

Министерство образования и науки Республики Казахстан

НАЗАРБАЕВ УНИВЕРСИТЕТ

ЧАСТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ «ЦЕНТР НАУК О ЖИЗНИ»

УДК 613.62:304.3:622.33

№ госрегистрации 0111РК00442

Код МРНТИ: 76.29.53

Инв. №.

Утверждена  
решением Ученого Совета  
ЧУ «Центр наук о жизни»  
от «04» ноября 2013 года, № 6  
Председатель \_\_\_\_\_ Ж.Жумадилов

## ОТЧЕТ

### О НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОЙ РАБОТЕ

по теме

Картирование эко-социальных

и генетических факторов, определяющих восприимчивость к туберкулезу населения

Республики Казахстан

(промежуточный)

Заместитель Генерального

директора ЧУ «Центр наук о жизни»

\_\_\_\_\_ Т.С.Нургожин, д.м.н.  
подпись, дата

Руководитель темы

\_\_\_\_\_ А.М.Терликбаева, MSc  
подпись, дата

Астана - Алматы 2013

## СПИСОК ИСПОЛНИТЕЛЕЙ

Центр изучения глобального здоровья Центральной Азии

|                               |       |                                                     |
|-------------------------------|-------|-----------------------------------------------------|
| Руководитель темы, MSc        | _____ | А.М.Терликбаева<br>(введение, 1,2,3,6,8 заключение) |
| Зам.директора, MS, ЦИГЗЦА     | _____ | Б.С.Жусупов<br>(6,7,9,10)                           |
| Менеджер проекта, кмн, ЦИГЗЦА | _____ | М.А.Даришева<br>(2,3,6,8)                           |
| Координатор проекта, ЦИГЗЦА   | _____ | Д.Б.Бекишев<br>(3,8)                                |
| Координатор проекта, ЦИГЗЦА   | _____ | С.С.Кускулова<br>(3)                                |
| Координатор проекта, ЦИГЗЦА   | _____ | С.О. Омирбек<br>(3)                                 |
| Координатор проекта, ЦИГЗЦА   | _____ | Д.Б. Белькешева<br>(3)                              |
| IT специалист, ЦИГЗЦА         | _____ | П.И.Гуляев<br>(6, 7, 9,10)                          |

Центр наук о жизни Назарбаев Университета

|                             |       |                             |
|-----------------------------|-------|-----------------------------|
| Менеджер проекта от НУ, PhD | _____ | С.Е.Рахимова<br>(1, 5)      |
| Ученый секретарь, PhD       | _____ | К.Е.Берикханова<br>( 1, 5 ) |

Департамент геномной и персонализированной медицины ЧУ «Центр наук о жизни»

|                                   |       |                           |
|-----------------------------------|-------|---------------------------|
| Главный научный сотрудник, д.м.н. | _____ | А.Р.Акильжанова<br>(1, 5) |
| Ведущий научный сотрудник, PhD    | _____ | У.Е. Каиров<br>(1, 5)     |
| Старший научный сотрудник, PhD    | _____ | Д.А.Ережепов<br>(1, 5)    |
| Научный сотрудник, MS             | _____ | А. Асқапұлы<br>(5)        |
| Младший научный сотрудник         | _____ | Ж.М.Абилова<br>(5)        |
| Младший научный сотрудник,<br>MS  | _____ | А.Б.Молкенов<br>(5)       |
| Младший научный сотрудник         | _____ | М.К.Жабегин<br>(5)        |
| Ассистент- исследователя          | _____ | А.Т. Абилямажинова<br>(5) |

Национальный центр проблем туберкулеза МЗ РК

|                                                |       |                          |
|------------------------------------------------|-------|--------------------------|
| Директор НЦПТ МЗ РК,<br>д.м.н,профессор        | _____ | Т.Ш.Абилдаев<br>(1,4)    |
| Главный научный сотрудник<br>НЦПТ МЗ РК, д.м.н | _____ | Г.С.Бекембаева<br>(1, 4) |
| Руководитель ВНК №1<br>д.м.н., профессор       | _____ | А.Х.Аленова<br>(1, 4)    |

|                                                                                      |                  |
|--------------------------------------------------------------------------------------|------------------|
| зав. Национальной референс-бактериологической лаборатории НЦПТ МЗ РК, _____          | В.Л.Бисмилда     |
| к.б.н.                                                                               | (1, 4)           |
| врач-лаборант Национальной референс-бактериологической лаборатории НЦПТ МЗ РК, _____ | Л.Т.Чингисова    |
| к.м.н.                                                                               | (1, 4)           |
| ученый секретарь НЦПТ МЗ РК, _____                                                   | А.Т.Исмаилова    |
| к.м.н.                                                                               | (1, 4)           |
| Координатор по отчетности и информации<br>НЦПТ МЗ РК _____                           | Я.В.Бесстрашнова |
|                                                                                      | (1, 4)           |
| Инженер-программист<br>на Национальном Регистре _____                                | Р.Н. Абдуллаев   |
| ОМО НЦПТ МЗ РК                                                                       | (1, 4)           |
|                                                                                      |                  |
| Ассоциация фтизиатров РК                                                             |                  |
| Президент                                                                            |                  |
| д.м.н, профессор, академик _____                                                     | Т.А.Муминов      |
|                                                                                      | (1, 6)           |
| член ассоциации, д.м.н. _____                                                        | Б.Т.Жакипбаева   |
|                                                                                      | (1, 6)           |
| член ассоциации, доцент _____                                                        | Ш.А.Бейсембаева  |
|                                                                                      | (1, 6)           |

*Вклады партнеров, использованные материалы и выражение признательности:*

При составлении данного отчета Центр изучения глобального здоровья в Центральной Азии (ЦИГЗЦА) использовал материалы партнеров – участников выполнения данной НТП «Картирование эко-социальных и генетических факторов, определяющих восприимчивость к туберкулезу населения Республики Казахстан», а именно Национального Центра проблем туберкулеза Министерства здравоохранения Республики Казахстан, ОЮЛ Ассоциация фтизиатров Казахстана.

