> | 21 | 18 (85,7%) | [63,7; 97,0] | 3 (14,3%) | [3,0; 36,3] | | |
| <i>WT (Lzd)</i> | 6 | 4 (66,7%) | [22,3; 95,7] | 2 (33,3%) | [4,3; 77,7] | | |
| ВСЕГО ЛУ к Lzd | 38 | 31 (81,6%) | [65,7; 92,3] | 7 (18,4%) | [7,7; 34,3] | | |
| Бедаквилин | | | | | | | |
| <i>mmpR</i> | 27 | 24 (88,9%) | [70,8; 97,7] | 3 (11,1%) | [2,3; 29,2] | 1,89 | 0,389 |
| <i>atpE+mmpR</i> | 4 | 4 (100%) | [39,8; 100] | 0 (0,0%) | [---] | | |
| <i>WT (Bdq)</i> | 9 | 8 (88,9%) | [51,8; 99,7] | 1 (11,1%) | [0,3; 48,2] | | |
| ВСЕГО ЛУ к Bdq | 40 | 36 (90,0%) | [76,3; 97,2] | 4 (10,0%) | [2,8; 23,7] | | |
| Сочетанная устойчивость | | | | | | | |
| <i>rplC+mmpR</i> | 10 | 10 (100%) | [69,2; 100] | 0 (0,0%) | [---] | 2,54 | 0,111 |
| <i>Др.соч.+WT</i> | 13 | 13 (100%) | [75,3; 100] | 0 (0,0%) | [---] | | |
| ВСЕГО ЛУ к Lzd+Bdq | 23 | 23 (100%) | [85,2; 100] | 0 (0,0%) | [---] | | |
| ВСЕГО | 101 | 90 (89,1%) | [81,3; 94,5] | 11 (10,9%) | [5,5; 18,7] | 6,87 | 0,032 |

Примечание: - точный критерий Фишера (малые выборки).

В таблице 23 представлено распределение крупных полостей распада диаметром более 4 см в зависимости от генотипа лекарственной устойчивости *Mycobacterium tuberculosis* (МБТ) при устойчивости к линезолиду, бедаквилину и их сочетанию. В группе пациентов с устойчивостью МБТ к линезолиду крупные полости распада выявлялись у половины пациентов (50,0%; 19 из 38). Частота их

выявления варьировала от 33,3% при WT (Lzd) до 57,1% при генотипе *rplC*, однако статистически значимых различий между генотипами не отмечено ($\chi^2=2,14$; $p=0,343$). При устойчивости МБТ к бедаквилину крупные полости распада выявлялись у 42,5% пациентов (17 из 40). Наиболее высокая доля отмечена при генотипе *atpE+mmpR* (50,0%), однако различия между генотипическими вариантами также не достигали статистической значимости ($\chi^2=0,42$; $p=0,811$). В группе сочетанной устойчивости к линезолиду и бедаквилину крупные полости распада выявлялись у 69,6% пациентов (16 из 23). Более высокая частота наблюдалась при сочетании мутаций в генах *rplC+mmpR* по сравнению с другими вариантами, однако статистически значимых различий между подгруппами выявлено не было ($\chi^2=1,38$; $p=0,240$).

Таблица 23 – Распределение крупных полостей распада (>4 см) в зависимости от генотипа устойчивости МБТ

| Генотип ЛУ | n | CV (+) | 95% ДИ | CV (-) | 95% ДИ | χ^2 | p |
|--------------------------------|------------|-------------------|---------------------|-------------------|---------------------|-------------|---------------|
| Линезолид | | | | | | | |
| <i>rpl</i> | 11 | 5 (45,5%) | [16,7; 76,6] | 6 (54,5%) | [23,4; 83,3] | 2,14 | 0,343 |
| <i>rplC</i> | 21 | 12 (57,1%) | [33,5; 78,7] | 9 (42,9%) | [21,3; 66,5] | | |
| WT (Lzd) | 6 | 2 (33,3%) | [4,3; 77,7] | 4 (66,7%) | [22,3; 95,7] | | |
| ВСЕГО ЛУ к Lzd | 38 | 19 (50,0%) | [33,4; 66,6] | 19 (50,0%) | [33,4; 66,6] | | |
| Бедаквилин | | | | | | | |
| <i>mmpR</i> | 27 | 12 (44,4%) | [25,5; 64,3] | 15 (55,6%) | [35,7; 74,5] | 0,42 | 0,811 |
| <i>atpE+mmpR</i> | 4 | 2 (50,0%) | [6,8; 93,2] | 2 (50,0%) | [6,8; 93,2] | | |
| WT (Bdq) | 9 | 3 (33,3%) | [7,5; 70,1] | 6 (66,7%) | [29,9; 92,5] | | |
| ВСЕГО ЛУ к Bdq | 40 | 17 (42,5%) | [27,2; 58,9] | 23 (57,5%) | [41,1; 72,8] | | |
| Сочетанная устойчивость | | | | | | | |
| <i>rplC+mmpR</i> | 10 | 7 (70,0%) | [34,8; 93,3] | 3 (30,0%) | [6,7; 65,2] | 1,38 | 0,240 |
| Др. соч. + WT | 13 | 9 (69,2%) | [38,6; 90,9] | 4 (30,8%) | [9,1; 61,4] | | |
| ВСЕГО ЛУ к Lzd+Bdq | 23 | 16 (69,6%) | [47,1; 86,8] | 7 (30,4%) | [13,2; 52,9] | | |
| ВСЕГО | 101 | 52 (51,5%) | [41,3; 61,6] | 49 (48,5%) | [38,4; 58,7] | 5,42 | 0,067* |

*Примечание: тенденция к статистической значимости ($p<0,10$).

Проведен анализ ассоциаций клинических проявлений поражения трахеобронхиального дерева с генотипическими особенностями МБТ.

Таблица 24 – Изменения в ТБД дереве при ЛУ к линезолиду

| Показатель | <i>rrl</i> (n=11) | <i>rplC</i> (n=21) | χ^2 | p |
|-------------------------|-------------------|--------------------|----------|-------|
| Без патологии ТБД | 3 (27,3%) | 0 (0,0%) | 4,5 | 0,033 |
| Туберкулёз бронхов | 6 (54,5%) | 10 (47,6%) | 0,15 | 0,700 |
| Рубцовый стеноз бронхов | 0 (0,0%) | 8 (38,1%) | 5,46 | 0,019 |
| Неспецифический бронхит | 2 (18,2%) | 3 (14,3%) | 0,09 | 0,767 |

Представленные в таблице 24 данные позволяют отметить достоверную ассоциацию мутаций в гене *rplC* с тяжёлым поражением трахеобронхиального дерева у пациентов:

- Рубцовые стенозы бронхов выявлялись исключительно у пациентов выделяющих МБТ с мутациями в гене *rplC* (38,1% против 0% при *rrl*; $\chi^2=5,46$; p=0,019)
- Отсутствие патологии ТБД регистрировалось только в подгруппе пациентов, выделяющих МБТ с мутациями в *rpl* (27,3%; $\chi^2=4,55$; p=0,033)

Эти данные указывают на то, что мутации в гене *rplC*, кодирующем рибосомальный белок L3, ассоциированы с формированием необратимых фибротических изменений в бронхиальном дереве.

При изучении характера поражения ТБД у пациентов с устойчивостью возбудителя к бедаквилину и сочетанной устойчивости МБТ к линезолиду и бедаквилину отмечены минимальные различия между подгруппами (таблица 25).

Таблица 25 – Изменения в трахеобронхиальном дереве при устойчивости к бедаквилину и сочетанной устойчивости МБТ к линезолиду и бедаквилину

| Патология ТБД | <i>mmpR</i> (n=27) | <i>atpE+mmpR</i> (n=4) | WT (Bdq) (n=9) | <i>rplC+mmpR</i> (n=10) | Др.соч.+WT (n=13) | χ^2 | p |
|-------------------------|--------------------|------------------------|----------------|-------------------------|-------------------|----------|-------|
| Без патологии | 5 (18,5%) | 1 (25,0%) | 3 (33,3%) | 0 (0,0%) | 1 (7,7%) | 5,84 | 0,211 |
| Туберкулёз бронхов | 15 (55,6%) | 2 (50,0%) | 4 (44,4%) | 6 (60,0%) | 7 (53,8%) | 0,72 | 0,949 |
| Рубцовый стеноз бронхов | 5 (18,5%) | 0 (0,0%) | 1 (11,1%) | 6 (60,0%) | 7 (53,8%) | 12,37 | 0,015 |
| Неспецифический бронхит | 2 (7,4%) | 1 (25,0%) | 1 (11,1%) | 0 (0,0%) | 2 (15,4%) | 3,18 | 0,528 |

Структура изменений ТБД статистически не различалась между подгруппами ($\chi^2=5,84$; $p=0,211$ для «без патологии»; $\chi^2=0,72$; $p=0,949$ «для туберкулёза бронхов»). Частота рубцовых стенозов бронхов была низкой и сопоставимой - 18,5% при мутациях в *mmpR*, 0% при сочетании мутаций в *atpE+mmpR*, 11,1% при диком типе ($\chi^2=1,24$; $p=0,538$). Дикий тип по бедаквилину (WT) ассоциирован с наиболее благоприятным состоянием ТБД - отсутствие патологии регистрировалось у 33,3% пациентов против 18,5% в подгруппе с мутациями в *mmpR* (хотя различия недостоверны из-за малой выборки). Следует также сказать об ограничениях интерпретации. Подгруппа *atpE+mmpR* крайне мала ($n=4$), что делает любые выводы по ней предварительными. Доверительные интервалы для этой подгруппы очень широки (например, 25,0% [0,6–80,6%] для «без патологии ТБД»), что указывает на высокую неопределённость оценок.

При сочетанной устойчивости (*rplC+mmpR* и *Др.соч.+WT*) выявлены достоверные различия в структуре поражения ТБД. Рубцовые стенозы бронхов достоверно чаще регистрировались в обеих подгруппах сочетанной устойчивости по сравнению с подгруппами изолированной устойчивости к бедаквилину, соответственно (*rplC+mmpR*) - 60,0% (6 из 10) и (*Др.соч.+WT*) - 53,8% (7 из 13) и *mmpR*: 18,5% (5 из 27) $\chi^2=12,37$; $p=0,015$ для сравнения всех пяти подгрупп.

Таким образом, наличие мутаций в *rplC* в составе сочетанной устойчивости (*rplC+mmpR*) ассоциировано с формированием рубцовых стенозов бронхов независимо от наличия мутации *mmpR*. Это подтверждает гипотезу о том, что именно мутации в *rplC* (а не *mmpR*) являются детерминантой тяжёлого поражения трахеобронхиального дерева.

Отсутствие патологии ТБД полностью отсутствовало в подгруппе *rplC+mmpR* (0%), тогда как в подгруппе «*Др.соч.+WT*» отмечался 1 случай (7,7%), а при изолированной устойчивости к бедаквилину - 9 случаев (22,5%).

Для подтверждения роли мутации *rplC* независимо от контекста устойчивости (к линезолиду или в сочетании с бедаквилином) проведён объединённый анализ.

Таблица 26 – Влияния мутаций в гене *rplC* на поражение ТБД

| Мутация <i>rplC</i> | n | Рубцовые стенозы бронхов | χ^2 | p | ОШ (95% ДИ) |
|---|----|--------------------------|----------|--------|----------------------|
| Да (<i>rplC</i> или <i>rplC+mmpR</i>) | 31 | 14 (45,2%) | 14,83 | <0,001 | 5,32 (2,18–12,98) |
| Нет (все остальные) | 70 | 15 (21,4%) | | | |

Как следует из таблицы 26, наличие мутаций в *rplC* независимо от профиля устойчивости к бедаквилину ассоциировано с более чем пятикратным увеличением риска формирования рубцовых стенозов бронхов (ОШ=5,32; 95% ДИ: 2,18–12,98; $p<0,001$).

В таблице 27 приводятся результаты анализа влияния мутаций в *mmpR* на поражение ТБД.

Таблица 27 – Анализ влияния мутации *mmpR* на поражение ТБД

| Мутации <i>mmpR</i> | n | Рубцовые стенозы бронхов | χ^2 | p | ОШ (95% ДИ) |
|--|----|--------------------------|----------|-------|---------------------|
| Да(<i>mmpR</i> или <i>rplC+mmpR</i>) | 37 | 11 (29,7%) | 1,84 | 0,175 | 1,68 (0,78–3,62) |
| Нет (все остальные) | 64 | 18 (28,1%) | | | |

Как следует из приведённых в таблице 27 данных, наличие мутаций в *mmpR* сами по себе не ассоциирована с повышенным риском рубцовых стенозов бронхов ($p=0,175$). Повышенный риск в подгруппе *rplC+mmpR* обусловлен именно наличием мутаций в гене *rplC*.

Следует отметить ограничения исследования, связанные со статистическими результатами - ретроспективный дизайн исследования не позволяет полностью исключить влияние конфаундеров (курение, длительность заболевания до госпитализации, предшествующая терапия). Также существенное значение имеют малые размеры некоторых подгрупп, в частности *atpE+mmpR*, $n=4$; *WT* по линезолиду, $n=6$) ограничивают статистическую мощность и увеличивают ширину доверительных интервалов. Отсутствие данных о гетерорезистентности возбудителя может влиять на интерпретацию результатов у подгруппы «другие сочетания + дикий тип».

Несмотря на ограничения, выявленные закономерности статистически достоверны ($p < 0,05$) и клинически значимы, что подтверждает необходимость генотип-ориентированного подхода к лечению ШЛУ-ТБ.

Ниже представлено клиническое наблюдение, демонстрирующее течение туберкулёзного процесса у пациентки при генотипически подтверждённой устойчивости МБТ к линезолиду, обусловленной мутацией в гене *rplC*.

Клинический пример 1

Больная С., 51 год, находилась на лечении в ФГБНУ «ЦНИИТ» с октября 2021 г. по июль 2022 г.

Клинический диагноз: Фиброзно-кавернозный туберкулёз нижней доли левого лёгкого в фазе обсеменения. МБТ (+). ШЛУ МБТ (ЛУ к H,R,S,E,Eto,Lfx,Mfx,PAS,Lzd). Инфильтративно-язвенный туберкулез с тотальным поражением трахеи, бронхов левого легкого и поражением гортани.

Анамнез заболевания: Туберкулез легких впервые выявлен в 1998 году. Получала неоднократные курсы противотуберкулезной терапии стационарно и амбулаторно, лечение получала по режиму лекарственно-чувствительного туберкулеза.

При регистрации рецидива туберкулеза в 2017 году выявлена МЛУ МБТ. После чего получала курсы лечения без значительного эффекта, туберкулезный процесс прогрессировал. Лечение получала с перерывами.

В 2020 году при очередном обострении специфического процесса пациентке проведена установка эндобронхиального клапана в ЛВДБ и Бб слева, тогда же решением врачебной комиссии была переведена на V режим противотуберкулезной терапии.

Далее - продолжила лечение амбулаторно. Ухудшение самочувствия отмечала с начала 2021 года. С 04.02.2021г. по 22.10.2021г. находилась на стационарном лечении в противотуберкулезном диспансере по месту жительства, где получала противотуберкулезную терапию в объёме: Пиразинамид 2000мг/сут, Левифлоксацин 1000мг/сут, Протионамид 750мг/сут, Циклосерин 750мг/сут, ПАСК 10,0 г/сут.

Обратилась в ФГБНУ «ЦНИИТ» для дообследования и определения тактики дальнейшего ведения.

При поступлении: Жалобы: на одышку при значительной физической нагрузке, ночную потливость, снижение веса (на 6 кг), снижение аппетита, кашель с отделением мокроты слизистого характера.

Объективно: Общее состояние ближе к удовлетворительному. Кожные покровы без изменений. Дыхание при аускультации жесткое, выслушиваются крупнопузырчатые хрипы в проекции нижней доли левого легкого. ЧДД 18 в мин. SpO 97 %. Тоны сердца ясные, ритм правильный. ЧСС — 72 уд. в мин. АД 110/70 мм рт ст. Аппетит снижен. Язык влажный, обложен налётом. Живот не вздут, при пальпации мягкий, безболезненный. Печень по краю реберной дуги. Симптом поколачивания отрицательный с обеих сторон. Стул и мочеиспускание в норме.

Компьютерная томография органов грудной клетки при поступлении (рисунок 10): полисегментарно в обоих легких определяются многочисленные разнокалиберные очаговые уплотнения, часть из которых кальцинирована. В С6 левого легкого система из двух каверн размером до 5,7х5,8см и 1,8х2,7см с неравномерно утолщенными стенками. Осумкованная плевральная жидкость в проекции С10 правого легкого 3,7х1,1см, в структуре которой вкрапления кальция.

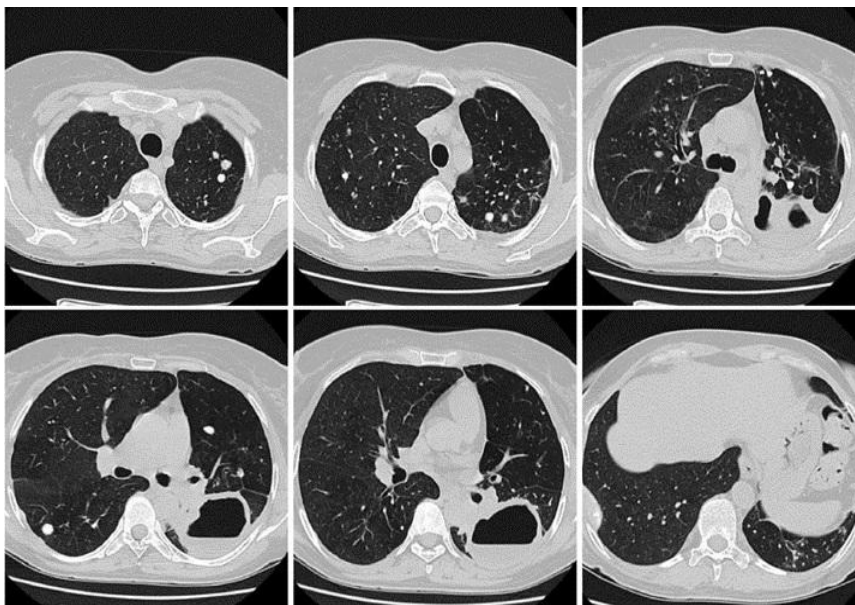


Рисунок 10 – Компьютерная томография органов грудной клетки больной С. при поступлении

Клинический анализ крови: НВ–128 г/л, эр. – $4,89 \times 10^{12}$, лейкоц. – $4,5 \times 10^9$, п/я – 2%, с/я – 54%, эоз. – 7%, лимф. – 29%, мон. – 8%, СОЭ (W) – 30 мм/ч.

Клинический анализ мочи: без патологии

Биохимический анализ крови: общ. билирубин – 4,7 мкмоль/л, АЛТ – 17,1 Е/л, АСТ – 30,4 Е/л, креатинин 62 – мкмоль/л, общий белок – 67,9 г/л, натрий – 140 ммоль/л, калий – 4.4 ммоль/л, СРБ – 14 мг/л.

Микробиологическое исследование мокроты:

| Материал | ПЦР | Микроскопия | Посев | ЛУ |
|----------|--------------------|------------------|-------------------|--|
| мокрота | ДНК МБТ обнаружена | КУМ 9 в 100 п/зр | Рост МБТК выявлен | ВАСТЕС MGIT 960: устойчивые к рифампицину, изониазиду, этамбутолу, стрептомицину, этионамиду, левофлоксацину, моксифлоксацину, ПАСК, линезолиду. Чувствительность сохранена к амикаину, капреомицину, бедаквилину. |

Генотипическая устойчивость МБТ к линезолиду3:

| Lzd-генотип | |
|-------------|----------------|
| <i>rrl</i> | <i>rplC</i> |
| WT | rplC_tgt460cgt |

ФВД - снижение вентиляционной функции легких по смешанному типу. ОФВ1 63,2%, ЖЕЛ 78,1%. **ЭКГ** - Ритм синусовый с ЧСС 86 в мин. Вертикальное положение ЭОС.

Бронхоскопия - отмечается отек и гиперемия слизистой всех элементов гортани, рельеф слизистой шероховатый, сосудистый рисунок смазан, очагово определяются налеты фибрина. Голосовые складки подвижные, при фонации смыкаются не в полном объеме (за счет отека слизистой). Подскладковое пространство свободно, трахея свободна, карина закруглена, бифуркация расширена. Слизистая подскладкового отдела гортани, трахеи (преимущественно на левой стенке), карины бифуркации с переходом на левый главный бронх имеет неровный шероховатый рельеф, гиперемирована, отечна,

контактно ранимая, сосудистый рисунок смазан; в верхних 2/3 трахеи визуализируются милиарные высыпания белесоватого цвета. Слева: устья бронхов просматриваются до 3 порядка, шпоры бронхов расширены, слизистая выраженно отечна, гиперемирована, с неровным рельефом по типу "булыжной мостовой", сосудистый рисунок не определяется. Слизистая ЛГБ на задней стенке, ЛНДБ и всех нижележащих бронхов слева полностью покрыта плотным белесоватым налетом (последний не удаляется). Базальные бронхи детальному осмотру не доступны за счет выраженных инфильтративных изменений и некротического налета.

Справа: устья бронхов 1 - 5 порядка открыты, не деформированы, шпоры их острые подвижные. Слизистая видимых бронхов справа очагово гиперемирована, сосудистый рисунок прослеживается местами.

Проведенное лечение

Противотуберкулезная терапия в объеме: бедаквилин по схеме, линезолид 600мг/сут, спарфлоксацин 200мг/сут, циклосерин 500мг/сут, амикацин 750мг/сут.

Коллапсотерапия: искусственным пневмоперитонеум еженедельно в объеме 800 см³.

Исходы лечения

| Сроки купирования симптомов | Сроки абациллирования мокроты | Сроки закрытия полостей распада |
|-----------------------------|-------------------------------|---------------------------------|
| На 4 месяце лечения | На 5 месяце лечения | На 8 месяце лечения |

Представленное клиническое наблюдение демонстрирует значение мутации в гене *rrlC* в развитии тяжёлого специфического поражения трахеобронхиального дерева и гортани по типу инфильтративно-язвенного туберкулёза с тотальным вовлечением в процесс трахеи и бронхов левого лёгкого. Проведение индивидуализированной противотуберкулёзной терапии с включением бедаквилина, инъекционного препарата и коллапсотерапии позволило добиться положительной динамики с купированием клинической симптоматики, прекращения бактериовыделения и закрытия полостей распада (рисунок 11).

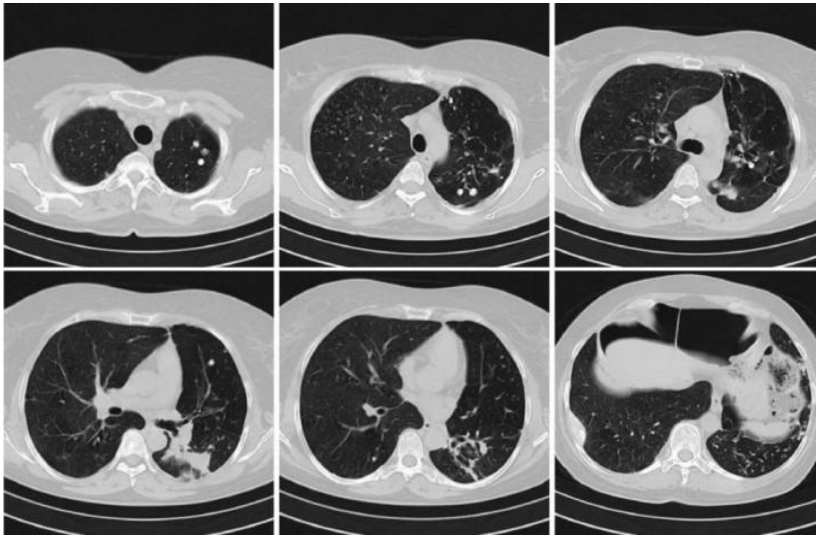


Рисунок 11 – Компьютерная томография органов грудной клетки больной С. при выписке.

Резюме

Обследованные группы пациентов с ШЛУ-туберкулезом сопоставимы по основным демографическим характеристикам (пол, возраст), что исключает их влияние на выявленные клинико-рентгенологические различия. Вместе с тем при сочетанной устойчивости МБТ к линезолиду и бедаквилину выявлена тенденция к более выраженному социальному неблагополучию у пациентов (более высокая доля инвалидности и неработающих), что отражает тяжесть и длительность заболевания. Для всех групп характерно преобладание ранее леченных больных с длительным течением туберкулёзного процесса, однако при сочетанной устойчивости чаще регистрировались неблагоприятные варианты течения до госпитализации и более высокая доля отрицательной динамики. Ключевым фактором неэффективности предшествующего лечения во всех группах являлся нерегулярный приём противотуберкулёзных препаратов, при этом при сочетанной устойчивости данный фактор встречался статистически значимо чаще.

Клиническая структура заболевания характеризовалась доминированием фиброзно-кавернозного туберкулёза лёгких и распространённых форм во всех группах, с тенденцией к их нарастанию при сочетанной устойчивости. Принципиальные различия выявлены при анализе деструктивных изменений: наличие полостей распада достоверно чаще отмечалось у пациентов с устойчивостью МБТ к линезолиду и бедаквилину одновременно (100%), а

крупные каверны (>4 см) в этой группе выявлялись значительно чаще, что свидетельствует о более выраженной деструкции лёгочной ткани.

Функциональное состояние дыхательной системы у пациентов с ШЛУ МБТ характеризовалось высокой частотой нарушений ФВД, преимущественно обструктивно-рестриктивного типа, особенно при сочетанной устойчивости. Сопутствующая бронхолёгочная патология (ХОБЛ с дыхательной недостаточностью, буллёзная дистрофия лёгких) также достоверно чаще выявлялась в группе сочетанной устойчивости, подчёркивая тяжесть поражения респираторной системы.

Генотипический анализ показал, что сами по себе различные варианты мутаций в геноме МБТ, ассоциированные с устойчивостью к линезолиду или бедаквилину, не определяют частоту формирования каверн, однако сочетанная устойчивость ассоциирована с максимальной выраженностью деструктивных изменений. При этом выявлена принципиально важная роль мутаций в гене *rplC*: они достоверно и независимо от контекста лекарственной устойчивости ассоциированы с тяжёлым поражением трахеобронхиального дерева и более чем пятикратным увеличением риска формирования рубцовых стенозов бронхов. Мутации в гене *tnpR* в изолированном виде такой ассоциации не демонстрировали.

Таким образом, сочетанная устойчивость МБТ к линезолиду и бедаквилину характеризуется наиболее тяжёлым клиническим фенотипом туберкулёза органов дыхания, выраженной деструкцией лёгочной ткани, высокой частотой функциональных нарушений и сопутствующей бронхолёгочной патологии. Наличие мутаций в гене *rplC* следует рассматривать как независимый неблагоприятный прогностический фактор, определяющий риск тяжёлых необратимых изменений трахеобронхиального дерева.

ГЛАВА 5. ЭФФЕКТИВНОСТЬ ХИМИОТЕРАПИИ ТУБЕРКУЛЁЗА ЛЁГКИХ У ПАЦИЕНТОВ С ШЛУ МБТ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ФЕНОТИПИЧЕСКОЙ И ГЕНОТИПИЧЕСКОЙ УСТОЙЧИВОСТИ МБТ К ЛИНЕЗОЛИДУ И БЕДАКВИЛИНУ

5.1 Эффективность лечения пациентов с определенной фенотипической устойчивостью МБТ к линезолиду и/или бедаквилину

В данном разделе работы приведена эффективность комплексного лечения пациентов, включенных в исследование ($n = 101$). Анализ сроков купирования клинических симптомов туберкулёза у больных трёх групп показал, что у пациентов первой группы (с ЛУ МБТ к Lzd) купирование симптомов чаще происходило в сроки до 2 месяцев от начала лечения (15,8%) и на 3–4 месяце терапии (50,0%). У большинства больных этой группы (86,8%) улучшение состояния наблюдалось уже к 5–6 месяцу лечения. Во второй группе (с ЛУ МБТ к Bq) клинические проявления заболевания купировались преимущественно на 3–4 месяце терапии (57,5%) и к 5–6 месяцу (82,5%), что свидетельствует о несколько более продолжительном сроке достижения клинического эффекта по сравнению с первой группой. У пациентов третьей группы (с ЛУ МБТ к Lzd и Bq) сроки купирования симптомов были наиболее длительными: клиническое улучшение у большинства больных наступало на 5–6 месяце лечения (69,6%), а купирование симптомов в более ранние сроки (3–4 месяца) отмечалось лишь у 26,1% пациентов ($p > 0,05$). Результаты представлены в таблице 28.

Таблица 28 – Эффективность комплексного лечения больных с ШЛУ МБТ

| Эффективность комплексного лечения | 1 гр. ЛУ к Lzd (n=38) | | 2 гр. ЛУ к Bq (n=40) | | 3 гр. ЛУ к Lzd и Bq (n=23) | |
|--|-----------------------|-------|----------------------|-------|----------------------------|-------|
| | Абс. | % | Абс. | % | Абс. | % |
| Сроки купирования симптомов | | | | | | |
| До 2 мес | 6 | 15,80 | 12 | 30,0 | 0 | 0 |
| На 3-4 мес | 19 | 50 | 23 | 57,50 | 6 | 26,09 |
| На 5-6 мес | 33 | 86,80 | 33 | 82,50 | 16 | 69,57 |
| Сроки закрытия полостей распада | | | | | | |
| До 2 мес | 6 | 15,8 | 7 | 17,5 | 2 | 8,70 |

| | | | | | | |
|--|----|-------|----|-------|----|--|
| На 3-4 мес | 14 | 36,80 | 21 | 52,50 | 6 | 26,09 |
| На 5-6 мес | 25 | 65,80 | 32 | 80,00 | 11 | 47,83 P2-3=0,011 |
| Сроки прекращения бактериовыделения (микроскопия) | | | | | | |
| До 2 мес | 5 | 13,20 | 4 | 10,00 | 0 | 0 |
| На 3-4 мес | 22 | 57,90 | 19 | 47,50 | 2 | 8,70 P2-3=0,001 P1-3<0,001 |
| На 5-6 мес | 35 | 92,10 | 31 | 77,50 | 12 | 52,17 P1-2<0,001 P2-3=0,050 |
| Сроки прекращения бактериовыделения (посев) | | | | | | |
| До 2 мес | 5 | 13,2 | 5 | 12,5 | 0 | 0,00 |
| На 3-4 мес | 11 | 28,90 | 15 | 37,50 | 0 | 0,00 |
| На 5-6 мес | 35 | 92,10 | 31 | 77,50 | 12 | 52,17 P1-2<0,001 P2-3=0,050 |

Оценка сроков прекращения бактериовыделения по данным микроскопии мокроты позволила определить различия в скорости элиминации возбудителя у больных трёх групп. У пациентов первой группы прекращение бактериовыделения чаще происходило в ранние сроки: 13,2% больных достигали отрицательных результатов микроскопии уже в течение первых двух месяцев, 57,9% - на 3–4 месяце лечения, а у подавляющего большинства (92,1%) процесс завершался к 5–6 месяцу терапии. Во второй группе сроки прекращения бактериовыделения были несколько более продолжительными: только 10,0% пациентов становились микроскопически отрицательными в течение первых двух месяцев, 47,5% - на 3–4 месяце, и 77,5% - к 5–6 месяцу лечения. У больных третьей группы бактериовыделение сохранялось значительно дольше: ни у одного пациента не отмечалось прекращения бактериовыделения микроскопическими в первые два месяца, у 8,7% — на 3–4 месяце, а у 52,2% — только к 5–6 месяцу терапии. ($p<0,05$).

Оценка сроков прекращения бактериовыделения по данным посева мокроты показала отчётливые различия у больных трёх групп. У пациентов первой группы прекращение роста микобактерий туберкулёза наблюдалось наиболее рано: 13,2% достигали отрицательных результатов уже в течение первых двух месяцев, 28,9% - на 3–4 месяце, и 92,1% - к 5–6 месяцу лечения. Во второй группе скорость

конверсии мокроты была несколько ниже: в 12,5% случаев удавалось достигнуть отрицательного посева мокроты в первые два месяца, 37,5% - на 3–4 месяце, и 77,5% - к 5–6 месяцу лечения. У больных третьей группы прекращение роста МБТ происходило значительно позже: в первые четыре месяца терапии отрицательных посевов не отмечалось, а 52,2% пациентов достигли конверсии мокроты только к 5–6 месяцу лечения ($p < 0,05$).

При анализе частоты и сроков закрытия полостей распада было установлено, что у пациентов первой группы закрытие полостей чаще происходило на 3–4 месяце лечения (36,8%), а у 65,8% - в течение 5–6 месяцев от начала терапии. Быстрое закрытие каверн (в сроки до 2 месяцев) наблюдалось у 15,8% больных. Во второй группе сроки закрытия полостей распада были несколько медленнее: лишь 17,5% пациентов достигли закрытия полостей в первые два месяца, тогда как основная часть больных - 52,5% - имела положительную динамику на 3–4 месяце, и у 80,0% процесс завершался к 5–6 месяцу лечения. Наиболее замедленное закрытие полостей отмечалось у больных третьей группы - лишь у 8,7% пациентов каверны закрылись в сроки до 2 месяцев, у 26,1% - на 3–4 месяце, и только у 47,8% - к 5–6 месяцу лечения ($p > 0,05$).

5.2 Композитный индекс эффективности химиотерапии туберкулёза с ШЛУ возбудителя по генетическим подгруппам

Для комплексной оценки эффективности химиотерапии в исследовании применён композитный индекс эффективности химиотерапии (КИЭХ), разработанный на основе четырёх клинически значимых компонентов, достижение которых к 6 месяцам лечения ассоциировано с благоприятным исходом заболевания:

1. Купирование клинических симптомов интоксикации (да = 1, нет = 0)
2. Прекращение бактериовыделения по данным микроскопии мокроты (да = 1, нет = 0)
3. Закрытие полостей распада по данным рентгенологического контроля (да = 1, нет = 0)

4. Отсутствие летальности в течение первых 6 месяцев терапии (да = 1, нет = 0)

Формула расчёта КИЭ: $КИЭ = (A + B + C + D) / 4$, где A, B, C, D — бинарные показатели достижения каждого компонента. Индекс варьирует от 0 (полное отсутствие эффекта) до 1 (достижение всех четырёх компонентов). Такой подход позволяет получить интегральную оценку эффективности, учитывающую как микробиологические, так и клинико-рентгенологические критерии, а также безопасность терапии.