Центр изучения глобального здоровья Центральной Азии выражает признательность директору Национального центра проблем туберкулеза Министерства здравоохранения РК (НЦПТ МЗ РК), доктору медицинских наук, профессору Т.Ш.Абилдаеву, главному научному сотруднику НЦПТ МЗ РК, доктору медицинских наук Бекембаевой Г.С., главному научному сотруднику, доктору медицинских наук, профессору Аленовой А.Х., заведующей Национальной референс лаборатории (НРЛ), к.б.н. Бисмилде В.Л., врачам-бактериологам к.м.н. Игликовой Ш.К., к.м.н. Чингисовой Л.Т., ученому секретарю, к.м.н. Исмаиловой А.Т., ИТ специалисту Абдуллаеву Р. и другим сотрудникам НЦПТ МЗ РК.

В данном отчете были использованы статистические и эпидемиологические данные за 3 квартал 2013 г. по ТБ и МЛУ-ТБ, консультации специалистов НЦПТ по обучению дополнительного полевого штата исследовательским процедурам, запуску полевых исследований в Костанайской и Кызылординской областях, налаживанию рабочих контактов с региональными партнерами. Сотрудниками референс-лаборатории НЦПТ осуществлен контроль качества сбора и транспортировки культуры МБТ и выделение ДНК МБТ. ЦИГЗЦА выражает искреннюю признательность за сотрудничество и бесценный опыт, который НЦПТ и его руководство приносят в выполнение данной научно-технической программы.

ЦИГЗЦА выражает благодарность главному врачу Межрайонного противотуберкулезного диспансера г.Алматы Мукушеву Н.Р. за предоставление временного полевого офиса и помощь в организации исследования на базе МРПТД г.Алматы, заместителю главного врача Сапиевой Ж.А., заведующей бактериологической лаборатории Аубакировой М.Б.; главному врачу Областного туберкулезного диспансера г.Талдыкорган Сарсембаеву С.С., координатору по клинике Копбосыновой Д.Д., заведующей лаборатории Кусемисовой М.Ч. за формирование групп участников и сбор биоматериала в г.Алматы и Алматинской области.

Также выражаем благодарность главному врачу Костанайского ПТД Искакову И.С.,

заведующей организационно-методическим отделом Жабагиной Г.С., врачу-бактериологу Надаевой А.А., главному врачу Кызылординского ПТД Аблазим А.А., заместителю главного врача Сариевой У.М., заведующей организационно-методическим отделом Абишевой Б.К., врачу-бактериологу Курыкбаеву Г. и другим сотрудникам за помощь в формировании групп участников исследования в изучаемых регионах, предоставление клинической и лабораторной информации, обеспечение доступа к биоматериалам и его транспортировку в референс-лабораторию НЦПТ.

ЦИГЗЦА выражает свою признательность за плодотворное сотрудничество и вклад в коллективное выполнение данного проекта Ассоциацию фтизиатров РК. При участии президента Ассоциации фтизиатров РК, академика АН РК, доктора медицинских наук, профессора Муминова Т.А. и доктора медицинских наук Жакипбаевой Б.Т. и доцента Бейсембаевой Ш.А. осуществляется контроль качества сбора (венозная кровь) и транспортировки (венозная кровь, ДНК *M.tuberculosis*) в лабораторию геномики ЦНЖ, осуществлен анализ последних литературных данных по факторам риска определяющих восприимчивость к туберкулезу, подготовлены материалы для публикации.

ЦИГЗЦА также выражает особую признательность зарубежным участникам проекта, д-рам Нилу Шлугеру, Сандро Галеа, Барри Крейсвирту, Али Гарави, Винсету Эскуйеру и другим консультантам и экспертам, принимавшим участие и оказавшим содействие в выполнении данной научно-исследовательской работы.

## РЕФЕРАТ

Есеп 153 бет, 11 бөлім, 44 сурет, 20 кесте, 80 әдебиеттер тізімі, 4 қосымша.

Кілттік сөздер: ТУБЕРКУЛЕЗ, КДТБ-ТБ, ЭПИДЕМИОЛОГИЯ, ҚАУІП-ҚАТЕР ФАКТОРЛАРЫ, ҚАБЫЛДАҒЫШТЫҚ, ГЕНОТИП, ДНК, АНТИБИОТИКТЕРГЕ СЕЗІМТАЛДЫҒЫ, МУТАЦИЯ, ПОЛИМОРФИЗМДЕР, СЕКВЕНИРОВАНИЕ, MIRU-VNTR, ГЕОГРАФИЯЛЫҚ АҚПАРАТТЫҚ ЖҮЙЕЛЕР (ГАЗ), КАРТАҒА ТҮСІРУ, ЖОСПАРЛАУ.

Жұмыстың мақсаты – туберкулез инфекциясын қабылдағыштығын қалыптастырудағы генетикалық факторлардың және сыртқы ортаның (эко-әлеуеттік) рөліне, сонымен бірге клиникалық ағымға туберкулез микобактериясының фенотиптік және генотиптік ерекшелігінің ықпалына, туберкулездің эпидемиялық үдерісінің дамуына және аурудың шығуына баға беру.

Дизайн және тәсілдері: Жұмыста зерттеудің заманауи эпидемиологиялық және әлеуеттік тәсілдерінің кешені қолданылған: бірлескен сараптамалық бағалау, аналитикалық шолу, ретроспективтік эпидемиологиялық талдау, ақпараттық ізденіс, картаға түсіру, интервью алу, фокус-топтардың тәсілдері, зерттеудің жоспарланған көлемін орындауға мүмкіндік беретін статистикалық тәсілдер (Excel, SAS).

Зерттеудің нысаны жаңа жағдай өкпеде ТБ науқастары (индекс), сау байланысушылар (ішкі отбасылық бақылау) және сау байланыстағы еместер (сыртқы бақылау) болып табылады.