Статистический анализ выполнен с использованием непараметрических методов в связи с малым объёмом подгрупп и статистически значимым отклонением распределения КИЭ от нормальности (критерий Шапиро–Уилка, $p < 0,05$):

- Критерий Краскела–Уоллиса (χ^2) для сравнения трёх и более групп;
- Апостериорный тест Данна с поправкой Бонферрони для попарных сравнений (порог значимости $p < 0,0167$);
- Критерий Манна–Уитни (U) для сравнения двух групп;
- Байесовский подход для оценки апостериорной вероятности успеха с расчётом 95% доверительного интервала (95% CrI).

Уровень статистической значимости принят за $p < 0,05$. Расчёт статистических показателей проведён с применением программного обеспечения Python (библиотеки SciPy, statsmodels).

Распределение компонентов композитного индекса эффективности по генетическим подгруппам

Достижение компонентов к 6 месяцам лечения

В таблице 29 представлена частота достижения компонентов композитного индекса эффективности лечения к 6-му месяцу терапии в зависимости от генотипа лекарственной устойчивости *Mycobacterium tuberculosis* у пациентов с ШЛУ-туберкулезом.

Анализ распределения компонентов КИЭХ выявил достоверные различия между группами по двум ключевым показателям: а) прекращение бактериовыделения ($\chi^2=18,63$; $p=0,005$) - наиболее низкие показатели отмечены в 3-й группе (52,2%) и во 2-й группе (55,0%), что отражает снижение бациллярного эффекта при устойчивости к бедаквилину и его сочетании с линезолидом; б) закрытие полостей распада ($\chi^2=14,87$; $p=0,013$) - достоверно чаще сохранялись полости в 3-й группе (52,2%) и в подгруппе *rplC* (42,9%), что указывает на более выраженную деструкцию лёгочной ткани и замедленную регенерацию при данных генотипах устойчивости.

Расчёт композитного индекса эффективности

Наиболее высокая эффективность терапии (КИЭХ $>0,90$) отмечена у пациентов (таблица 30):

- С мутациями в гене *rrl* (КИЭ=0,91)
- С диким типом по линезолиду (КИЭ=0,92)
- С диким типом по бедаквилину (КИЭ=0,95)

Наименее эффективной оказалась терапия у пациентов с сочетанной устойчивостью к линезолиду и бедаквилину:

- Сочетание *rplC+mmpR* (КИЭ=0,70)
- Другие сочетания мутаций + дикий тип (КИЭ=0,58)

| Таблица 29 – Частота достижения компонентов композитного индекса эффективности к 6 месяцам лечения в зависимости от генотипа лекарственной устойчивости МБТ (χ^2 -тест) | | | | | | | | | | | |
|---|----------------------------------|--------------------|------------|-----------------------------------|------------------------|------------|--|-------------------|------------|--------------|--------------|
| Показатель | 1 группа: ЛУ к линезолиду (n=38) | | | 2 группа: ЛУ к бедаквилину (n=40) | | | 3 группа: ЛУ к линезолиду и бедаквилину (n=23) | | | χ^2 | p |
| | <i>rrl</i> (n=11) | <i>rplC</i> (n=21) | ВСЕГО | <i>mmpR</i> (n=27) | <i>atrE+mmpR</i> (n=4) | ВСЕГО | <i>rplC+mmpR</i> (n=10) | Др.соч.+WT (n=13) | ВСЕГО | | |
| Купирование симптомов | | | | | | | | | | 8,24 | 0,221 |
| К 6 мес. | 10 (90,9%) | 17 (81,0%) | 27 (71,1%) | 23 (85,2%) | 3 (75,0%) | 26 (65,0%) | 9 (90,0%) | 7 (53,8%) | 16 (69,6%) | | |
| Не достигнуто | 1 (9,1%) | 4 (19,0%) | 5 (13,2%) | 4 (14,8%) | 1 (25,0%) | 5 (12,5%) | 1 (10,0%) | 6 (46,2%) | 7 (30,4%) | | |
| Прекращение бактериовыделения | | | | | | | | | | 18,63 | 0,005 |
| К 6 мес. | 10 (90,9%) | 19 (90,5%) | 29 (76,3%) | 19 (70,4%) | 3 (75,0%) | 22 (55,0%) | 5 (50,0%) | 7 (53,8%) | 12 (52,2%) | | |
| Сохранялось | 1 (9,1%) | 2 (9,5%) | 3 (7,9%) | 8 (29,6%) | 1 (25,0%) | 9 (22,5%) | 5 (50,0%) | 6 (46,2%) | 11 (47,8%) | | |
| Закрытие полостей распада | | | | | | | | | | 14,87 | 0,013 |
| К 6 мес. | 9 (81,8%) | 12 (57,1%) | 21 (55,3%) | 20 (74,1%) | 3 (75,0%) | 23 (57,5%) | 5 (50,0%) | 6 (46,2%) | 11 (47,8%) | | |
| Сохранялись | 2 (18,2%) | 9 (42,9%) | 13 (34,2%) | 7 (25,9%) | 1 (25,0%) | 8 (20,0%) | 5 (50,0%) | 7 (53,8%) | 12 (52,2%) | | |
| Летальность к 6 мес. | | | | | | | | | | 7,12 | 0,068 |
| Да | 0 (0,0%) | 3 (14,3%) | 3 (7,9%) | 4 (14,8%) | 0 (0,0%) | 4 (10,0%) | 1 (10,0%) | 3 (23,1%) | 4 (17,4%) | | |
| Нет | 11 (100,0%) | 18 (85,7%) | 35 (92,1%) | 23 (85,2%) | 4 (100,0%) | 36 (90,0%) | 9 (90,0%) | 10 (76,9%) | 19 (82,6%) | | |

Таблица 30 – Композитный индекс эффективности химиотерапии по генетическим подгруппам (n=101)

| Группа | Подгруппа | n | Купир. симп- мов, % | Прекр. МБТ, % | Закр. CV, % | Летальность, % | КИЭ | 95% CrI | Апостериорная вероятность успеха |
|----------------|------------|----|------------------------|------------------|----------------|----------------|------|-----------|--|
| Lzd | rrl | 11 | 90,9 | 90,9 | 81,8 | 0,0 | 0,91 | 0,79–0,97 | 0,909 [0,789; 0,970] |
| | rplC | 21 | 81,0 | 90,5 | 57,1 | 14,3 | 0,79 | 0,69–0,87 | 0,786 [0,685; 0,868] |
| | WT (Lzd) | 6 | 100,0 | 100,0 | 66,7 | 0,0 | 0,92 | 0,66–0,99 | 0,917 [0,661; 0,992] |
| Bdq | mmpR | 27 | 85,2 | 70,4 | 74,1 | 14,8 | 0,79 | 0,70–0,86 | 0,787 [0,700; 0,860] |
| | atpE+mmpR | 4 | 75,0 | 75,0 | 75,0 | 0,0 | 0,81 | 0,49–0,96 | 0,812 [0,489; 0,963] |
| | WT (Bdq) | 9 | 77,8 | 100,0 | 100,0 | 0,0 | 0,95 | 0,77–0,99 | 0,945 [0,765; 0,994] |
| Lzd+Bdq | rplC+mmpR | 10 | 90,0 | 50,0 | 50,0 | 10,0 | 0,70 | 0,53–0,84 | 0,700 [0,527; 0,837] |
| | Др.соч.+WT | 13 | 53,8 | 53,8 | 46,2 | 23,1 | 0,58 | 0,43–0,71 | 0,577 [0,432; 0,710] |

Примечание: Все показатели рассчитаны к 6 месяцам терапии. КИЭ - композитный индекс эффективности (макс. = 1,0). 95% CrI — 95% credible interval (байесовский доверительный интервал)

Статистический анализ различий в эффективности лечения между группами

Сравнение групп по критерию Краскела–Уоллиса

Общий критерий Краскела–Уоллиса выявил статистически значимые различия в КИЭХ между всеми восемью подгруппами ($N=24,86$; $df=7$; $p=0,001$), что подтверждает влияние генотипа устойчивости на эффективность химиотерапии (таблица 31).

Таблица 31 - Результаты непараметрического сравнения композитного индекса эффективности между генетическими подгруппами

| Сравниваемые группы | Количество подгрупп (k) | Степени свободы (df) | H (χ^2) | p | Статистическая значимость |
|---------------------------------------|-------------------------|----------------------|-----------------------------|-------|---------------------------|
| Все подгруппы (n=8) | 8 | 7 | 24,86 | 0,001 | Да |
| Группа линезолида (3 подгруппы) | 3 | 2 | 3,52 | 0,172 | Нет |
| Группа бедаквилина (3 подгруппы) | 3 | 2 | 6,14 | 0,046 | Да |
| Сочетанная устойчивость (2 подгруппы) | 2 | 1 | Тест Манна–Уитни (U = 19,5) | 0,023 | Да |

Апостериорный анализ попарных сравнений (тест Данна с поправкой Бонферрони)

На основании проведённого статистического анализа можно сформулировать следующие выводы: в группе бедаквилина мутации *mtpR* достоверно снижают эффективность терапии по сравнению с диким типом ($p=0,012$ до поправки; тенденция после поправки). Наиболее выраженные различия выявлены при сравнении «благоприятных» подгрупп (*WT* по бедаквилину, *rrl*) с подгруппами сочетанной устойчивости ($p<0,001$). В группе линезолида статистически значимых различий между подгруппами выявлено не было, однако наблюдалась чёткая тенденция к снижению КИЭХ при мутациях *rplC* по сравнению с *rrl* и *WT* (таблица 32).

Таблица 32 – Результаты попарных сравнений композитного индекса эффективности (тест Данна, $\alpha=0,0167$)

| Сравнение подгрупп | Разница медиан КИЭХ | p без поправки | P с поправкой Бонферрони) | Статистическая значимость |
|--|---------------------|----------------|---------------------------|---------------------------|
| Группа линезолида | | | | |
| <i>rplC</i> u <i>WT</i> (<i>Lzd</i>) | -0,13 | 0,038 | 0,304 | Нет |
| <i>rpl</i> u <i>rplC</i> | +0,12 | 0,087 | 0,696 | Нет |
| <i>rpl</i> u <i>WT</i> (<i>Lzd</i>) | -0,01 | 0,921 | >0,999 | Нет |
| Группа бедаквилина | | | | |
| <i>mmpR</i> u <i>WT</i> (<i>Bdq</i>) | -0,16 | 0,012 | 0,096 | Тенденция* |
| <i>atpE+mmpR</i> u <i>WT</i> (<i>Bdq</i>) | -0,13 | 0,084 | 0,672 | Нет |
| <i>mmpR</i> u <i>atpE+mmpR</i> | -0,02 | 0,873 | >0,999 | Нет |
| Межгрупповые сравнения | | | | |
| <i>WT</i> (<i>Bdq</i>) u <i>rplC+mmpR</i> | +0,25 | <0,001 | <0,001 | Да |
| <i>WT</i> (<i>Bdq</i>) u <i>Др.соч.+WT</i> | +0,37 | <0,001 | <0,001 | Да |
| <i>rpl</i> u <i>Др.соч.+WT</i> | +0,33 | <0,001 | <0,001 | Да |
| <i>mmpR</i> u <i>Др.соч.+WT</i> | +0,21 | 0,003 | 0,024 | Тенденция* |

*Примечание: различия не достигают порога статистической значимости после поправки Бонферрони ($p < 0,0167$), однако могут рассматриваться как выраженная тенденция и требует подтверждения в исследованиях с большей статистической мощностью.

Сравнение подгрупп с сочетанной устойчивостью (критерий Манна–Уитни)

Сравнение двух подгрупп пациентов с сочетанной устойчивостью к линезолиду и бедаквилину (*rplC+mmpR* и *Др.соч.+WT*) выполнено с использованием U-критерия Манна–Уитни: $U = 19,5$; $p = 0,023$

Различия статистически значимы - подгруппа *rplC+mmpR* демонстрирует достоверно более высокий КИЭХ (0,70 против 0,58), что указывает на относительно лучший ответ на терапию при данном конкретном сочетании мутаций по сравнению с другими генетическими вариантами сочетанной лекарственной устойчивости.

Байесовская оценка вероятности терапевтического успеха

Для повышения клинической интерпретируемости результатов применён байесовский подход с использованием бета-априорного распределения Beta (1,1) (таблица 33). Данный метод позволяет оценить апостериорную вероятность достижения успеха терапии с учётом размера выборки и предоставляет более консервативные оценки для малых подгрупп.

Таблица 33 - Байесовская оценка вероятности успеха терапии по генетическим подгруппам

| Подгруппа | n | Успешные исходы* | Апостериорная вероятность | 95% CrI | Ширина 95% CrI |
|-------------------|----|------------------|---------------------------|----------------|----------------|
| <i>WT (Bdq)</i> | 9 | 34 | 0,945 | [0,765; 0,994] | 0,229 |
| <i>WT (Lzd)</i> | 6 | 22 | 0,917 | [0,661; 0,992] | 0,331 |
| <i>rrl</i> | 11 | 40 | 0,909 | [0,789; 0,970] | 0,181 |
| <i>atpE+mmpR</i> | 4 | 13 | 0,812 | [0,489; 0,963] | 0,474 |
| <i>mmpR</i> | 27 | 85 | 0,787 | [0,700; 0,860] | 0,160 |
| <i>rplC</i> | 21 | 66 | 0,786 | [0,685; 0,868] | 0,183 |
| <i>rplC+mmpR</i> | 10 | 28 | 0,700 | [0,527; 0,837] | 0,310 |
| <i>Др.соч.+WT</i> | 13 | 30 | 0,577 | [0,432; 0,710] | 0,278 |

Примечание: *количество «успешных» компонентов КИЭ $\times 4 \times n$ (максимум = 4 компонента $\times 4$ балла $\times n$ пациентов)

Интерпретация байесовских оценок:

Наивысшая вероятность успеха (>90%) с узким доверительным интервалом отмечена у пациентов с диким типом по бедаквилину (94,5%; 95% CrI: 76,5–99,4%). У пациентов с мутациями *mmpR* и *rplC* вероятность успеха составляет ~79% с относительно узкими ДИ (0,700–0,868), что указывает на стабильность ответа в этих подгруппах. Наименее предсказуемый ответ отмечен у подгруппы *atpE+mmpR* (ширина 95% CrI = 0,474), что связано с крайне малым размером выборки (n=4). Подгруппа «другие сочетания + WT» характеризуется низкой вероятностью успеха (57,7%) и умеренной неопределённостью (ширина ДИ = 0,278) (рисунок 12).

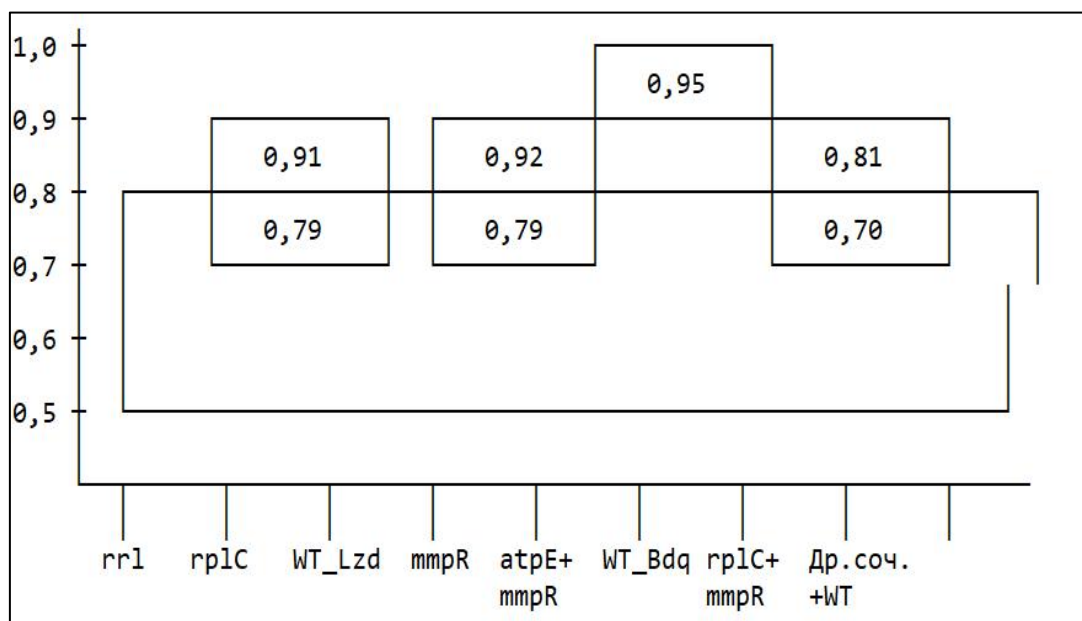


Рисунок 12 - График композитного индекса эффективности по подгруппам

Примечание: Горизонтальные линии соответствуют медианному значению КИЭХ. Показатели $>0,85$ – высокая эффективность, в интервале $0,70-0,85$ – умеренная эффективность; $<0,70$ – низкая эффективность.

WT (Bdq) - «идеальный» профиль: все компоненты достигнуты у $>75\%$ пациентов; *др.соч.+WT* - «неблагоприятный» профиль: все компоненты достигнуты у $<60\%$ пациентов; мутации *rplC* - выраженный дефицит по компоненту «закрытие полостей» (57,1%); мутации *mmpR* - выраженный дефицит по компоненту «прекращение бактериовыделения» (70,4%) (рисунок 10).

Ниже приводится клиническое наблюдение эффективности комплексного лечения пациента ШЛУ-ТБ, включая хирургический метод, выделяющего МБТ с подтвержденной генотипической и фенотипической устойчивостью возбудителя к линезолиду и бедаквилину.

Клинический пример 2

Больной А., 42 лет, находился на лечении в ФГБНУ «ЦНИИТ» с октября 2022 г. по сентябрь 2023 г.

Клинический диагноз: Фиброзно-кавернозный туберкулез лёгких в фазе инфильтрации. МБТ (+) ШЛУ МБТ (ЛУ к H, R, E, Eto, Am, Cm, Lfx, Mfx, Lzd, Bq, чувствительность сохранена к циклосерину, ПАСК). Инфильтративный туберкулез слизистой промежуточного бронха, СДБ и НДБ справа. Фиброзно-

компрессионные стенозы В1+2 слева до 3 степени, ВДБ, СДБ справа до 2 степени, НДБ справа до 3 степени.

Анамнез заболевания: впервые туберкулез легких выявлен в 2008г в местах лишения свободы, неоднократно лечился в специализированных учреждениях. После освобождения из мест лишения свободы в 2016 году продолжил лечение амбулаторно в противотуберкулезном диспансере по месту жительства с диагнозом: диссеминированный туберкулез легких в фазе инфильтрации и рапада. Получал лечение по режиму лекарственно-чувствительного туберкулеза. В 2018г впервые установлена МЛУ МБТ, переведен на режим лечения МЛУ-туберкулеза. Впоследствии лечился нерегулярно, что привело к дальнейшему прогрессированию процесса. На фоне неэффективного лечения сформировался фиброзно-кавернозный туберкулез легких. Получал противотуберкулезную химиотерапию нерегулярно, с перерывами, в том числе получал все препараты резервного ряда.

Последняя госпитализация в противотуберкулезном диспансере по месту жительства в августе 2022 г. с диагнозом: фиброзно-кавернозный туберкулез легких. МБТ (+). Получал лечение по V РХТ в объеме - пиразинамид 1.5/сут, моксифлоксацин 0.4/сут, циклосерин 0.5/сут, линезолид 0.6/сут.

Самостоятельно обратился в ФГБНУ «ЦНИИТ» для лечения и определения тактики дальнейшего ведения.

При поступлении:

Жалобы: на кашель в течение дня с выделением слизисто-гнойной мокроты (около 50мл), одышку при физической нагрузке (подъем на 2-3 этаж), слабость.

Объективно: общее состояние ближе к удовлетворительному. ИМТ — 17.31 кг/м² (недостаточная масса тела). Т тела = 36.7 С. Кожные покровы физиологической окраски. Высыпаний нет. Отёков нет. ЧДД 18 в мин. При аускультации дыхание с жестким оттенком, сухие рассеянные хрипы. SpO₂ 97%. Тоны сердца ясные, ритм не нарушен. ЧСС 96 уд. в мин. Пульс 96 уд. в мин. удовлетворительных свойств. АД - 117/70 мм рт ст. Аппетит нормальный. Живот не вздут, при пальпации безболезненный. Симптомы раздражения брюшины отрицательные. Печень не выступает из-под края реберной дуги, край

печени безболезненный. Мочеиспускание свободное, безболезненное, периодические отмечает учащенное мочеиспускание в ночное время. Симптом поколачивания отрицательный. Стул регулярный, оформленный, 1 раз в сутки. Менингеальные симптомы отрицательные. Координация движений не нарушена. Во времени и месте ориентирован.

Компьютерная томография органов грудной клетки при поступлении (рисунок 13): правое легкое уменьшено в объёме, в его лёгочной паренхиме на фоне расширенных деформированных просветов бронхов, выраженных фиброзных изменений с кальцинатами в структуре, а также разнокалиберных плотных частично кальцинированных очагов и фокусов уплотнений, некоторых из которых с признаками деструкции, визуализируется система многочисленных сливающихся между собой деформированных полостей с толстыми неровными стенками наибольшим размером 89*36мм в С6. В левом лёгком на фоне расширенных деформированных просветов бронхов и фиброзных изменений визуализируется система полостей, местами сливного характера наибольшая в С1+2 34*21мм, а также полисегментарно определяются многочисленные разнокалиберные плотные кальцинированные очаги округлой формы и фокусы уплотнения с неровными контурами наибольшим размером до 16мм с полостью.

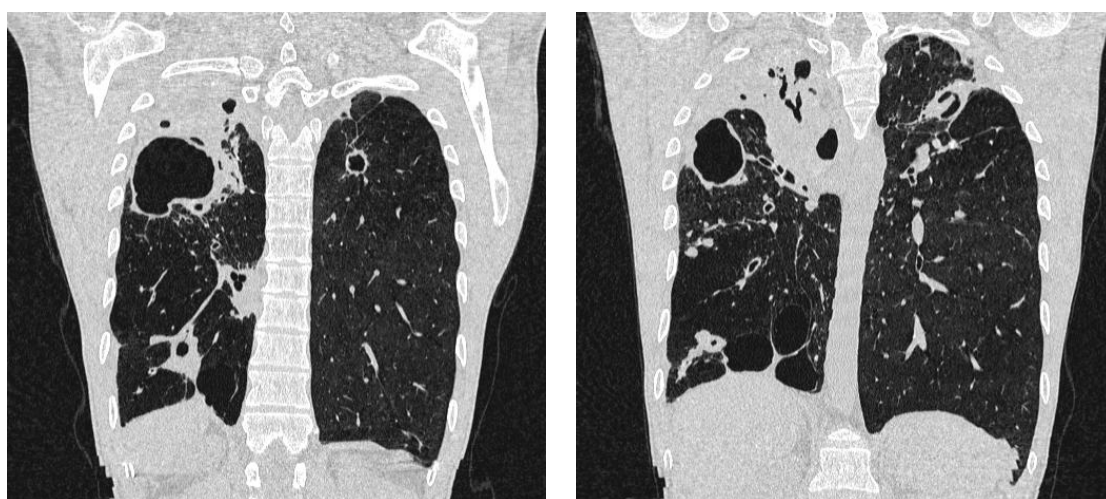


Рисунок 13 – Компьютерная томография органов грудной клетки больного А. при поступлении

Клинический анализ крови: НВ–139 г/л, эр. – $5,13 \times 10^{12}$, лейкоц. – $13,9 \times 10^9$, п/я – 6%, с/я – 65%, эоз. – 2%, лимф. – 17%, мон. – 10%, СОЭ (W) – 89 мм/ч.

Клинический анализ мочи: без патологии

Биохимический анализ крови: общ. билирубин – 8,4 мкмоль/л, АЛТ – 8,6 Е/л, АСТ – 17,2 Е/л, креатинин 82– мкмоль/л, общий белок – 81.9 г/л, натрий – 144 ммоль/л, калий – 4.5 ммоль/л, СРБ – 56 мг/л.

Микробиологическое исследование мокроты:

| Материал | ПЦР | Микроскопия | Посев | ЛУ |
|----------|------------------------|-----------------------|-------------------|---|
| мокрота | ДНК МБТ обнаружен а | КУМ обнаружены +++ | Рост МБТК выявлен | ВАСТЕС MGIT 960: устойчивые к рифампицину, изониазиду, этамбутолу, этионамиду, амикацину, капреомицину, левофлоксацину, моксифлоксацину, линезолиду, бедаквилину. Чувствительность сохранена к циклосерину и ПАСК. |

Генотипическая устойчивость МБТ к линезолиду и бедаквилину:

| Lzd-генотип | | Vq-генотип | |
|-------------|-------------|-----------------|-------------|
| <i>rrl</i> | <i>rplC</i> | <i>mmpR</i> | <i>atpE</i> |
| rrl_g2685t | WT | mmplR5_ins_140g | WT |

ФВД - снижение вентиляционной функции легких по смешанному типу, крайне тяжелая степень обструкции, ЖЕЛ значительно снижена. ОФВ1 31.8%, ЖЕЛ 47.3%.

ЭКГ - ритм синусовый с ЧСС 80 в минуту. Горизонтальное положение ЭОС.

Бронхоскопия - в просвете трахеи гнойный секрет. Устья бронхов 1-5 порядка слева открыты, деформированы, шпоры их острые. Отмечается компрессионный стеноз В1+2 слева до 3 степени, из стенозированного устья поступает гнойный секрет. Слизистая бронхов очагово гиперемирована, сосудистый рисунок прослеживается. Справа в просвете ПГБ значительное количество жидкого гнойного секрета. Отмечается выраженная деформация всех видимых бронхов за счет перибронхиального фиброза, девиации ПГБ и промежуточного бронха. Устья ВДБ и СДБ стенозированы до 2 степени, НДБ - до 3 степени, из бронхов дренируется большое количество гнойного секрета. Слизистая в области дистальной части промежуточного бронха, СДБ и НДБ ярко гиперемирована, отечна, рыхлая, сосудистый рисунок не прослеживается. Заключение: фиброзно-компрессионные стенозы В1+2 слева до 3 ст, ВДБ справа,

СДБ - 2 степени, НДБ справа - до 3 степени. Инфильтративные изменения слизистой промежуточного бронха, СДБ и НДБ.

Проведенное лечение

Противотуберкулезная терапия в объеме: бедаквилин по схеме, линезолид 600мг/сут, моксифлоксацин 400мг/сут, теризидон 500мг/сут, имипинем+циластатин 1.0*2р/сут+амоксиклав, деламанад 200мг/сут

Хирургическое лечение: пневмонэктомия справа (апрель 2023 года). Сроки проведения хирургического лечения: на 5 месяце лечения.

Исходы лечения

| Сроки купирования симптомов | Сроки абациллирования мокроты | Сроки закрытия полостей распада |
|-----------------------------|-------------------------------|--|
| На 6 месяце лечения | На 6 месяце лечения | Полость в левом легком сохранялись на момент выписки |

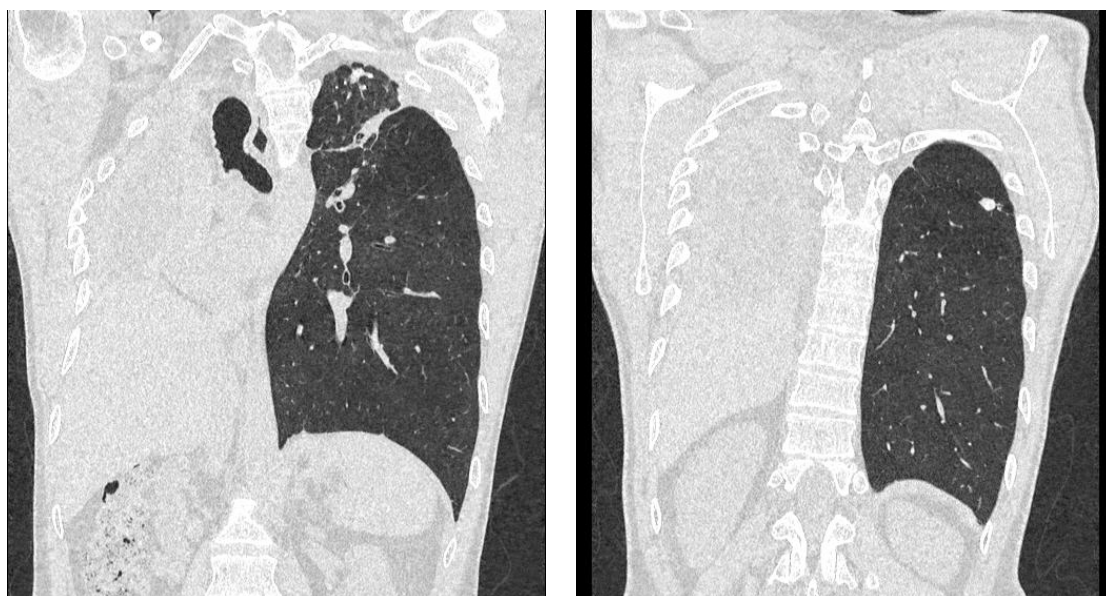


Рисунок 14 – Компьютерная томография органов грудной клетки при переводе в III ГДН.

Представленное клиническое наблюдение пациента с фиброзно-кавернозным туберкулёзом лёгких и ШЛУ возбудителя, выраженными фиброзно-компрессионными стенозами бронхов и тяжёлым нарушением функции внешнего дыхания демонстрирует эффективность индивидуализированной противотуберкулёзной терапии в сочетании с радикальным хирургическим

лечением (пневмонэктомия справа). Установлено, что лекарственная устойчивость МБТ была обусловлена мутациями в гене *rrl*, ассоциированными с устойчивостью к линезолиду, а также в гене *ttprR*, связанными с устойчивостью к бедаквилину. Несмотря на ограниченный спектр химиопрепаратов с сохранённой лекарственной чувствительностью разработанный персонафицированный подход, позволил добиться положительной клинико-бактериологической динамики процесса и проведения эффективного оперативного лечения (рисунок 14). Пациент в дальнейшем был переведен в III ГДН.

Резюме

Оценка эффективности комплексного лечения показала закономерное снижение частоты и темпов клинического улучшения, а также прекращения бактериовыделения как по микроскопии, так и по методу посева у пациентов с разными вариантами широкой лекарственной устойчивости МБТ. У больных с устойчивостью МБТ к линезолиду прекращение бактериовыделения и клиническое улучшение достигались в большинстве случаев к пятому/шестому месяцу терапии. У пациентов с устойчивостью МБТ к бедаквилину положительная динамика наблюдалась в те же сроки, но реже, тогда как у больных с устойчивостью одновременно к линезолиду и бедаквилину купирование симптомов, закрытие полостей распада и конверсия мокроты происходили значительно медленнее и регистрировались менее чем у половины пациентов к шестому месяцу лечения.

Композитный индекс эффективности (КИЭХ), включающий купирование клинической симптоматики, прекращение бактериовыделения, закрытие полостей распада и отсутствие летальности к 6 месяцам лечения, является прогностически значимым показателем для комплексной оценки эффективности химиотерапии МЛУ/ШЛУ-ТБ. Генотип лекарственной устойчивости МБТ оказывает достоверное влияние на эффективность химиотерапии. Наиболее высокая эффективность отмечена у пациентов с диким типом по бедаквилину, наименьшая

- при сочетанной устойчивости к линезолиду и бедаквилину с другими сочетаниями мутаций. Мутации в гене *ttprR* достоверно снижают абациллярный эффект терапии бедаквилином, что требует усиления режима химиотерапии дополнительными препаратами с выраженным бактерицидным действием. Мутации в гене *rplC* ассоциированы с замедленным закрытием полостей распада. Сочетанная устойчивость к линезолиду и бедаквилину характеризуется достоверно более низкой эффективностью терапии по сравнению с изолированной устойчивостью к одному из препаратов ($p < 0,001$), что обосновывает необходимость раннего генотипирования и персонализации химиотерапии в плане насыщения режима бактерицидными препаратами, а также своевременного решения вопроса об оперативном лечении. Также необходимо более взвешенно подходить у этих больных к назначению укороченных режимов химиотерапии.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Актуальность проведённого исследования определяется сохраняющейся напряжённостью эпидемиологической ситуации по туберкулёзу в Российской Федерации на фоне роста доли форм заболевания с множественной и широкой лекарственной устойчивостью *Mycobacterium tuberculosis* (МБТ). Несмотря на общее снижение заболеваемости и смертности от туберкулёза, эффективность лечения МЛУ/ШЛУ-туберкулёза остаётся недостаточной и существенно уступает среднемировым показателям. Внедрение в клиническую практику препаратов группы А - линезолида и бедаквилина - существенно расширило терапевтические возможности, однако сопровождалось формированием устойчивости МБТ к данным препаратам, клиническое и прогностическое значение которой до настоящего времени изучено фрагментарно. Это обусловило необходимость комплексного анализа фенотипической и генотипической устойчивости МБТ к линезолиду и бедаквилину в сопоставлении с клиническим течением и эффективностью лечения туберкулёза с ШЛУ возбудителя.

Целью настоящего исследования являлось совершенствование подходов к химиотерапии больных ШЛУ-туберкулёзом лёгких на основе оценки фенотипической и генотипической устойчивости *M. tuberculosis* к линезолиду и бедаквилину.

Для достижения поставленной цели нами были выделены следующие задачи:

1. Изучить частоту встречаемости фенотипической устойчивости *M.tuberculosis* к линезолиду и бедаквилину и охарактеризовать молекулярно-генетические механизмы устойчивости к этим препаратам на основании анализа мутаций в генах *rrl*, *rplC*, *atpE* и *tnpR* у клинических штаммов, выделенных от пациентов, проходивших лечение в ФГБНУ «ЦНИИТ».

2. Изучить клинико-лабораторные и рентгенологические проявления туберкулеза у больных с фенотипической и генотипической устойчивостью МБТ к линезолиду и бедаквилину.

3. Оценить эффективность лечения больных туберкулезом при различных вариантах фенотипической и генотипической устойчивости МБТ к линезолиду и бедаквилину.

4. Разработать научно-обоснованный персонализированный подход к лечению больных туберкулезом с ШЛУ возбудителя в зависимости от вариантов мутаций в генах, ассоциированных с устойчивостью МБТ к линезолиду (*rrl* и *rplC*) и бедаквилину (*atpE* и *mmpR*).