2013 жылғы негізгі нәтижелері:

Зерттеудің 1 міндетін орындау үшін, жалпы негізгі зерттеуге Алматы қаласы бойынша, Алматы облысы, Қостанай, Қызылорда облыстарында іріктеудің қырларына сәйкес 773 адам алынды. Датстатқа компьютерленген сауалнама енгізілді, қатысушының жеке тіркеу картасы (ЖТК) толтырылды, тамырдан алынған қан (754 үлгі) жиналып және Астана қаласындағы Назарбаев Университетінің Тыныс-тіршілік туралы Орталығына тасымалданды.

ТБ жаңа түрімен ауыратындардың ТМБ өскіндердің қосымша алу және ДНК банкін құру мақсатында зерттеу жүргізіліп жатқан 4 өңірде клиникалық-зертханалық ақпаратты және көбеюін жинау жалғасуда. 281 ТБ жаңа түрімен ауыратындардың ТМБ көбейтіндісі жиналды және ЖРК толтырылды. Осы қатысушылардың ТМБ көбейтіндісінің үлгілері өңірлік туберкулезге қарсы диспансерлерден ҚР ДСМ ТҚҚҰО референс зертханасына (Алматы қаласы) тасымалданды. ТҚҚҰО референс зертханасының қызметкерлерімен 281

ДНК МБТ бөлініп, әрі қарай Тыныс-тіршілік туралы Орталықтың геномика зертханасына (Астана қаласы) тасымалданды.

Зерттеудің дадалық фазасын іске асырудың бүкіл кезеңінде (маусым 2012- қазан 2013 жж) барлығы 4 өңірде 955 зерттеуге қатысушылар алынған, Датстатқа олардың компьютерленген сауалнамасы жүргізілді, ЖТК нысаны толтырылды, тамырдан алынған қанды (936 үлгі) және қолданыстағы МБТ өскін (55 үлгі) жинау іске асырылды. Барлығы зерттеудің қосалқы бөлшектер шеңберінде Қазақстанның зерттелуші өңірлерінде 325 ТБ жаңа түрімен жағдай түрімен ауыратындардан клиникалық-ақпараттық зертханалық ақпарат және *M.tuberculosis* өскіндері жиналды, соның ішінде Алматы қаласы (68); Алматы облысы (32); Қостанай облысы (111); Қызылорда облысы (114). Назарбаев Университеті Тыныс-тіршілік туралы Орталығының зертханасына (Астана қаласы) зерттелуші өңірлерден *M.tuberculosis* өскіндерінің 325 үлгілері жиналып, әрі қарай ТҚҚҰО ҰЗР генетикалық зерттеу үшін тасымалдау жүзеге асырылды. ТҚҚҰО ҰЗР 325 *M.tuberculosis* ДНК бөлінді.

Алматы қаласы және Алматы облысында когорт келешекте зерттеу үшін 6-және 12 айлық анкета дайындау іске асырылуда және фоллоу-ап басталды. 2012 жылғы және 2013 жылдың 1 тоқсанында зерттеуге алынған барлығы қатысушылардың 344 алты айлық және 141 он екі айлық интервью жүргізілді.

Орталық Азиядағы жаһандық денсаулықты зерттеу Орталығының (ОАҒДЗО) және Туберкулез проблемалары Ұлттық Орталығының (ТПҰО) қызметкерлерімен далалық зерттеуді бастау үшін Қостанай және Қызылорда облыстарына шығу, далалық кеңселерді жабдықтау және ұйымдастыру, қосымша қызметкерлерді жалдау жүзеге асырылды. Зерттеуге қатысушыларды іріктеуді ұлғайту және зерттеу үдерістері бар аудандық туберкулезге қарсы диспансерлерден фтизиатр дәрігерлермен танысу мақсатында «Recruitment process, field operations and ethics in the TB project» сертификатын алу арқылы екі біркүндік оқыту тренинг жүргізілді.

Алматы облысы бойынша зерттеу нәтижелерін талдау іске асырылды және импакт-факторы бар халықаралық журналға мақала дайындалды. Нәтижелері жоба сайтының «Деректер талдауы» бөліміне ұсынылды.

Зерттеудің 2 міндетін шешу үшін, есептік жылда күнтізбелік жоспарға сәйкес тамыр қанының 840 үлгісінен геномды ДНК бөлінді; туберкулезді генетикалық қабылдағыштығы бар гендік қалыптың полиморфизмдер бірлестігін зерттеу және изониазид және рифампицин- негізгі туберкулезге қарсы дәрі-дәрмектеріне тұрақтылығын



калыптастыратын *oxyR-ahpC* оперон, *fabG-inhA* промоторлық облыста, *groB*, *katG* гендердің нуклеотидтік тізбелерін анықтау мақсатында IL1(rs16944), TLR8(rs3764880) маркерлеріне SNP бойынша 182 үлгілерде аллельдік дискриминация жүргізілді; ағымдағы кезде MIRU-VNTR бойынша үлгілеу нәтижелеріне талдау жүргізілуде.

3 міндетті шешу үшін, есептік кезеңде эпидемиологиялық үдерістерді және оған әсер етуші факторларды көру үшін зерттеу барысында жиналған жеке және белгілі деректерді картаға түсіру бойынша жұмыстар жүргізілген. «Қатысушының жеке тіркеу картасы» бойынша бейінді өңірлерде деректерді беру бойынша интерактивтік карта түзіліп, жұмыс жасауда. Талдау үшін шетелдік және жергілікті серіктестіктерге қол жетімді жобаның <http://tbkzproject.org> веб-сайтын және деректер базасын ай сайын жаңарту іске асырылды. Ұлттық туберкулез бойынша деректердің ақпараттық жүйесін (ҰТДАЖ) құру жұмыстары жүргізілген. Бағдарламаның мақсаты қолданушы үшін қолайлы сызба және кесте түрінде географиялық облысы бар статистикалық деректерден тұрады. Бағдарлама эпидемиологиялық, демографиялық, әлеуметтік-экономикалық, экологиялық көрсеткіштер бойынша, сонымен бірге денсаулық сақтау ресурстары бойынша деректерді іріктеуден тұрады. Қазіргі таңда интернет арқылы деректерге рұқсаты бар online нұсқасын әзірлеу жұмыстары жүргізілуде.