В ходе исследования, включившего 101 пациента с культурально подтверждённой ШЛУ МБТ, показано, что устойчивость к линезолиду и/или бедаквилину за период наблюдения выявлялась у 2,7% всех бактериовыделителей. Из них 1,0% составляли пациенты с устойчивостью только к линезолиду, 1,0% - только к бедаквилину и 0,6% - с сочетанной устойчивостью. Анализ динамики выявления резистентных штаммов продемонстрировал статистически значимый рост частоты устойчивости к обоим препаратам до 2022 года, при более высокой скорости формирования устойчивости к бедаквилину (до 12,2% в 2022 г.) по сравнению с линезолидом (до 5,5%). Фенотипический анализ показал, что спектр устойчивости штаммов МБТ с резистентностью к линезолиду и/или бедаквилину включал от 6 до 10 противотуберкулёзных препаратов. Среди изолятов, устойчивых только к линезолиду, устойчивость к 8–10 препаратам отмечалась в 78% случаев, среди Bq-устойчивых - в 88%, а при комбинированной устойчивости (Lzd+Bdq) - в 95% случаев, при этом устойчивость одновременно к 10 препаратам выявлялась у 66% таких штаммов.

Генотипический анализ подтвердил высокую степень соответствия фенотипической и молекулярной устойчивости. Мутации, ассоциированные с устойчивостью к линезолиду, выявлены у 84,2% штаммов (32/38), преимущественно в гене *rplC* (55,3%). Основной выявленной заменой была мутация *rplC_tgt460cgt*, затрагивающая белок L3 рибосомы и, таким образом, непосредственно влияющая на связывание линезолида с рибосомальным комплексом. Мутации в гене *rrl*, кодирующем 23S рРНК, выявлялись реже

(28,9%), преимущественно в виде одиночных или двойных нуклеотидных замен. Наиболее часто встречались мутации *rrl_g2270t/c*, *rrl_g2685t*, *rrl_g2746a*, *rrl_g2814t*, *rrl_a2810c/t*, что соответствует описанным ранее ключевым позициям, ассоциированным с формированием устойчивости к оксазолидинонам. У 15,8% штаммов фенотипическая устойчивость к линезолиду не сопровождалась выявляемыми мутациями, что может указывать на участие альтернативных механизмов резистентности.

Для бедаквилина мутации выявлены у 77,5% фенотипически устойчивых штаммов (31/40). Доминирующим механизмом устойчивости являлись изменения в регуляторном гене *tmpR*, обнаруженные в 67,5% случаев. Спектр мутаций в *tmpR* был чрезвычайно разнообразен и включал как одиночные нуклеотидные замены (например, *mmplR5_g361a*, *mmplR5_t157c*, *mmplR5_c251t*), так и многочисленные вставки и делеции, приводящие к сдвигу рамки считывания (*mmplR5_ins_145c*, *mmplR5_del_292a*, *mmplR5_ins_436g-457t* и др.). Подобные изменения, вероятно, приводят к гиперэкспрессии эффлюксной системы MmpL5/MmpS5 и снижению внутриклеточной концентрации бедаквилина. Мутации в структурном гене *atpE*, кодирующем субъединицу АТФ-синтазы - прямую мишень бедаквилина, выявлялись значительно реже (2,5%), либо в сочетании с мутациями в *tmpR* (7,5%). Наиболее характерной заменой была *atpE_c198g*, наряду с *atpE_g183t*, *atpE_g82a*, *atpE_a83g/t*.

При комбинированной устойчивости МБТ к линезолиду и бедаквилину мутации были выявлены практически во всех случаях (95,7%, 22/23). Наиболее распространённым генотипическим профилем являлось сочетание мутаций *rplC* + *tmpR*, выявленное у 43,5% штаммов, что отражает одновременное нарушение рибосомальной мишени линезолида и активацию эффлюксных механизмов устойчивости к бедаквилину. Реже встречались комбинации *rrl* + *tmpR* (13,0%) и *rplC* + *atpE* (8,7%), а также более сложные сочетания с вовлечением сразу нескольких генов.

Социально-демографическая характеристика пациентов показала преобладание мужчин трудоспособного возраста (65,3%), ранее леченных

больных (81,2%), с высокой долей социального неблагополучия: инвалидность зарегистрирована у 42,6%, неработающие пациенты составили 37,6%, лица с пребыванием в ИТУ - 21,8%. Это подтверждает формирование ШЛУ-туберкулёза преимущественно в условиях длительного, рецидивирующего и социально отягощённого течения заболевания.

Географическое распределение пациентов охватывало более 30 регионов РФ и стран СНГ, при наибольшей представленности Московской области (15,8%) и Республики Дагестан (9,9%), что отражает концентрацию случаев ШЛУ-ТБ в регионах с высокой заболеваемостью и миграционной активностью.

Анализ анамнестических данных выявил отсутствие впервые выявленных случаев туберкулёза и преобладание ранее леченных пациентов (80,0–84,2%), что отражает хроническое, длительно прогрессирующее течение заболевания. Вместе с тем при сочетанной устойчивости МБТ к линезолиду и бедаквилину отмечены наиболее неблагоприятные клинико-анамнестические характеристики: более чем у половины пациентов длительность заболевания превышала 5 лет (52,2%), а отрицательная динамика туберкулёзного процесса до госпитализации регистрировалась в 52,2% случаев, тогда как в группах с изолированной устойчивостью данный показатель не превышал 22,5–36,8%. В группе сочетанной устойчивости полностью отсутствовали пациенты без динамики заболевания, что подчёркивает агрессивность течения процесса.

Анализ причин неэффективности предшествующего лечения показал, что ведущим фактором во всех группах являлся нерегулярный приём противотуберкулёзных препаратов, однако при сочетанной устойчивости данный фактор встречался статистически значимо чаще (86,9%, $p=0,024$), что указывает на ключевую роль нарушений приверженности лечению в формировании наиболее тяжёлых вариантов ШЛУ-ТБ.

Клиническая структура заболевания во всех группах характеризовалась доминированием фиброзно-кавернозного туберкулёза лёгких, однако при сочетанной устойчивости его доля достигала 87,0%, что превышало показатели групп с изолированной устойчивостью (62,5–65,8%). Распространённые формы с

поражением более двух долей лёгких также чаще регистрировались при сочетанной устойчивости (73,9% против 55,3–65,0%), хотя данные различия носили характер тенденции.

Принципиально значимые различия выявлены при анализе деструктивных изменений лёгочной ткани. Полости распада выявлялись у всех пациентов с сочетанной устойчивостью (100%), что статистически достоверно отличало данную группу от пациентов с изолированной устойчивостью к линезолиду или бедаквилину ($\chi^2=6,87$; $p=0,032$). Кроме того, крупные каверны диаметром более 4 см встречались при сочетанной устойчивости в 69,6% случаев, тогда как в остальных группах - в 42,5–50,0%, что отражает более выраженную деструкцию лёгочной ткани.

Функциональное состояние дыхательной системы у пациентов с ШЛУ-ТБ характеризовалось высокой частотой нарушений функции внешнего дыхания. Наиболее тяжёлые варианты - обструктивно-рестриктивные нарушения - преобладали в 1-й и 3-й группах (60,5% и 60,9% соответственно), тогда как при изолированной устойчивости к бедаквилину чаще встречались изолированные обструктивные нарушения (35,0%). Отсутствие патологии ФВД отмечалось преимущественно во 2-й группе (22,5%), что указывает на относительную клиническую «мягкость» этого варианта устойчивости.

Сопутствующая бронхолёгочная патология также демонстрировала выраженные различия. ХОБЛ с дыхательной недостаточностью статистически значимо чаще выявлялась у пациентов с сочетанной устойчивостью (52,2%) по сравнению с группой устойчивости к бедаквилину (17,5%, $p=0,016$). Аналогичная закономерность установлена для буллёзной дистрофии лёгких (30,4% против 10,5–12,5%; $p=0,045$), что подчёркивает глубину структурных и функциональных нарушений при сочетанной резистентности.

Генотип-ассоциированный анализ показал, что частота формирования каверн и крупных полостей распада не зависела напрямую от конкретного генотипа устойчивости МБТ при изолированной резистентности к линезолиду или бедаквилину. Однако при сочетанной устойчивости МБТ к линезолида и

бедаквилину кавернозные изменения выявлялись у всех пациентов независимо от варианта мутаций. В то же время при анализе поражения трахеобронхиального дерева выявлена принципиально важная роль мутаций в гене *rplC*. Наличие мутаций в гене *rplC* достоверно ассоциировалось с формированием рубцовых стенозов бронхов у пациентов, которые выявлялись у 45,2% пациентов с данными мутациями против 21,4% у остальных больных (ОШ=5,32; 95% ДИ: 2,18–12,98; $p < 0,001$). Данная ассоциация сохранялась независимо от наличия мутаций, связанных с устойчивостью к бедаквилину. Напротив, мутации в гене *ttprR* в изолированном виде не демонстрировали достоверной связи с риском тяжёлого поражения трахеобронхиального дерева ($p = 0,175$).

Таким образом, результаты изучения особенностей клинического течения туберкулеза легких показали, что сочетанная устойчивость МБТ к линезолиду и бедаквилину формирует наиболее тяжёлый клинический фенотип туберкулёза органов дыхания, характеризующийся длительным анамнезом заболевания, неблагоприятной динамикой до госпитализации, выраженной деструкцией лёгочной ткани, тяжёлыми функциональными нарушениями и высокой частотой сопутствующей бронхолёгочной патологии. При этом мутации в гене *rplC* следует рассматривать как независимый неблагоприятный прогностический маркер, ассоциированный с развитием необратимых фибротических изменений трахеобронхиального дерева и осложнённым клиническим течением ШЛУ-ТБ.

Установлено, что эффективность и темпы ответа на лечение достоверно различаются в зависимости от варианта лекарственной устойчивости. Наиболее благоприятное течение лечения отмечено у пациентов с изолированной устойчивостью МБТ к линезолиду. В данной группе купирование клинических симптомов у 50,0% пациентов происходило уже на 3–4 месяце терапии, а у 86,8% - к 5–6 месяцу. Прекращение бактериовыделения по микроскопии и посеву достигалось у 92,1% больных к 6-му месяцу лечения, что свидетельствует о сохранённом бактерицидном потенциале применяемых режимов при данном варианте устойчивости.

При устойчивости МБТ к бедаквилину сроки достижения клинического и микробиологического эффекта были более продолжительными. Купирование симптомов на 3–4 месяце терапии отмечалось у 57,5% пациентов, а прекращение бактериовыделения к 6 месяцам - у 77,5%, что достоверно ниже, чем в группе линезолида ($p < 0,05$). Эти данные указывают на снижение бациллярного эффекта терапии при устойчивости к бедаквилину даже при сохранённой чувствительности к линезолиду.

Наиболее неблагоприятные результаты лечения зафиксированы у пациентов с сочетанной устойчивостью МБТ к линезолиду и бедаквилину. В данной группе клиническое улучшение у большинства больных наступало только на 5–6 месяце терапии (69,6%), при этом прекращение бактериовыделения по данным микроскопии и посева достигалось лишь у 52,2% пациентов к 6 месяцам лечения. Закрытие полостей распада происходило менее чем у половины больных (47,8%), что достоверно отличало эту группу от пациентов с изолированной устойчивостью ($p < 0,05$). Таким образом, сочетанная устойчивость характеризуется замедленной и менее полной реализацией как клинического, так и микробиологического эффекта терапии.

Для интегральной оценки эффективности лечения использован композитный индекс эффективности химиотерапии (КИЭХ), включающий четыре ключевых компонента: купирование клинических симптомов, прекращение бактериовыделения, закрытие полостей распада и отсутствие летального исхода к 6 месяцам лечения. Применение КИЭХ позволило выявить статистически значимое влияние генотипа лекарственной устойчивости на эффективность химиотерапии ($N=24,86$; $p=0,001$).

Наиболее высокие значения КИЭХ ($>0,90$) отмечены у пациентов с диким типом МБТ по бедаквилину (КИЭХ=0,95), диким типом по линезолиду (КИЭХ=0,92) и при мутациях в гене *rrl* (КИЭХ=0,91). Эти подгруппы характеризовались высокой вероятностью достижения всех компонентов эффективности и минимальной летальностью.

Умеренная эффективность терапии (КИЭХ \approx 0,78–0,81) наблюдалась у пациентов, выделяющих МБТ с мутациями в генах *rplC* и *mmpR*, а также при сочетании мутаций в генах *atpE+mmpR*. При этом выявлены принципиально важные различия в структуре «дефицита» эффективности:

- мутации в гене *mmpR* ассоциировались преимущественно со снижением частоты прекращения бактериовыделения (70,4%),
- мутации в гене *rplC* - с замедленным закрытием полостей распада (57,1%), что отражает различие механизмов неблагоприятного влияния данных мутаций на исходы терапии.

Наименьшая эффективность лечения отмечена у пациентов с сочетанной устойчивостью к линезолиду и бедаквилину. В подгруппе с мутациями в генах *rplC+mmpR* КИЭХ составил 0,70, тогда как при других сочетаниях мутаций и диком типе - всего 0,58, что соответствует низкой эффективности терапии. Различия между этими подгруппами были статистически значимыми ($U=19,5$; $p=0,023$), что указывает на гетерогенность клинического ответа даже внутри категории сочетанной устойчивости.

Байесовская оценка вероятности терапевтического успеха подтвердила полученные выводы. Наивысшая апостериорная вероятность успеха отмечена у пациентов с диким типом по бедаквилину (94,5%), тогда как при сочетанной устойчивости с другими комбинациями мутаций она снижалась до 57,7%. При этом для подгрупп с малыми размерами выборки (*atpE+mmpR*) характерна высокая неопределённость оценок, что подчёркивает необходимость осторожной интерпретации результатов.

Таким образом, результаты изучения эффективности убедительно демонстрируют, что эффективность химиотерапии туберкулёза с ШЛУ возбудителя определяется не только фактом фенотипической устойчивости, но и конкретным генотипом МБТ. Сочетанная устойчивость к линезолиду и бедаквилину является наиболее неблагоприятным вариантом, ассоциированным с замедленным клиническим ответом, снижением бациллярного эффекта и неполным закрытием деструктивных изменений лёгочной ткани. Мутации в генах

mmpR и *rplC* оказывают разнонаправленное, но клинически значимое негативное влияние на эффективность терапии, что обосновывает необходимость раннего молекулярно-генетического тестирования и персонализации режимов химиотерапии с усилением бактерицидного компонента и своевременным решением вопроса о хирургическом лечении у данной категории пациентов.

ВЫВОДЫ

1. Установлено, что за период наблюдения с 2011 по 2022 гг. отмечено нарастание частоты выявления фенотипической устойчивости микобактерий туберкулёза к противотуберкулёзным препаратам группы А — линезолиду и бедаквилину. Частота устойчивости МБТ к линезолиду возросла с 0,2% в 2011 г. до 5,5% в 2022 г., к бедаквилину — с 1,4% в 2016 г. до 12,2% в 2022 г. При этом увеличение доли клинических изолятов МБТ с устойчивостью к бедаквилину было более выраженным по сравнению с линезолид-устойчивыми штаммами.

2. Выявлено, что устойчивость МБТ к линезолиду преимущественно ассоциирована единственной мутацией в гене *rplC* (*rplC_tgt460cgt*) – в 55.3% случаев. В 28,9% случаев зарегистрированы 6 вариантов мутаций в гене *rrl*. Устойчивость к бедаквилину в 67,5% случаев ассоциирована с мутациями в гене *tmpR*, приводящие к изменению структуры продукта гена разной степени выраженности. При сочетанной устойчивости МБТ к линезолиду и бедаквилину наиболее часто выявлялись комбинации мутаций в генах *rplC* и *tmpR* (43.5%).

3. Установлено, что клинические проявления туберкулеза легких у пациентов с установленными вариантами фенотипической ШЛУ возбудителя значимо не различаются, однако у пациентов, выделяющих МБТ с устойчивостью одновременно к линезолиду и бедаквилину отмечается более тяжелое течение заболевания, характеризующиеся преобладанием фиброзно-кавернозных форм (87,0%), тотальным поражением лёгких с полостями распада у 100% пациентов, высокой частотой крупных каверн (>4 см - 69,6%).

4. Показано, что выраженных различий клинических проявлений туберкулёза лёгких в зависимости от спектра мутаций в геноме микобактерий туберкулёза не выявлено. При этом наличие мутаций в гене *rplC* являются независимым предиктором тяжёлого поражения трахеобронхиального дерева с формированием рубцовых стенозов бронхов (38,1% против 0% при мутациях

rrl; $p=0,019$) и отсутствием вариантов без патологии бронхиального дерева ($p=0,033$).

5. Прекращение бактериовыделения по посеву у больных туберкулезом легких с устойчивостью МБТ к линезолиду наблюдалось: 13,2% к 2-м месяцам, 28,9% - к 3–4 месяцам, и 92,1% - к 5–6 месяцу лечения; в группе с устойчивостью МБТ к бедаквилину - в 12,5%, 37,5% и 77,5% соответственно; у пациентов с сочетанной устойчивостью МБТ к линезолиду и бедаквилину - в первые четыре месяца терапии отрицательных посевов не отмечалось, а 52,2% пациентов достигли конверсии мокроты только к 5–6 месяцу лечения ($p<0,05$). Закрывтия полостей распада к 5–6 месяцев от начала терапии было достигнуто в сравниваемых группах в 65,8%, 80,0%, 47,8% соответственно.