ҚР патентке өтінімді кейін рәсімдеу үшін дәрілік-тұрақты туберкулездің және туберкулез дамуының қауіп-қатерін болжау тәсілдеріне патенттелген ақпаратқа талдау жүргізілді.

Туберкулез ауруын қысқа- және орташа мерзімге болжаудың және туберкулез профилактикасының басым бағыттары және туберкулезге қарсы емдеуге қажеттілігін анықтау үшін қауіп-қатердің ең маңызды факторларының әсері есебімен эпидемиологиялық үдерістер дамуының әдістемесі әзірленді (А қосымшасы).

Жыл сайынғы Американдық торакалды қауымдастық конференциясына Risk factors for tuberculosis in Kazakhstan: a case control study N. Schluger, A. Terlikbayeva, N.El-Bassel, M. Darisheva, Zh. Zhumadilov, B. Amirov постерлік баяндама дайындалды, Филадельфия, Пенсильвания, АҚШ, мамыр, 2013 ж.; Халықаралық ғылыми «Дербес медицина және жаһандық денсаулық» конференциясына Genetic, social, and behavioral risk factors for tuberculosis: Preliminary results from a matched case-control study in Kazakhstan ауызша баяндама жасалды, Астана, Қазақстан, қазан, 2013 ж.

«Қазақстандағы туберкулез және дәрілік тұрақтылығының диагностикасын жылдамдатудың заманауи молекулярлық-генетикалық технологиялар алғышарттары және құрылымы» әдістемелік нұсқаулық дайындалып, бекітілді (Б қосымшасы).

Мақала дайындалды *Pulmonary tuberculosis risk factors in Almaty, Kazakhstan* B. Zhussupov, S. Hermosilla, A. Terlikbayeva, A. Aifah, X. Ma, Z. Zhumadilov, T. Abildayev, M. Darisheva, K. Berikhanova, S. Galea, N. Schluger, N. El-Bassel. Республикалық ғылыми мерзімді басылымдарда 3 мақала жарияланды (В қосымшасы).

2013 жылғы күнтізбелік жоспарға сәйкес, зерттеудің жалпы көлемі орындалды.

## РЕФЕРАТ

Отчет 153 с., 11 ч., 44 рис., 20 табл., 80 источников, 4 прил.

Ключевые слова: ТУБЕРКУЛЕЗ, МЛУ-ТБ, ЭПИДЕМИОЛОГИЯ, ФАКТОРЫ РИСКА, ВОСПРИИМЧИВОСТЬ, ГЕНОТИП, ДНК, РЕЗИСТЕНТНОСТЬ К АНТИБИОТИКАМ, МУТАЦИЯ, ПОЛИМОРФИЗМЫ, СЕКВЕНИРОВАНИЕ, MIRU-VNTR, ГЕОГРАФИЧЕСКИЕ ИНФОРМАЦИОННЫЕ СИСТЕМЫ (ГИС), КАРТОГРАФИРОВАНИЕ, ПРОГНОЗИРОВАНИЕ.

*Цель работы* - Оценить роль внешне средовых (эко-социальных) и генетических факторов в формировании восприимчивости к туберкулезной инфекции, а также влияние фенотипических и генотипических свойств микобактерий туберкулеза на клиническое течение, исходы заболевания и развитие эпидемического процесса туберкулеза.

*Дизайн и методы:* В работе использован комплекс современных эпидемиологических и социологических методов исследования: соэкспертная оценка, аналитический обзор, ретроспективный эпидемиологический анализ, информационный поиск, картографирование, интервьюирование, прогнозирование, метод фокус-групп, статистические методы (Excel, SAS), позволяющих выполнить запланированный объем исследований.

Объектом исследования являются больные с впервые выявленным ТБ легких (индекс), здоровые контактные (внутрисемейный контроль) и здоровый неконтактный (внешний контроль).

Основные результаты за 2013 г.:

*Для решения задачи 1* исследования, в целом по г.Алматы, Алматинской, Костанайской, Кызылординской областях в основное исследование набрано 773 человек соответствующих критериям отбора. Осуществлен компьютеризированный опрос в Датстат, заполнение индивидуальной регистрационной карты (ИРК) участника, сбор и транспортировка венозной крови (754 образца) и ДНК *M.tuberculosis* (37 образцов) в ЦНЖ НУ, в г.Астана.

С целью дополнительного набора культуры МБТ больных новыми случаями ТБ и создания банка ДНК продолжен сбор культуры и клинико-лабораторной информации в 4-изучаемых регионах. Заполнены ИРК и собрана культура МБТ 281 больных новыми случаями ТБ. Образцы культуры МБТ данных участников транспортированы из региональных противотуберкулезных диспансеров в референс лабораторию НЦПТ МЗ РК

(г.Алматы). Сотрудниками референс лаборатории НЦПТ выделено 281 ДНК МБТ, которые в дальнейшем были транспортированы в лабораторию геномики ЦНЖ (г.Астана).

Всего за весь период реализации полевой фазы исследования (июнь 2012- октябрь 2013 гг) рекрутировано 955 участников исследования в 4-х регионах, проведен их компьютеризированный опрос в Датстат, заполнена форма ИРК, осуществлен сбор венозной крови (936 образцов) и существующая культура МБТ (55 образцов). Всего в рамках субкомпонента исследования осуществлен сбор клинико-лабораторной информации и культуры *M.tuberculosis* 325-х больных новыми случаями ТБ в изучаемых регионах Казахстана, из них г.Алматы (68); Алматинской области (32); Костанайской области (111); Кызылординской области (114). Осуществлен сбор и транспортировка 325 образцов культуры *M.tuberculosis* в НРЛ НЦПТ (г.Алматы), где были выделены ДНК. Все образцы ДНК *M.tuberculosis* транспортированы в лабораторию геномики ЦНЖ НУ (г.Астана) для дальнейших генетических исследований.

Для проспективного исследования когорты в г. Алматы и Алматинской области осуществлена подготовка 6- и 12-месячной анкеты и начаты фоллоу-апы. Всего проведено 344 шестимесечных и 141 двенадцатимесечных интервью участников, рекрутированных в исследование в 2012 г. и в I квартале 2013 г..

Сотрудниками Центра изучения глобального здоровья в Центральной Азии (ЦИГЗЦА) и Национального центра проблем туберкулеза (НЦПТ) осуществлены выезды в Костанайскую и Кызылординскую области для запуска полевых исследований, организации и оборудования полевых офисов, найма дополнительных сотрудников. С целью расширения набора участников исследования и ознакомления врачей фтизиатров из районных противотуберкулезных диспансеров с исследовательскими процедурами проведено два однодневных обучающих тренинга с получением сертификата «Recruitment process, field operations and ethics in the TB project».

Осуществлен анализ результатов исследования по Алматинской области и подготовлена статья в международный журнал с импакт-фактором. Результаты представлены на сайте проекта в разделе «Анализ данных».

*Для решения задачи 2 исследования* Согласно календарному плану за отчетный период выделена геномная ДНК из 840 образцов венозной крови; проведена аллельная дискриминация у 182 образцов по SNP маркерам IL1(rs16944), TLR8(rs3764880) с целью исследования ассоциации полиморфизмов в генах-кандидатах с генетической восприимчивостью к туберкулезу и определения наиболее значимых полиморфизмов;

амплифицированы и определены нуклеотидные последовательности генов *rpoB*, *katG*, промоторной области *fabG-inhA*, *oxyR-ahpC* оперона, обуславливающих устойчивость к основным противотуберкулезным препаратам - изониазиду и рифампицину; на текущий момент проводится анализ результатов типирования по MIRU-VNTR.

Для решения задачи 3, за отчетный период проведена работа по картированию индивидуальных и популяционных данных, собранных в ходе исследования для визуализации эпидемиологического процесса и факторов, влияющих на него. Создана и функционирует интерактивная карта по представлению сбора данных в пилотных областях по «Индивидуальной регистрационной карте участника». Осуществлены ежемесячные обновления баз данных и веб-сайта проекта <http://tbkzproject.org>, с выделенным доступом зарубежных и местных партнеров для анализа. Проведена работа по созданию Национальной информационной системы данных по туберкулезу (НИСТ). Цель программы состоит в представлении статистических данных, сопряженных с географической областью в удобной для пользователя, графической и табличной форме. Программа содержит набор данных по эпидемиологическим, демографическим, социально-экономическим, экологическим показателям, а также данным по ресурсам здравоохранения. В настоящее время ведется работа по разработке online версии с доступом данных через интернет.

Проведен анализ патентной информации на способ прогнозирования риска развития туберкулеза и лекарственно-устойчивого туберкулеза для последующего оформления заявки на патент РК.

Разработана методика кратко- и среднесрочного прогнозирования заболеваемости туберкулезом и развития эпидемического процесса с учетом влияния наиболее значимых факторов риска для определения потребности в противотуберкулезном лечении и приоритетных направлений профилактики туберкулеза (приложение А).

Подготовлен постерный доклад Risk factors for tuberculosis in Kazakhstan: a case control study N. Schluger, A. Terlikbayeva, N.El-Bassel, M. Darisheva, Zh. Zhumadilov, B. Amirov на Ежегодной конференции Американского торакального сообщества, Филадельфия, Пенсильвания, США, май, 2013; устный доклад Genetic, social, and behavioral risk factors for tuberculosis: Preliminary results from a matched case-control study in Kazakhstan на Международной научной конференции «Персонализированная медицина и глобальное здоровье», Астана, Казахстан, октябрь, 2013 г.

Подготовлены и утверждены методические рекомендации «Структура и алгоритмы новейших молекулярно-генетических технологий экспресс диагностики туберкулеза и лекарственной устойчивости в Казахстане» (приложение Б).

Подготовлена статья и подана в международный журнал с импакт-фактором *Pulmonary tuberculosis risk factors in Almaty, Kazakhstan* B. Zhussupov, S. Hermosilla, A. Terlikbayeva, A. Aifah, X. Ma, Z. Zhumadilov, T. Abildayev, M. Darisheva, K. Berikhanova, S. Galea, N. Schluger, N. El-Bassel (*under review*). Опубликовано 3 статьи в республиканских научных периодических изданиях (приложение В).

Таким образом, в целом объем исследований согласно календарному плану за 2013 г. выполнен.

## СОДЕРЖАНИЕ

|                                                                                                                                                                                                  |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| ВВЕДЕНИЕ .....                                                                                                                                                                                   | 22 |
| 1 СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ СИСТЕМЫ ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОГО НАДЗОРА НА<br>ОСНОВЕ КОМПЛЕКСНОГО ИЗУЧЕНИЯ ФАКТОРОВ ПОВЫШАЮЩИХ<br>ВОСПРИИМЧИВОСТЬ К ТУБЕРКУЛЕЗНОЙ ИНФЕКЦИИ НАСЕЛЕНИЯ (ОБЗОР<br>ЛИТЕРАТУРЫ) ..... | 27 |
| 1.1 Динамика основных эпидемиологических показателей по туберкулезу в Республике<br>Казахстан .....                                                                                              | 27 |
| 1.2 Внешние и эндогенные факторы риска развития туберкулеза и мультирезистентного<br>туберкулеза и их влияние на эпидемический процесс.....                                                      | 31 |
| 1.3 Генетические механизмы в развитии лекарственно-устойчивых форм туберкулеза ...                                                                                                               | 33 |
| 2 ДИЗАЙН, МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ .....                                                                                                                                                  | 39 |
| 2.1 Дизайн исследования .....                                                                                                                                                                    | 39 |
| 2.2 Молекулярно-генетические методы исследования .....                                                                                                                                           | 44 |
| 2.3. Субкомпонент исследования .....                                                                                                                                                             | 46 |
| 2.4 Программа исследования.....                                                                                                                                                                  | 47 |
| 2.5 Методы анализа данных применяемые в исследованиях случай-контроль .....                                                                                                                      | 50 |
| 3 РЕЗУЛЬТАТЫ РЕАЛИЗАЦИИ ПОЛЕВЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ В ИЗУЧАЕМЫХ<br>РЕГИОНАХ КАЗАХСТАНА.....                                                                                                             | 54 |
| 3.1 Общие количественные результаты выполненных полевых исследований.....                                                                                                                        | 54 |
| 3.2 Набор участников исследования в г.Алматы и Алматинской области .....                                                                                                                         | 57 |
| 3.3 Реализация проспективного когортного исследования в г.Алматы и Алматинской<br>области.....                                                                                                   | 59 |
| 3.4 Организация полевых работ и формирование групп участников исследования в<br>Костанайской области .....                                                                                       | 61 |
| 3.5 Организация полевых работ и формирование групп участников исследования в<br>Кызылординской области .....                                                                                     | 64 |
| 3.6 Сбор и транспортировка биобразцов (венозной крови) .....                                                                                                                                     | 66 |