6. Показано, что эффективность химиотерапии у больных ШЛУ-туберкулезом легких достоверно различается в зависимости от генотипических характеристик микобактерий туберкулеза ($N=24,86$; $p=0,001$). Наиболее высокая эффективность отмечена у пациентов, выделяющих МБТ с диким типом генов, ассоциированных с устойчивостью к бедаквилину (КИЭ=0,95), наименьшая - при сочетанной устойчивости к линезолиду и бедаквилину с другими сочетаниями мутаций (КИЭХ=0,58). Комбинированный неблагоприятный исход (сохранение полостей и МБТ) достоверно чаще регистрируется при расширении спектра устойчивости ($p<0,001$), достигая максимума при сочетанной устойчивости (46,2–50,0%). Мутации в гене *mpvR* достоверно снижают абациллярный эффект терапии - прекращение бактериовыделения достигнуто лишь у 70,4% пациентов против 100% у дикого типа ($p=0,012$).

7. В результате исследования разработаны практические рекомендации и алгоритм персонализированного ведения пациентов с широкой лекарственной устойчивостью *Mycobacterium tuberculosis*, основанные на раннем молекулярно-генетическом тестировании устойчивости к линезолиду и бедаквилину. Предложенный алгоритм регламентирует выбор и усиление режимов химиотерапии, объем мониторинга и показания к хирургическим и

эндобронхиальным методам лечения в зависимости от выявленных мутаций в генах МБТ, ассоциированных с устойчивостью к линезолиду и/или бедаквилину (*rrl*, *rplC*, *mmpR*, *atpE*), что позволяет повысить эффективность терапии и снизить риск неблагоприятных исходов при ШЛУ-туберкулёзе лёгких.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

На основании результатов настоящего исследования разработан практико-ориентированный алгоритм ведения пациентов с широкой лекарственной устойчивостью *Mycobacterium tuberculosis*, направленный на повышение эффективности химиотерапии за счёт ранней стратификации риска и персонализации лечебной тактики.

1. Диагностический этап

1.1. Всем пациентам с подозрением на ШЛУ-туберкулёз лёгких рекомендуется включать в стандартный объём обследования молекулярно-генетическое тестирование устойчивости МБТ к линезолиду и бедаквилину с определением мутаций в генах *rrl*, *rplC*, *mmpR*, *atpE*.

1.2. Результаты генотипирования следует использовать не только для подтверждения лекарственной устойчивости, но и для прогнозирования эффективности лечения и выбора интенсивности режима химиотерапии уже на ранних этапах терапии, до получения фенотипических данных.

2. Подбор и коррекция режимов химиотерапии

2.1. При выявлении дикого типа генов МБТ, ответственных за устойчивость к бедаквилину, бедаквилин рекомендуется рассматривать как ключевой препарат режима химиотерапии, поскольку вероятность терапевтического успеха в данной группе превышает 90%. Допускается применение стандартных по интенсивности режимов при условии адекватного бактериологического мониторинга.

2.2. При выявлении мутаций в гене *mmpR* бедаквилин не следует рассматривать как основной бактерицидный препарат режима.

В данных случаях рекомендуется:

- усиление схемы химиотерапии за счёт не менее 3–4 дополнительных препаратов резерва;

- ежемесячный микробиологический контроль (микроскопия и посев);
- ранняя оценка эффективности терапии с использованием композитного индекса эффективности (КИЭХ).

2.3. При устойчивости МБТ к линезолиду, ассоциированной с мутациями в гене *rrl*, линезолид может применяться в составе режима химиотерапии, поскольку эффективность лечения в данной подгруппе остаётся высокой. Рекомендуется стандартный объём клинико-рентгенологического мониторинга.

2.4. При выявлении мутаций в гене *rplC* линезолид следует использовать с осторожностью. В данной группе рекомендуется:

- обязательное усиление режима химиотерапии ≥ 3 новыми препаратами;
- раннее планирование альтернативных лечебных стратегий.

3. Тактика ведения пациентов с сочетанной устойчивостью

3.1. Пациенты с сочетанной устойчивостью МБТ к линезолиду и бедаквилину должны рассматриваться как группа крайне высокого риска неэффективности терапии.

3.2. У данной категории пациентов рекомендуется:

- изначально максимально усиленный режим химиотерапии;
- отказ от использования линезолида и бедаквилина как ключевых препаратов;
- более частый рентгенологический контроль (МСКТ не реже 1 раза в 3 месяца);
- раннее обсуждение показаний к хирургическому лечению и эндобронхиальным вмешательствам;
- отказ от применения укороченных режимов химиотерапии.

4. Мониторинг и оценка эффективности лечения

4.1. Для интегральной оценки ранней эффективности терапии рекомендуется использовать композитный индекс эффективности химиотерапии (КИЭХ), включающий:

- купирование клинических симптомов;
- прекращение бактериовыделения;
- закрытие полостей распада;
- отсутствие летальности к 6 месяцам лечения.

4.2. При значениях КИЭХ $< 0,70$ рекомендуется пересмотр режима химиотерапии, его немедленное усиление и консультация торакального хирурга.

5. Ведение пациентов с поражением трахеобронхиального дерева

5.1. Наличие мутаций в гене *rplC* следует рассматривать как независимый неблагоприятный прогностический фактор тяжёлого поражения трахеобронхиального дерева.

5.2. Пациентам, выделяющим МБТ с мутациями в гене *rplC*, рекомендуется:

- раннее проведение фибробронхоскопии (в первые 1–2 месяца лечения);
- динамический эндоскопический контроль;
- своевременное привлечение специалистов по эндобронхиальным и хирургическим методам коррекции рубцовых стенозов бронхов.

Таблица 34 – Схема алгоритма подбора режимов химиотерапии

| Генотип ЛУ | Рекомендуемый ХП | Дозировка | Усиление режима ХТ | Мониторинг | Прогноз эффективности |
|------------------------|-------------------------|----------------|---|---------------------------|-----------------------|
| <i>rrl</i> | Линезолид | 600 мг 1 р/сут | 2–3 новых ХП | Стандартный | Высокий (КИЭХ=0,91) |
| <i>rplC</i> | Линезолид (ограниченно) | 600 мг 1 р/сут | ≥ 3 новых препарата + ФБС на 1–2 мес | Усиленный (МСКТ на 3 мес) | Умеренный (КИЭХ=0,79) |
| <i>Дикий тип (Lzd)</i> | Линезолид | 600 мг 1 р/сут | 2–3 новых | Стандартный | Высокий |

| | | | | | |
|------------------------|-----------------------------|-------------------------|-------------------------------------|--------------------------|--------------------------|
| | | | препарата | | (КИЭХ=0,92) |
| <i>Дикий тип (Bdq)</i> | Бедаквилин | 400 мг → 200 мг 3 р/нед | 2–3 новых ХП | Стандартный | Очень высокий (КИЭ=0,95) |
| <i>mpR</i> | Бедаквилин не рекомендуется | — | При применении: ≥ 4 препаратов | Ежемесячный контроль МБТ | Сниженный (КИЭ=0,79) |
| <i>rplC+mpR</i> | Lzd+Bdq осторожно | Стандартные | ≥ 3 новых ХП | Усиленный | Умеренный (КИЭ=0,70) |
| <i>Др. сочетания</i> | Избегать Lzd+Bdq | — | Резервные препараты + хирургия | Максимально усиленный | Низкий (КИЭ=0,58) |

Предложенный алгоритм (таблица 34) позволяет персонализировать подбор режимов химиотерапии у больных туберкулёзом лёгких с ШЛУ возбудителя на основании молекулярно-генетического профилирования устойчивости к линезолиду и бедаквилину. Внедрение данных рекомендаций в клиническую практику способствует: повышению эффективности лечения за счёт выбора оптимальных препаратов для конкретного генотипа устойчивости, снижению частоты неблагоприятных исходов путём раннего выявления пациентов с высоким риском неэффективности терапии, оптимизации использования дорогостоящих новых противотуберкулёзных препаратов, своевременному рассмотрению показаний к хирургическому лечению у пациентов с неблагоприятным генотипом и определения показаний к укороченным режимам лечения.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

- ВИЧ – вирус иммунодефицита человека
- ВОЗ – всемирная организация здравоохранения
- ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота
- КТ – компьютерная томография
- КУМ – кислотоустойчивые микобактерии
- ЛУ – лекарственная устойчивость
- МБТ – микобактерии туберкулеза
- МЛУ – множественная лекарственная устойчивость
- МЛУ-ТБ – туберкулез с множественной лекарственной устойчивостью
- НЯ – нежелательные явления
- ОГК – органы грудной клетки
- ПАСК (PAS) – парааминосалициловая кислота
- ПР – побочные реакции
- ПТП – противотуберкулезные препараты
- ПТХ – противотуберкулезная химиотерапия
- ПЦР – полимеразная цепная реакция
- РНК – рибонуклеиновая кислота
- РФ – Российская Федерация
- РУ-ТБ – рифампицин-устойчивый туберкулез
- ТОД – туберкулез органов дыхания
- УЗИ – ультразвуковое исследование
- ФВД – функция внешнего дыхания
- ФКТ – фиброзно-кавернозный туберкулез
- ШЛУ – широкая лекарственная устойчивость
- ШЛУ-ТБ – туберкулез с широкой лекарственной устойчивостью
- ЭКГ – электрокардиография
- Am – амикацин
- Bq – бедаквилин
- Cfz – клофазимин

Cm – капреомицин

Cs/Trd – циклосерин/теризидон

Dlm – деламанид

E – этамбутол

Imp – имипенем

Lzd – линезолид

Lfx – левофлоксацин

Mfx – моксифлоксацин

Mr – меропенем

Pas – ПАСК

Pto/Eto – протионамид/этионамид

Trp – тиоуреидоиминометилпиридиния

Z – пипразинамид

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Баласанянц Г. С. Эффективность химиотерапии у больных туберкулёзом с множественной лекарственной устойчивостью возбудителя с использованием бедаквилина // Пульмонология. — 2022. — Т. 32, № 1. — С. 103–108. — DOI: 10.18093/0869-0189-2022-32-1-103-108.
2. Борисов С. Е., Филиппов А. В., Иванова Д. А., Иванушкина Т. Н., Литвинова Н. В., Гармаш Ю. Ю. Эффективность и безопасность основанных на использовании бедаквилина режимов химиотерапии у больных туберкулёзом органов дыхания: непосредственные и окончательные результаты // Туберкулёз и болезни лёгких. — 2019. — Т. 97, № 5. — С. 28–40. — DOI: 10.21292/2075-1230-2019-97-5-28-40.
3. Васильева И. А., Самойлова А. Г., Зимина В. Н. [и др.]. Опыт применения линезолида в комплексном лечении больных туберкулёзом с широкой лекарственной устойчивостью возбудителя // Туберкулёз и болезни лёгких. — 2011. — Т. 88, № 3. — С. 17–20.
4. Васильева И. А., Самойлова А. Г., Ловачева О. В., Черноусова Л. Н., Багдасарян Т. Р. Влияние разных противотуберкулезных и антибактериальных препаратов на эффективность лечения больных туберкулёзом с множественной лекарственной устойчивостью // Туберкулёз и болезни лёгких. — 2017. — Т. 95, № 10. — С. 9–15. — DOI: 10.21292/2075-1230-2017-95-10-9-15.
5. Васильева И. А., Тестов В. В., Стерликов С. А., Елисеев П. И., Гусева В. А., Кузнецов Е. О., Самойлова А. Г. Сравнительный анализ результатов тестирования лекарственной чувствительности *M. tuberculosis* среди случаев туберкулеза в России в 2023–2024 гг. // Туберкулёз и болезни лёгких. — 2025. — Т. 103, № 5. — С. 8–14. — DOI: 10.58838/2075-1230-2025-103-5-8-14.
6. Васильева И. А., Эргешов А. Э., Конопляников А. Г., Багдасарян Т. Р. Новые технологии в лечении МЛУ/ШЛУ туберкулёза лёгких //

- Совершенствование медицинской помощи больным туберкулёзом: материалы Всерос. науч.-практ. конф. с междунар. участием (Санкт-Петербург, 21–23 окт. 2010 г.). — Санкт-Петербург: [б. и.], 2010. — С. 188–190.
7. Голубчиков П. Н., Крук Е. А., Мишустин С. П., Петренко Т. И., Кудлай Д. А. Опыт лечения больных туберкулёзом с широкой лекарственной устойчивостью возбудителя, в том числе с длительным применением бедаквилина, в Томской области: непосредственные и отдалённые результаты // Туберкулёз и болезни лёгких. — 2019. — Т. 97, № 8. — С. 38–45. — DOI: 10.21292/2075-1230-2019-97-8-38-45.
 8. Коновалова Н. М., Одинец В. С., Василенко Т. И., Задремайлова Т. А. Опыт применения препарата бедаквилин в лечении больных туберкулёзом лёгких с множественной и широкой лекарственной устойчивостью возбудителя // Туберкулёз и болезни лёгких. — 2017. — Т. 95, № 12. — С. 49–53. — DOI: 10.21292/2075-1230-2017-95-12-49-53.
 9. Кукурика А. В. Эффективность и безопасность комбинированной терапии туберкулеза с множественной и пре-широкой лекарственной устойчивостью возбудителя в сочетании с ВИЧ-инфекцией и вирусным гепатитом С: специальность 3.1.26 «Фтизиатрия»: диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук / Кукурика Анастасия Владимировна; Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр фтизиопульмонологии и инфекционных заболеваний» Министерства здравоохранения Российской Федерации. — Москва, 2025. — 252 с.
 10. Морозова Т. И., Докторова Н. П., Отпущенникова О. Н., Николенко Н. Ю. Бедаквилин в лечении туберкулёза с широкой лекарственной устойчивостью // Медицинский совет. — 2022. — Т. 16, № 4. — С. 90–96. — DOI: 10.21518/2079-701X-2022-16-4-90-96.
 11. Незлив С. Е. Борьба с туберкулёзом как инфекционным заболеванием и задачи санитарной организации // Гигиена и санитария. — 1943. — № 5–6.

12. Перетокина И. В., Крылова Л. Ю., Фрейман Г. Е., Носова Е. Ю., Зименков Д. В. Изучение мутаций в генах *mmpR* и *atrE*, ассоциированных с развитием устойчивости *Mycobacterium tuberculosis* к бедаквину // Туберкулёз и социально значимые заболевания. — 2024. — Т. 12, № 1. — С. 4–8. — DOI: 10.54921/2413-0346-2024-12-1-4-8.
13. Письмо Министерства здравоохранения Российской Федерации от 22.09.2016 № 17-10-11893. — Офиц. текст. — 4 с.
14. Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации от 13.12.2023 № 682н «Об утверждении стандарта медицинской помощи взрослым при туберкулёзе (диагностика и лечение)». — Офиц. текст.
15. Ресурсы и деятельность противотуберкулёзных организаций Российской Федерации в 2023–2024 гг. / И. А. Васильева, С. А. Стерликов, В. В. Тестов [и др.]. — Москва: ФГБУ «НМИЦ ФПИ» Минздрава России, 2025. — 91 с.
16. Родина О. В. Нежелательные реакции при химиотерапии туберкулеза с множественной лекарственной устойчивостью возбудителя // Туберкулёз и социально значимые заболевания. — 2021. — № 1. — С. 77–87.
17. Ставицкая Н. В., Фелькер И. Г., Жукова Е. М., Тлиф А. И., Докторова Н. П., Кудлай Д. А. Многофакторный анализ результатов применения бедаквина в терапии МЛУ/ШЛУ-туберкулеза легких // Туберкулёз и болезни лёгких. — 2020. — Т. 98, № 7. — С. 56–62. — DOI: 10.21292/2075-1230-2020-98-7-56-62.
18. Старшинова А. А., Довгалюк И. Ф., Осипов Н. Н., Кудлай Д. А. Эффективность применения бедаквина в Российской Федерации: метаанализ с использованием модели со случайными эффектами // Туберкулёз и болезни лёгких. — 2023. — Т. 101, № 3. — С. 52–61. — DOI: 10.58838/2075-1230-2023-101-3-52-61.
19. Старшинова А. А., Назаренко М. М., Беляева Е. Н., Кудлай Д. А., Павлова М. В., Яблонский П. К. Эффективность применения бедаквина у больных туберкулёзом с множественной и широкой лекарственной устойчивостью //

- Туберкулёз и болезни лёгких. — 2022. — Т. 100, № 5. — С. 56–63. — DOI: 10.21292/2075-1230-2022-100-5-56-63.
20. Стерликов С. А., Васильева И. А., Михайлова Ю. В., Кудрина В. Г., Тестов В. В. Новое определение и эпидемиология туберкулёза с широкой лекарственной устойчивостью микобактерий туберкулёза в 2020 году // Туберкулёз и болезни лёгких. — 2023. — Т. 101, № 2. — С. 14–19. — DOI: 10.58838/2075-1230-2023-101-2-14-19.
21. Сулейманов С. З., Синицын М. В. Применение линезолида и бедаквилина у больных туберкулёзом лёгких в послеоперационный период // Саратовский научно-медицинский журнал. — 2025. — Т. 21, № 1. — С. 62–67. — DOI: 10.15275/ssmj2101062.
22. Тихонов А. М., Буракова М. В., Ваниев Э. В., Романов В. В., Васильева И. А. Эффективность химиотерапии с применением бедаквилина у больных туберкулёзом лёгких с лекарственной устойчивостью возбудителя // Туберкулёз и болезни лёгких. — 2018. — Т. 96, № 2. — С. 22–26. — DOI: 10.21292/2075-1230-2018-96-2-22-26.
23. Тихонова Л. Ю., Соколова В. В., Тарасюк И. А., Екименко А. М., Черенкова М. А., Кудлай Д. А. Опыт применения препарата бедаквилин у больных туберкулёзом с множественной лекарственной устойчивостью возбудителя в Амурской области // Туберкулёз и болезни лёгких. — 2018. — Т. 96, № 6. — С. 45–50. — DOI: 10.21292/2075-1230-2018-96-6-45-50.
24. Туберкулез у взрослых: клинические рекомендации / Общероссийская общественная организация «Российское общество фтизиатров», Национальная ассоциация некоммерческих организаций фтизиатров «Ассоциация фтизиатров». — Москва, 2024. — 167 с.
25. Филинюк О. В., Щегерцов Д. Ю., Кабанец Н. Н., Амичба Д. Э. Переносимость и эффективность химиотерапии у больных туберкулезом легких с множественной лекарственной устойчивостью с включением бедаквилина // Туберкулёз и болезни лёгких. — 2022. — Т. 100, № 9. — С. 40–45. — DOI: 10.21292/2075-1230-2022-100-9-40-45.