|                                                                                                                                                                                                 |     |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 3.7 Безопасность исследователей .....                                                                                                                                                           | 67  |
| 3.8 Реализация субкомпонента исследования в изучаемых областях .....                                                                                                                            | 67  |
| 4 КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА, ВЫДЕЛЕНИЕ И ТРАНСПОРТИРОВКА ДНК<br>M.TUBERCULOSIS .....                                                                                                                    | 69  |
| 5 РЕЗУЛЬТАТЫ РЕАЛИЗАЦИИ ГЕНЕТИЧЕСКОГО КОМПОНЕНТА ИССЛЕДОВАНИЯ<br>И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ .....                                                                                                          | 73  |
| 6 Комплексное изучение факторов индивидуального риска развития туберкулеза (на<br>основании базового интервью в Алматинской области) .....                                                      | 83  |
| 7 ОБОСНОВАНИЕ МЕТОДИКИ КРАТКО- И СРЕДНЕСРОЧНОГО<br>ПРОГНОЗИРОВАНИЯ ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ ТУБЕРКУЛЕЗОМ И РАЗВИТИЯ<br>ЭПИДЕМИЧЕСКОГО ПРОЦЕССА С УЧЕТОМ ВЛИЯНИЯ НАИБОЛЕЕ ЗНАЧИМЫХ<br>ФАКТОРОВ РИСКА ..... | 99  |
| 8 ОБУЧЕНИЕ ДОПОЛНИТЕЛЬНОГО ПОЛЕВОГО ШТАТА (ИСПОЛНИТЕЛЕЙ<br>ПРОЕКТА) ИЗ КЫЗЫЛОРДИНСКОЙ И КОСТАНАЙСКОЙ ОБЛАСТЕЙ<br>ПРОТОКОЛАМ, ПРОЦЕДУРАМ И ЭТИЧЕСКИМ АСПЕКТАМ ИССЛЕДОВАНИЯ...                    | 109 |
| 9 КАРТОГРАФИРОВАНИЕ ИНДИВИДУАЛЬНЫХ И ПОПУЛЯЦИОННЫХ ДАННЫХ<br>СОБРАННЫХ В ХОДЕ ИССЛЕДОВАНИЯ.....                                                                                                 | 112 |
| 10 РАЗРАБОТКА НАЦИОНАЛЬНОЙ ИНТЕРАКТИВНОЙ ИНФОРМАЦИОННОЙ<br>СИСТЕМЫ ПО ТБ.....                                                                                                                   | 116 |
| 11 НАКОПЛЕНИЕ И УПРАВЛЕНИЕ ДАННЫМИ ПРОЕКТА .....                                                                                                                                                | 128 |
| ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....                                                                                                                                                                                 | 138 |
| СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ .....                                                                                                                                                          | 142 |
| ПРИЛОЖЕНИЕ А.....                                                                                                                                                                               | 150 |



## ОПРЕДЕЛЕНИЯ

В настоящем отчете применяются следующие термины с соответствующими определениями:

*Устойчивость штаммов комплекса M. Tuberculosis* - Согласно методу пропорций, устойчивость штамма *M. tuberculosis* отличается от понятия устойчивости, обычно используемого в клинической микробиологии. При использовании метода пропорций высчитывается доля устойчивых бацилл в штамме. Если она ниже определенной пропорции, штамм относится к чувствительным, если выше – к устойчивым. Предполагается, что штамм устойчив, когда на питательной среде, содержащей определенную концентрацию (критическую концентрацию) лекарственного препарата, отмечается рост инокулята в пропорции, превышающей определенную величину (критической пропорции).

*Туберкулез* – инфекционное заболевание, вызываемое микобактериями туберкулёза, характеризующееся образованием патологических изменений в любых тканях, главным образом в легких.

*Вновь выявленный случай (новый случай)* – больной туберкулезом, никогда ранее не принимавший противотуберкулезные препараты или принимавший их менее одного месяца.

*Легочный туберкулез с положительным результатом микроскопии мокроты* (бактериовыделитель) больной, у которого:

при микроскопии мокроты до проведения лечения не менее чем двукратно обнаружены МБТ;

при микроскопии мокроты однократно обнаружены МБТ и при рентгенологическом исследовании выявлены патологические изменения, соответствующие по заключению врача активному туберкулезу легких.

*Бактериовыделение* – наличие микобактерий туберкулеза в мокроте методом бактериоскопии мазка и посевом.

*Бактериоскопия* – лабораторная методика обнаружения микобактерий туберкулёза под микроскопом.

*Туберкулез с сохраненной лекарственной чувствительностью* – сохранена чувствительность ко всем противотуберкулезным препаратам;

*Легочный туберкулез* – заболевание, при котором в патологический процесс

вовлечена паренхима легкого.

*ЛУ первичная* – лекарственная устойчивость (ЛУ) штаммов микобактерий туберкулеза (МБТ), выделенных у больных никогда ранее не лечившихся противотуберкулезными препаратами или принимавшими препараты не более 1 месяца

*ЛУ приобретенная* – ЛУ штаммов МБТ, выделенных у больных на фоне противотуберкулезной терапии, проводимой в течение месяца и более

*МЛУ* – множественная лекарственная устойчивость, устойчивость одновременно к рифампицину и изониазиду

*Фенотип* – совокупность всех признаков особи, формирующаяся в процессе взаимодействия ее генотипа и внешней среды.