26. Филиппов А. В. Эффективность и безопасность режимов химиотерапии туберкулеза, включающих бедаквилин и антибактериальные препараты широкого спектра действия: специальность 14.00.26 «Фтизиатрия»: диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук / Филиппов Алексей Вениаминович; Центральный научно-исследовательский институт туберкулеза. — Москва, 2020. — 196 с.
27. Шабанов П. Д. Линезолид в лечении мультирезистентных форм туберкулёза // *Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии.* — 2018. — Т. 16, № 3. — С. 36–46. — DOI: 10.17816/RCF16336-46.
28. Эргешов А. Э., Пунга В. В., Русакова Л. И., Стерликов С. А., Якимова М. А., Измайлова Т. В. Туберкулёз с множественной и широкой лекарственной устойчивостью микобактерий туберкулёза в Российской Федерации // *Вестник Авиценны.* — 2018. — Т. 20, № 2–3. — С. 314–319. — DOI: 10.25005/2074-0581-2018-20-2-3-314-319.
29. Ahmad N., Ahuja S., Akkerman O. [et al.]. Treatment correlates of successful outcomes in pulmonary multidrug-resistant tuberculosis: an individual patient data meta-analysis // *Lancet.* — 2018. — Vol. 392, No. 10150. — P. 821–834. — DOI: 10.1016/S0140-6736(18)31644-1.
30. Almeida D., Ioerger T., Tyagi S. [et al.]. Mutations in pepQ confer low-level resistance to bedaquiline and clofazimine in *Mycobacterium tuberculosis* // *Antimicrobial Agents and Chemotherapy.* — 2016. — Vol. 60, No. 8. — P. 4590–4599. — DOI: 10.1128/AAC.00753-16.
31. Andries K., Verhasselt P., Guillemont J. [et al.]. A diarylquinoline drug active on the ATP synthase of *Mycobacterium tuberculosis* // *Science.* — 2005. — Vol. 307, No. 5707. — P. 223–227. — DOI: 10.1126/science.1106753.
32. Andries K., Villellas C., Coeck N. [et al.]. Acquired resistance of *Mycobacterium tuberculosis* to bedaquiline // *PLoS ONE.* — 2014. — Vol. 9, No. 7. — e102135. — DOI: 10.1371/journal.pone.0102135.

33. Armocida E., Martini M. Tuberculosis: a timeless challenge for medicine // *Journal of Preventive Medicine and Hygiene*. — 2020. — Vol. 61, No. 2. — P. E143–E147. — DOI: 10.15167/2421-4248/jpmh2020.61.2.1402.
34. Azimi T., Khoshnood S., Asadi A. [et al.]. Linezolid resistance in multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis*: a systematic review and meta-analysis // *Frontiers in Pharmacology*. — 2022. — Vol. 13. — 955050. — DOI: 10.3389/fphar.2022.955050.
35. Balasubramanian V., Solapure S., Iyer H. [et al.]. Bactericidal activity and mechanism of action of AZD5847, a novel oxazolidinone for treatment of tuberculosis // *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. — 2014. — Vol. 58, No. 1. — P. 495–502. — DOI: 10.1128/AAC.01903-13.
36. Banu S., Pholwat S., Foongladda S. [et al.]. Performance of TaqMan array card to detect TB drug resistance on direct specimens // *PLoS ONE*. — 2017. — Vol. 12, No. 5. — e0177167. — DOI: 10.1371/journal.pone.0177167.
37. Beckert P., Hillemann D., Kohl T. A. [et al.]. rplC T460C identified as a dominant mutation in linezolid-resistant *Mycobacterium tuberculosis* strains // *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. — 2012. — Vol. 56, No. 5. — P. 2743–2745.
38. Bernstein J., Lott W. A., Steinberg B. A., Yale H. L. Chemotherapy of experimental tuberculosis. V. Isonicotinic acid hydrazide and related compounds // *American Review of Tuberculosis*. — 1952. — Vol. 65, No. 4. — P. 357–364.
39. Centers for Disease Control and Prevention. Emergence of *Mycobacterium tuberculosis* with extensive resistance to second-line drugs worldwide, 2000–2004 // *MMWR Morbidity and Mortality Weekly Report*. — 2006. — Vol. 55, No. 11. — P. 301–305.
40. Comroe J. H. Jr. Pay dirt: the story of streptomycin. Part I. From Waksman to Waksman // *American Review of Respiratory Disease*. — 1978. — Vol. 117, No. 4. — P. 773–781.

41. Condos R., Hadgiangelis N., Leibert E. [et al.]. Case series report of a linezolid-containing regimen for extensively drug-resistant tuberculosis // *Chest*. — 2008. — Vol. 134, No. 1. — P. 187–192. — DOI: 10.1378/chest.07-1988.
42. Conradie F., Diacon A. H., Ngubane N. [et al.]. Treatment of highly drug-resistant pulmonary tuberculosis // *New England Journal of Medicine*. — 2020. — Vol. 382, No. 10. — P. 893–902. — DOI: 10.1056/NEJMoa1901814.
43. Cox E., Laessig K. FDA approval of bedaquiline – the benefit-risk balance for drug-resistant tuberculosis // *New England Journal of Medicine*. — 2014. — Vol. 371, No. 8. — P. 689–691. — DOI: 10.1056/NEJMp1314385.
44. Cynamon M. H., Klemens S. P., Sharpe C. A., Chase S. Activities of several novel oxazolidinones against *Mycobacterium tuberculosis* in a murine model // *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. — 1999. — Vol. 43, No. 5. — P. 1189–1191.
45. Daniel T. M. Hermann Brehmer and the origins of tuberculosis sanatoria // *International Journal of Tuberculosis and Lung Disease*. — 2011. — Vol. 15, No. 2. — P. 161–162.
46. Diacon A. H., Pym A., Grobusch M. [et al.]. The diarylquinoline TMC207 for multidrug-resistant tuberculosis // *New England Journal of Medicine*. — 2009. — Vol. 360, No. 23. — P. 2397–2405. — DOI: 10.1056/NEJMoa0808427.
47. Diacon A. H., Pym A., Grobusch M. P. [et al.]. Multidrug-resistant tuberculosis and culture conversion with bedaquiline // *New England Journal of Medicine*. — 2014. — Vol. 371, No. 8. — P. 723–732. — DOI: 10.1056/NEJMoa1313865.
48. Dickinson L. Effect of streptomycin on experimental tuberculosis in guinea-pigs // *British Journal of Pharmacology and Chemotherapy*. — 1947. — Vol. 2, No. 1. — P. 23–26.
49. Dietze R., Hadad D. J., McGee B. [et al.]. Early and extended early bactericidal activity of linezolid in pulmonary tuberculosis // *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. — 2008. — Vol. 178, No. 11. — P. 1180–1185. — DOI: 10.1164/rccm.200806-892OC.

50. Dooley K. E., Rosenkranz S. L., Conradie F. [et al.]. QT effects of bedaquiline, delamanid, or both in patients with rifampicin-resistant tuberculosis: a phase 2 randomized controlled trial // *Lancet Infectious Diseases*. — 2021. — Vol. 21, No. 7. — P. 975–983. — DOI: 10.1016/S1473-3099(20)30770-2.
51. Du J., Gao J., Yu Y. [et al.]. Low rate of acquired linezolid resistance in multidrug-resistant tuberculosis treated with bedaquiline–linezolid combination // *Frontiers in Microbiology*. — 2021. — Vol. 12. — 655653. — DOI: 10.3389/fmicb.2021.655653.
52. Espinal M. A., Kim S. J., Suarez P. G. [et al.]. Standard short-course chemotherapy for drug-resistant tuberculosis: treatment outcomes in six countries // *Journal of the American Medical Association*. — 2000. — Vol. 283, No. 19. — P. 2537–2545. — DOI: 10.1001/jama.283.19.2537.
53. Ford C. W., Zurenko G. E., Barbachyn M. R. The discovery of linezolid, the first oxazolidinone antibacterial agent // *Current Drug Targets – Infectious Disorders*. — 2001. — Vol. 1, No. 2. — P. 181–199.
54. Fox W., Ellard G. A., Mitchison D. A. Studies on the treatment of tuberculosis undertaken by the British Medical Research Council tuberculosis units, 1946–1986 // *International Journal of Tuberculosis and Lung Disease*. — 1999. — Vol. 3, Suppl. 2. — P. S231–S279.
55. Gan W. C., Ng H. F., Ngeow Y. F. Mechanisms of linezolid resistance in mycobacteria // *Pharmaceuticals*. — 2023. — Vol. 16, No. 6. — P. 784. — DOI: 10.3390/ph16060784.
56. Gregory W. A., Brittelli D. R., Wang C. L. [et al.]. Antibacterials. Synthesis and structure–activity studies of 3-aryl-2-oxooxazolidines // *Journal of Medicinal Chemistry*. — 1990. — Vol. 33, No. 9. — P. 2569–2578. — DOI: 10.1021/jm00171a035.
57. Guo H., Courbon G. M., Bueler S. A. [et al.]. Structure of mycobacterial ATP synthase bound to the tuberculosis drug bedaquiline // *Nature*. — 2021. — Vol. 589, No. 7840. — P. 143–147. — DOI: 10.1038/s41586-020-3004-3.

58. Guo Q., Bi J., Lin Q. [et al.]. Whole genome sequencing identifies novel mutations associated with bedaquiline resistance in *Mycobacterium tuberculosis* // *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. — 2022. — Vol. 12. — 807095. — DOI: 10.3389/fcimb.2022.807095.
59. Hards K., McMillan D. G. G., Schurig-Briccio L. A. [et al.]. Ionophoric effects of the antitubercular drug bedaquiline // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. — 2018. — Vol. 115, No. 28. — P. 7326–7331. — DOI: 10.1073/pnas.1803723115.
60. Hards K., Robson J. R., Berney M. [et al.]. Bactericidal mode of action of bedaquiline // *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. — 2015. — Vol. 70, No. 7. — P. 2028–2037. — DOI: 10.1093/jac/dkv054.
61. Hartkoorn R. C., Uplekar S., Cole S. T. Cross-resistance between clofazimine and bedaquiline through upregulation of MmpL5 in *Mycobacterium tuberculosis* // *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. — 2014. — Vol. 58, No. 5. — P. 2979–2981. — DOI: 10.1128/AAC.00037-14.
62. Heyckendorf J., Andres S., Köser C. U. [et al.]. What is resistance? Impact of phenotypic versus molecular drug resistance testing on therapy for multi- and extensively drug-resistant tuberculosis // *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. — 2018. — Vol. 62, No. 2. — e01550-17. — DOI: 10.1128/AAC.01550-17.
63. Hillemann D., Rüscher-Gerdes S., Richter E. In vitro-selected linezolid-resistant *Mycobacterium tuberculosis* mutants // *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. — 2008. — Vol. 52, No. 2. — P. 800–801. — DOI: 10.1128/AAC.01189-07.
64. Hinshaw H. C., Feldman W. H. Estreptomycina en el tratamiento de la tuberculosis clínica // *Rev Med Veracruzana*. — 1945. — Vol. 25. — P. 4393–4397.
65. Hinshaw H. C., Feldman W. H. Streptomycin in the treatment of clinical tuberculosis // *Journal of the American Medical Association*. — 1946. — Vol. 132, No. 13. — P. 778–782. — DOI: 10.1001/jama.1946.02870480024007.

66. Hu X., Wu Z., Lei J., Zhu Y., Gao J. Prevalence of bedaquiline resistance in patients with drug-resistant tuberculosis: a systematic review and meta-analysis // *BMC Infectious Diseases*. — 2025. — Vol. 25, No. 1. — P. 689. — DOI: 10.1186/s12879-025-11067-2.
67. Huang T. S., Liu Y. C., Sy C. L. [et al.]. In vitro activities of linezolid against clinical isolates of *Mycobacterium tuberculosis* complex isolated in Taiwan over ten years // *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. — 2008. — Vol. 52, No. 6. — P. 2226–2227. — DOI: 10.1128/AAC.00414-07.
68. Huitric E., Verhasselt P., Koul A. [et al.]. Rates and mechanisms of resistance development in *Mycobacterium tuberculosis* to a novel diarylquinoline ATP synthase inhibitor // *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. — 2010. — Vol. 54, No. 3. — P. 1022–1028. — DOI: 10.1128/AAC.01611-09.
69. Ismail N. A., Omar S. V., Joseph L. [et al.]. Defining bedaquiline susceptibility, resistance, cross-resistance and associated genetic determinants: a retrospective cohort study // *EBioMedicine*. — 2018. — Vol. 28. — P. 136–142. — DOI: 10.1016/j.ebiom.2018.01.005.
70. Kadura S., King N., Nakhoul M. [et al.]. Systematic review of mutations associated with resistance to the new and repurposed *Mycobacterium tuberculosis* drugs // *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. — 2020. — Vol. 75, No. 8. — P. 2031–2043. — DOI: 10.1093/jac/dkaa136.
71. Kloss P., Xiong L., Shinabarger D. L., Mankin A. S. Resistance mutations in 23S rRNA identify the site of action of the protein synthesis inhibitor linezolid // *Journal of Molecular Biology*. — 1999. — Vol. 294, No. 1. — P. 93–101. — DOI: 10.1006/jmbi.1999.3247.
72. Koul A., Vranckx L., Dhar N. [et al.]. Delayed bactericidal response of *Mycobacterium tuberculosis* to bedaquiline involves remodelling of bacterial metabolism // *Nature Communications*. — 2014. — Vol. 5. — P. 3369. — DOI: 10.1038/ncomms4369.
73. Kushner S., Dalalian H., Sanjurjo J. L. [et al.]. Experimental chemotherapy of tuberculosis. II. The synthesis of pyrazinamides and related compounds // *Journal*

- of the American Chemical Society. — 1952. — Vol. 74, No. 14. — P. 3617–3621. — DOI: 10.1021/ja01134a045.
74. Le Ray L. F., Aubry A., Sougakoff W. [et al.]. *atpE* mutation in *Mycobacterium tuberculosis* not always predictive of bedaquiline treatment failure // *Emerging Infectious Diseases*. — 2022. — Vol. 28, No. 5. — P. 1062–1064. — DOI: 10.3201/eid2805.212517.
75. Leach K. L., Swaney S. M., Colca J. R. [et al.]. The site of action of oxazolidinone antibiotics in living bacteria and in human mitochondria // *Molecular Cell*. — 2007. — Vol. 26, No. 3. — P. 393–402. — DOI: 10.1016/j.molcel.2007.04.005.
76. Lee M., Cho S. N., Barry C. E. III [et al.]. Linezolid for XDR-TB – final study outcomes // *New England Journal of Medicine*. — 2015. — Vol. 373, No. 3. — P. 290–291. — DOI: 10.1056/NEJMc1500286.
77. Lee M., Lee J., Carroll M. W. [et al.]. Linezolid for treatment of chronic extensively drug-resistant tuberculosis // *New England Journal of Medicine*. — 2012. — Vol. 367, No. 16. — P. 1508–1518. — DOI: 10.1056/NEJMoa1201964.
78. Lehmann J. Para-aminosalicylic acid in the treatment of tuberculosis // *Lancet*. — 1946. — Vol. 1, No. 6384. — P. 15. — DOI: 10.1016/S0140-6736(46)91185-3.
79. Lienhardt C., Cook S. V., Burgos M. [et al.]. Efficacy and safety of a 4-drug fixed-dose combination regimen compared with separate drugs for treatment of pulmonary tuberculosis // *Journal of the American Medical Association*. — 2011. — Vol. 305, No. 14. — P. 1415–1423. — DOI: 10.1001/jama.2011.436.
80. Lu P., Lill H., Bald D. ATP synthase in mycobacteria: special features and implications for a function as drug target // *Biochimica et Biophysica Acta*. — 2014. — Vol. 1837, No. 7. — P. 1208–1218. — DOI: 10.1016/j.bbabi.2014.01.022.
81. Luo M., Zhou W., Patel H. [et al.]. Bedaquiline inhibits the yeast and human mitochondrial ATP synthases // *Communications Biology*. — 2020. — Vol. 3, No. 1. — P. 452. — DOI: 10.1038/s42003-020-01173-z.