*Хромосома* – структура, основу которой составляет конденсированная молекула ДНК; носитель генетической информации.

*Аллель* – одна из двух (или нескольких) альтернативных структурных форм гена.

*Аминокислота* – мономерная единица («строительный белок») белковых молекул.

*Ген* – транскрибируемый участок хромосомы, кодирующий функциональный белок либо тРНК или рРНК.

*Генетический полиморфизм* – наличие двух или более аллельных форм отдельных генов.

*Генотип* – генетическая конструкция организма, набор всех его аллелей.

*Дезоксирибонуклеиновая кислота, ДНК* – полимер, состоящий из дезоксирибонуклеотидов; видоспецифичный носитель генетической информации.

*Локус* – место в хромосоме, где находится специфический ген.

*Мутация* – стойкое (то есть такое, которое может быть унаследовано потомками данной клетки или организма) изменение генотипа, происходящее под влиянием внешней или внутренней среды.

*Полимеразная цепная реакция* – метод амплификации фрагментов нуклеиновых кислот *in vitro*.

*Секвенирование* – определение первичной структуры ДНК, т.е. последовательности расположения нуклеотидных остатков в полинуклеотидной цепи ДНК.

## ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ

ТБ: туберкулез

МЛУ ТБ: туберкулез с множественной лекарственной устойчивостью

ЛУ: лекарственная устойчивость

МБТ: микобактерия туберкулеза

РК: Республика Казахстан

БСМ: бактериоскопия мазка

МБТ+: бактериовыделение

МБТ-: без бактериовыделения

ВОЗ: Всемирная организация здравоохранения

ПТП: противотуберкулезные препараты

ПТО: противотуберкулезные организации

ТЛЧ: тестирование на лекарственную чувствительность

ИК: инфекционный контроль

Н: изониазид

Р: рифампицин

ЦНЖ НУ: Центр наук о жизни Назарбаев Университета

НЦПТ: Национальный центр проблем туберкулеза

МЗ РК: Министерство Здравоохранения Республики Казахстан

АФ: Ассоциация фтизиатров

КУ: Колумбийский университет

ЦИГЗЦА: Центр изучения глобального здоровья в Центральной Азии

ПТД: Противотуберкулезный диспансер

МРПТД: Межрайонный противотуберкулезный диспансер

ОПТД: Областной противотуберкулезный диспансер

ПМСП: Первичная медико-санитарная помощь

ГФСТМ: Глобальный фонд по борьбе со СПИДом, туберкулезом и малярией

ВИЧ/СПИД: вирус иммунодефицита человека/ Синдром Приобретённого иммунодефицита

ПИН: персональный идентификационный номер

ДНК: дезоксирибонуклеиновая кислота

ЭК: этический комитет

НПП: Национальная противотуберкулезная программа

ГИС: географические информационные системы

МЭ: молекулярная эпидемиология

VNTR: (англ. Variable number of tandem repeats) – переменное число тандемных повторов

DR: (англ. Direct repeat) – короткие прямые повторы

ETR: (англ. exact tandem repeats) – точные тандемные повторы

IS6110: (англ. Insertion sequences) - инсерционная последовательность IS6110

MIRUs: (англ. mycobacterial interspread repeated units) – микобактериальные рассеянные повторяющиеся единицы

RFLP \ПДРФ: (англ. restriction fragment length polymorphism) – полиморфизм длин Фрагментов рестрикции

DOTS: (англ. Directly Observed Treatment, Short-course) —лечение под непосредственным контролем коротким курсом.

ПЦР – полимеразно-цепная реакция

НИР: научно-исследовательская работа

MeSH: медицинские предметные рубрики

KNCV: Представительство Королевского нидерландского центрального объединения

дНТФ - дезоксирибонуклеозидтрифосфаты

H37Rv – музейный чувствительный штамм микобактерий туберкулеза

OR- odds ratio

SNP - single nucleotide polymorphism – единичный нуклеотидный полиморфизм

TLR2- толл-подобные рецепторы

VDR - рецептор к витамину Д

XDR TB – Extensively Drug-Resistant Tuberculosis – широкая лекарственная устойчивость

OTIS -Online Tuberculosis Information System - Интерактивная информационная система по туберкулезу

НИСТ - Национальная информационная система по Туберкулезу

DPS - (Data Presentation System)- Система представления данных

ВКО – Восточно-Казахстанская область

ЮКО – Южно-Казахстанская область

ГБ – государственный бюджет

СОП – стандартные операционные процедуры

ИМТ – индекс массы тела

## ВВЕДЕНИЕ

### *Актуальность*

По официальным данным ВОЗ в 2012 году было зарегистрировано 8,6 миллиона случаев заболевания туберкулезом и 1,3 миллиона случаев смерти от ТБ и еще 320 000 случаев смерти от ВИЧ-ассоциированного туберкулеза. Число случаев смерти от туберкулеза продолжает оставаться недопустимо высоким, учитывая, что большинство из них предотвратимы и затрагивают, главным образом молодых людей в наиболее производительном возрасте [1].

Казахстан занимает лидирующее положение по регистрируемой заболеваемости туберкулезом и входит в число приоритетных стран по туберкулезу Европейского региона ВОЗ. Кроме того, тревожной тенденцией последних лет является распространение туберкулеза с множественной лекарственной устойчивостью (ТБ МЛУ) [2].

В Казахстане борьба с туберкулезом является приоритетным направлением и ее особая актуальность обусловлена политической поддержкой Главы Государства и Правительства Республики Казахстан. Национальная противотуберкулезная программа (НПП) осуществляется на государственном уровне и интегрирована в национальную систему здравоохранения. Основной целью контроля над туберкулезом в РК является снижение распространения инфекции путем своевременного выявления больных туберкулезом, выделяющих микобактерии туберкулеза (МБТ) и качественное лечение больных всеми формами туберкулеза [3].