82. Martini M., Gazzaniga V., Behzadifar M. [et al.]. The history of tuberculosis: the social role of sanatoria for the treatment of tuberculosis in Italy between the end of the 19th century and the middle of the 20th // *Journal of Preventive Medicine and Hygiene*. — 2018. — Vol. 59, No. 4. — P. E323–E327. — DOI: 10.15167/2421-4248/jpmh2018.59.4.1103.
83. Matsumoto M., Hashizume H., Tomishige T. [et al.]. OPC-67683, a nitro-dihydro-imidazooxazole derivative with promising action against tuberculosis in vitro and in mice // *PLoS Medicine*. — 2006. — Vol. 3, No. 11. — e466. — DOI: 10.1371/journal.pmed.0030466.
84. McNeil M. B., Dennison D. D., Shelton C. D., Parish T. In vitro isolation and characterization of oxazolidinone-resistant *Mycobacterium tuberculosis* // *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. — 2017. — Vol. 61, No. 10. — e01296-17. — DOI: 10.1128/AAC.01296-17.
85. Migliori G. B., Eker B., Richardson M. D. [et al.]. A retrospective TBNET assessment of linezolid safety, tolerability and efficacy in multidrug-resistant tuberculosis // *European Respiratory Journal*. — 2009. — Vol. 34, No. 2. — P. 387–393. — DOI: 10.1183/09031936.00009509.
86. Ndjeka N., Campbell J. R., Meintjes G. [et al.]. Treatment outcomes 24 months after initiating short, all-oral bedaquiline-containing or injectable-containing rifampicin-resistant tuberculosis treatment regimens in South Africa: a retrospective cohort study // *Lancet Infectious Diseases*. — 2022. — Vol. 22, No. 7. — P. 1042–1051. — DOI: 10.1016/S1473-3099(21)00811-2.
87. Ndjeka N., Schnippel K., Master I. [et al.]. High treatment success rate for multidrug-resistant and extensively drug-resistant tuberculosis using a bedaquiline-containing treatment regimen // *European Respiratory Journal*. — 2018. — Vol. 52, No. 6. — 1801528. — DOI: 10.1183/13993003.01528-2018.
88. Nguyen T. V. A., Anthony R. M., Bañuls A. L. [et al.]. Bedaquiline resistance: its emergence, mechanism, and prevention // *Clinical Infectious Diseases*. — 2018. — Vol. 66, No. 10. — P. 1625–1630. — DOI: 10.1093/cid/cix992.

89. Nicolaou K. C., Rigol S. A brief history of antibiotics and select advances in their synthesis // *Journal of Antibiotics*. — 2018. — Vol. 71, No. 2. — P. 153–184. — DOI: 10.1038/ja.2017.62.
90. Nimmo C., Millard J., van Dorp L. [et al.]. Population-level emergence of bedaquiline and clofazimine resistance-associated variants among patients with drug-resistant tuberculosis in southern Africa // *Lancet Microbe*. — 2020. — Vol. 1, No. 4. — P. e165–e174. — DOI: 10.1016/S2666-5247(20)30031-8.
91. Nissen P., Hansen J., Ban N., Moore P. B., Steitz T. A. The structural basis of ribosome activity in peptide bond synthesis // *Science*. — 2000. — Vol. 289, No. 5481. — P. 920–930. — DOI: 10.1126/science.289.5481.920.
92. Pang Y., Zong Z., Huo F. [et al.]. In vitro drug susceptibility of bedaquiline, delamanid, linezolid, clofazimine and fluoroquinolones against extensively drug-resistant tuberculosis in Beijing, China // *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. — 2017. — Vol. 61, No. 10. — e00900-17. — DOI: 10.1128/AAC.00900-17.
93. Park I. N., Hong S. B., Oh Y. M. [et al.]. Efficacy and tolerability of daily half-dose linezolid in patients with intractable multidrug-resistant tuberculosis // *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. — 2006. — Vol. 58, No. 3. — P. 701–704. — DOI: 10.1093/jac/dkl298.
94. Patriarca C., Lo Bello G., Zannella S., Agati S. A. Tuberculosis: the sanatorium season in the early 20th century // *Pathologica*. — 2022. — Vol. 114, No. 4. — P. 342–346. — DOI: 10.32074/1591-951X-333.
95. Perumal R., Bionghi N., Nimmo C. [et al.]. Baseline and treatment-emergent bedaquiline resistance in drug-resistant tuberculosis: a systematic review and meta-analysis // *European Respiratory Journal*. — 2023. — Vol. 62, No. 6. — 2300639. — DOI: 10.1183/13993003.00639-2023.
96. Preiss L., Langer J. D., Yildiz Ö. [et al.]. Structure of the mycobacterial ATP synthase Fo rotor ring in complex with the anti-TB drug bedaquiline // *Science Advances*. — 2015. — Vol. 1, No. 4. — e1500106. — DOI: 10.1126/sciadv.1500106.

97. Pym A. S., Diacon A. H., Tang S. J. [et al.]. Bedaquiline in the treatment of multidrug- and extensively drug-resistant tuberculosis // *European Respiratory Journal*. — 2016. — Vol. 47, No. 2. — P. 564–574. — DOI: 10.1183/13993003.00724-2015.
98. Rao S. P., Alonso S., Rand L. [et al.]. The protonmotive force is required for maintaining ATP homeostasis and viability of hypoxic, nonreplicating *Mycobacterium tuberculosis* // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. — 2008. — Vol. 105, No. 33. — P. 11945–11950. — DOI: 10.1073/pnas.0711697105.
99. Richter E., Rüsç-Gerdes S., Hillemann D. First linezolid-resistant clinical isolates of *Mycobacterium tuberculosis* // *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. — 2007. — Vol. 51, No. 4. — P. 1534–1536. — DOI: 10.1128/AAC.01069-06.
100. Robitzek E. H., Selikoff I. J. Hydrazides of isonicotinic acid in the treatment of tuberculosis: experimental and clinical studies // *American Review of Tuberculosis*. — 1952. — Vol. 65, No. 4. — P. 402–428.
101. Schatz A., Bugie E., Waksman S. A. Streptomycin, a substance exhibiting antibiotic activity against gram-positive and gram-negative bacteria // *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*. — 1944. — Vol. 55, No. 1. — P. 66–69.
102. Schechter G. F., Scott C., True L. [et al.]. Linezolid in the treatment of multidrug-resistant tuberculosis // *Clinical Infectious Diseases*. — 2010. — Vol. 50, No. 1. — P. 49–55. — DOI: 10.1086/648670.
103. Schlünzen F., Zarivach R., Harms J. [et al.]. Structural basis for the interaction of antibiotics with the peptidyl transferase centre in eubacteria // *Nature*. — 2001. — Vol. 413, No. 6858. — P. 814–821. — DOI: 10.1038/35101544.
104. Schnippel K., Ndjeka N., Maartens G. [et al.]. Effect of bedaquiline on mortality in South African patients with drug-resistant tuberculosis: a

- retrospective cohort study // *Lancet Respiratory Medicine*. — 2018. — Vol. 6, No. 9. — P. 699–706. — DOI: 10.1016/S2213-2600(18)30235-2.
105. Schön T., Werngren J., Machado D., Borroni E., Wijkander M., Lina G., Mouton J., Matuschek E., Kahlmeter G., Giske C., Santin M., Cirillo D. M., Viveiros M., Cambau E. Multicentre testing of the EUCAST broth microdilution reference method for MIC determination on *Mycobacterium tuberculosis* // *Clinical Microbiology and Infection*. — 2021. — Vol. 27, No. 2. — P. 288.e1–288.e4. — DOI: 10.1016/j.cmi.2020.10.019.
106. Segala E., Sougakoff W., Nevejans-Chauffour A., Jarlier V., Petrella S. New mutations in the mycobacterial ATP synthase: new insights into the binding of the diarylquinoline TMC207 to the ATP synthase C-ring structure // *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. — 2012. — Vol. 56, No. 5. — P. 2326–2334. — DOI: 10.1128/AAC.06154-11.
107. Selikoff I. J., Robitzek E. H., Ornstein G. G. Toxicity of hydrazine derivatives of isonicotinic acid in the chemotherapy of human tuberculosis: a preliminary report // *Quarterly Bulletin of Sea View Hospital*. — 1952. — Vol. 13, No. 1. — P. 17–26.
108. Sensi P., Margalith P., Timbal M. T. Rifomycin, a new antibiotic: preliminary report // *Il Farmaco. Edizione Scientifica*. — 1959. — Vol. 14, No. 2. — P. 146–147.
109. Siddiqi S., Rüsç-Gerdes S. MGIT procedure manual for BACTEC MGIT 960 TB system // *Foundation for Innovative New Diagnostics*. — 2006. — 89 p.
110. Snobre J., Villellas M. C., Coeck N., Mulders W., Tzfidia O., de Jong B. C., Andries K., Rigouts L. Bedaquiline- and clofazimine-selected *Mycobacterium tuberculosis* mutants: further insights on resistance driven largely by Rv0678 // *Scientific Reports*. — 2023. — Vol. 13, No. 1. — P. 10444. — DOI: 10.1038/s41598-023-36955-y.
111. Sotgiu G., Centis R., D'Ambrosio L. [et al.]. Efficacy, safety and tolerability of linezolid-containing regimens in treating MDR-TB and XDR-TB:

- systematic review and meta-analysis // *European Respiratory Journal*. — 2012. — Vol. 40, No. 6. — P. 1430–1442. — DOI: 10.1183/09031936.00022912.
112. Swaney S. M., Aoki H., Ganoza M. C., Shinabarger D. L. The oxazolidinone linezolid inhibits initiation of protein synthesis in bacteria // *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. — 1998. — Vol. 42, No. 12. — P. 3251–3255.
113. Tang S., Yao L., Hao X., Zhang X., Liu G., Liu X., Wu M., Zen L., Sun H., Liu Y., Gu J., Lin F., Wang X., Zhang Z. Efficacy, safety and tolerability of linezolid for the treatment of XDR-TB: a study in China // *European Respiratory Journal*. — 2015. — Vol. 45, No. 1. — P. 161–170. — DOI: 10.1183/09031936.00035114.
114. Tran B. M., Larsson J., Grip A., Karempudi P., Elf J. Phenotypic drug susceptibility testing for *Mycobacterium tuberculosis* variant bovis BCG in 12 hours // *Nature Communications*. — 2025. — Vol. 16, No. 1. — P. 4366. — DOI: 10.1038/s41467-025-59736-9.
115. Truant J. P., Brett W. A., Thomas W. Fluorescence microscopy of tubercle bacilli stained with auramine and rhodamine // *Henry Ford Hospital Medical Bulletin*. — 1962. — Vol. 10. — P. 287–296.
116. Umpeleva T., Chetverikova E., Belyaev D., Ereemeeva N., Boteva T., Golubeva L., Vakhrusheva D., Vasilieva I. Identification of genetic determinants of bedaquiline resistance in *Mycobacterium tuberculosis* in Ural region, Russia // *Microbiology Spectrum*. — 2024. — Vol. 12, No. 3. — e03749-23. — DOI: 10.1128/spectrum.03749-23.
117. Ushtanit A., Mikhailova Y., Lyubimova A., Makarova M., Safonova S., Filippov A., Borisov S., Zimenkov D. Genetic profile of linezolid-resistant *Mycobacterium tuberculosis* clinical strains from Moscow // *Antibiotics*. — 2021. — Vol. 10, No. 10. — P. 1243. — DOI: 10.3390/antibiotics10101243.
118. Vengurlekar D., Walker C., Mahajan R., Dalal A., Chavan V., Galindo M. A., Iyer A., Mansoor H., Silsarma A., Isaakidis P., Spencer H. Linezolid resistance in patients with drug-resistant tuberculosis // *International Journal of*

- Tuberculosis and Lung Disease. — 2023. — Vol. 27, No. 7. — P. 567–569. — DOI: 10.5588/ijtld.22.0632.
119. Veziris N., Bernard C., Guglielmetti L., Le Du D., Marigot-Outtandy D., Jaspard M., Caumes E., Lerat I., Rioux C., Yazdanpanah Y., Tiotiu A., Lemaitre N., Brossier F., Jarlier V., Robert J., Sougakoff W., Aubry A.; CNR MyRMA; Tuberculosis Consilium of the CNR MyRMA. Rapid emergence of *Mycobacterium tuberculosis* bedaquiline resistance: lessons to avoid repeating past errors // *European Respiratory Journal*. — 2017. — Vol. 49, No. 3. — P. 1601719. — DOI: 10.1183/13993003.01719-2016.
120. Villellas C., Coeck N., Meehan C. J., Lounis N., de Jong B., Rigouts L., Andries K. Unexpected high prevalence of resistance-associated Rv0678 variants in MDR-TB patients without documented prior use of clofazimine or bedaquiline // *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. — 2017. — Vol. 72, No. 3. — P. 684–690. — DOI: 10.1093/jac/dkw502.
121. Waksman S. A. Streptomycin: background, isolation, properties, and utilization // *Science*. — 1953. — Vol. 118, No. 3062. — P. 259–266. — DOI: 10.1126/science.118.3062.259.
122. Wilkinson R. G. [et al.]. Stereospecificity in a new type of synthetic antituberculous agent // *Journal of the American Chemical Society*. — 1961. — Vol. 83, No. 9. — P. 2212–2213.
123. Wilson D. N., Schlünzen F., Harms J. M., Starosta A. L., Connell S. R., Fucini P. The oxazolidinone antibiotics perturb the ribosomal peptidyl-transferase center and affect tRNA positioning // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. — 2008. — Vol. 105, No. 36. — P. 13339–13344. — DOI: 10.1073/pnas.0804276105.
124. World Health Organization. Catalogue of mutations in *Mycobacterium tuberculosis* complex and their association with drug resistance. — Geneva: WHO, 2021.

125. World Health Organization. Catalogue of mutations in *Mycobacterium tuberculosis* complex and their association with drug resistance. — Geneva: WHO, 2023.
126. World Health Organization. Global project on anti-tuberculosis drug resistance surveillance. Report 4. — Geneva: WHO, 2008. — (WHO/HTM/TB/2008.394).
127. World Health Organization. Global tuberculosis report 2024. — Geneva: WHO, 2024.
128. World Health Organization. Global tuberculosis report 2025. — Geneva: WHO, 2025.
129. World Health Organization. Guidelines for the management of drug-resistant tuberculosis. — Geneva: WHO, 1997. — (WHO/TB/96.210, Rev. 1).
130. World Health Organization. Key updates to the treatment of drug-resistant tuberculosis: rapid communication. — Geneva: WHO, 2024. — 22 p.
131. World Health Organization. Meeting report of the WHO expert consultation on the definition of extensively drug-resistant tuberculosis, 27–29 October 2020. — Geneva: WHO, 2021. — 33 p. — ISBN 978-92-4-001866.
132. World Health Organization. Technical manual for culture-based drug susceptibility testing of medicines used in the treatment of tuberculosis. — 3rd ed. — Geneva: WHO, 2024.
133. World Health Organization. The use of bedaquiline in the treatment of multidrug-resistant tuberculosis: interim policy guidance. — Geneva: WHO, 2013. — 43 p.
134. World Health Organization. WHO consolidated guidelines on tuberculosis. Module 4: treatment. Drug-resistant tuberculosis. — Geneva: WHO, 2020.
135. World Health Organization. WHO consolidated guidelines on tuberculosis. Module 4: treatment. Drug-resistant tuberculosis. — Geneva: WHO, 2021.
136. World Health Organization. WHO operational handbook on tuberculosis. Module 4: treatment. Drug-resistant tuberculosis. — Geneva: WHO, 2022.

137. Xu H. B., Jiang R. H., Li L., Xiao H. P. Linezolid in the treatment of MDR-TB: a retrospective clinical study // *International Journal of Tuberculosis and Lung Disease*. — 2012. — Vol. 16, No. 3. — P. 358–363. — DOI: 10.5588/ijtld.11.0493.
138. Yusupov M. M., Yusupova G. Z., Baucom A., Lieberman K., Earnest T. N., Cate J. H., Noller H. F. Crystal structure of the ribosome at 5.5 Å resolution // *Science*. — 2001. — Vol. 292, No. 5518. — P. 883–896. — DOI: 10.1126/science.1060089.
139. Zhang S., Chen J., Cui P., Shi W., Shi X., Niu H., Chan D., Yew W. W., Zhang W., Zhang Y. Mycobacterium tuberculosis mutations associated with reduced susceptibility to linezolid // *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. — 2016. — Vol. 60, No. 4. — P. 2542–2544. — DOI: 10.1128/AAC.02941-15.
140. Zhang Y., Yew W. W. Mechanisms of drug resistance in Mycobacterium tuberculosis: update 2015 // *International Journal of Tuberculosis and Lung Disease*. — 2015. — Vol. 19, No. 11. — P. 1276–1289. — DOI: 10.5588/ijtld.15.0389.
141. Zimenkov D. V., Nosova E. Y., Kulagina E. V., Antonova O. V., Arslanbaeva L. R., Isakova A. I., Krylova L. Y., Peretokina I. V., Makarova M. V., Safonova S. G., Borisov S. E., Gryadunov D. A. Examination of bedaquiline- and linezolid-resistant Mycobacterium tuberculosis isolates from the Moscow region // *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. — 2017. — Vol. 72, No. 7. — P. 1901–1906. — DOI: 10.1093/jac/dkx094.
142. Zwick E. D., Pepperell C. S. Tuberculosis sanatorium treatment at the advent of the chemotherapy era // *BMC Infectious Diseases*. — 2020. — Vol. 20, No. 1. — P. 831. — DOI: 10.1186/s12879-020-05539-w.