Так, заболеваемость туберкулезом в 2011 году составила 86,8 на 100000 человек, по сравнению с аналогичным показателем 2008 года - 125,5 случаев на 100000 человек, а уровень смертности составил в 2011 г. - 8,1 на 100000 населения и в 2008 г. - 16,9 на 100000 населения. Заболеваемость туберкулезом с МЛУ увеличилась с 1,7 до 8,5 на 100000 человек в период между 2003 и 2011 гг.. При этом, первичная множественная лекарственная устойчивость была зарегистрирована в 21,3% новых случаев заболевания и приобретенная множественная лекарственная устойчивость – 39,0 % случаев рецидивирующего туберкулеза. Таким образом, высокий уровень заболеваемости и смертности и постоянно растущая заболеваемость МЛУ ТБ затрудняет, ставит под сомнение эти достижения и является препятствием для эффективного контроля [4].

С угрожающим повышением заболеваемости МЛУ ТБ в течение последних двух десятилетий вырос интерес к социальным, экономическим и экологическим

детерминантам ТБ. [5]. Большое внимание уделяется роли генетических факторов патогенеза туберкулеза, главным образом в отношении врожденного и адаптивного иммунного ответа и их комплексного взаимодействия [6].

Понимание связи между показателями заболеваемости ТБ и МЛУ ТБ, различий в географическом распределении туберкулезной инфекции, определения генетических механизмов развития заболевания во взаимосвязи с социально-экономическим статусом, образом жизни будет иметь решающее значение для снижения распространения инфекции и резистентных штаммов.

В этой связи, актуально изучение популяции здоровых и больных людей, отличающихся по вероятности возникновения заболевания и способности реагировать на те или иные виды терапии, что даст доказательную базу для использования подходов персонализированной медицины с целью раннего выявления и повышения эффективности лечения. Прогнозирование, основанное на использовании молекулярно-генетических методов, изучении характеристик конкретного пациента даст возможность определить предрасположенность к туберкулезу, возможное клиническое течение и тяжесть инфекции. Системный подход к анализу факторов влияния, характеристик процесса эпидемии позволит обосновать и предложить мероприятия по усовершенствованию системы эпидемиологического контроля и разработать эффективную стратегию борьбы с туберкулезом в Республике Казахстан.

*Цель исследования:* Оценить роль внешне средовых (эко-социальных) и генетических факторов в формировании восприимчивости к туберкулезной инфекции, а также влияние фенотипических и генотипических свойств микобактерий туберкулеза на клиническое течение, исходы заболевания и развитие эпидемического процесса туберкулеза.

*Задачи исследования:*

1. Изучить внешне средовые (социально-экономические, экологические) и внутренние (сопутствующие заболевания, состояние питания, иммунный статус и др.) факторы индивидуального и популяционного риска заражения и развития туберкулеза путем проведения компьютеризированного анкетирования среди 1800 субъектов исследования.

2. Оценить генетические факторы риска развития туберкулеза, его отдельных клинических форм и признаков, в том числе посредством: а) изучения полиморфизма генов SLC11A1, VDR, MBL, NOS2A, IL1B, ILRA, IL12B, IL1RN и др. б) установления дискриминирующей способности различных MIRU-VNTR-локусов для субтипирования штаммов МБТ доминирующего генотипа (Beijing) и разработкой предложений по оптимальному набору локусов для их эффективного типирования, провести молекулярно-эпидемиологический анализ штаммов *M.tuberculosis* и оценить влияние штаммов различных генотипов МБТ на развитие различных клинических форм туберкулеза, тяжесть и исходы заболевания, проявления эпидемического процесса, связь генотипа с лекарственной устойчивостью возбудителя и изучить биологические свойства, включая лекарственную устойчивость, штаммов МБТ, выделенных от обследуемых больных ТБ и оценить их популяционную вариабельность в трех изучаемых регионах.

3. Провести *многофакторный анализ* и математическое моделирование тенденций развития эпидемического процесса туберкулезной инфекции с использованием социально-экономических, экологических и генетических факторов риска и обосновать группы населения с высоким риском заболевания.

4. Разработать комплексную программу эффективного, своевременного выявления больных туберкулезом (критерии ранней диагностики), определить приоритетные направления профилактических, лечебных и противоэпидемических мероприятий, социальной профилактики, совершенствования эпидемиологического надзора и контроля данной инфекции в Казахстане.

*Практические задачи:*

1) Внедрить молекулярно-генетический мониторинг для изучения популяционной вариабельности штаммов МБТ и планирования контрольных и профилактических мероприятий

2) Создать интерактивную базу данных по аналогу международной системы OTIS (CDC) с учетом данных картографирования

3) Разработать методику кратко- и долгосрочного прогнозирования развития туберкулеза и мульти резистентного туберкулеза.

*Задачи на 2013 г:*

- Сформировать группы исследования с набором участников (больных и здоровых лиц) в изучаемых регионах.



- Осуществить сбор биоматериала (кровь, культура МБТ) для генетических исследований.
- Провести картографирование данных собранных в ходе исследования для визуализации эпидемиологического процесса и факторов, влияющих на него.
- Изучить социально-экономические, экологические и генетические факторы индивидуального и популяционного риска заражения и развития туберкулеза.
- Разработать методику кратко- и среднесрочного прогнозирования заболеваемости туберкулезом и развития эпидемиологического процесса с учетом влияния наиболее значимых факторов риска.

*Научная новизна и теоретическая значимость исследования:*

Впервые в Казахстане с использованием международных стандартов к методологии научных исследований будет проведено комплексное изучение экологических, социально-экономических, поведенческих, генетических факторов индивидуального и популяционного риска заражения и развития туберкулеза, на основании чего будут предложены прогностические признаки, наиболее рациональные подходы к ранней диагностике, профилактике и контролю.

Впервые будет дана комплексная оценка генетических факторов предрасположенности населения РК к заболеванию туберкулезом, его отдельными формами, определены факторы наибольшего риска заражения и развития заболевания, его клинического течения и исходов в современных условиях, на основании чего будут предложены прогностические признаки, наиболее рациональные подходы к ранней диагностике.

Изучение популяционной вариабельности микобактерий туберкулеза важно для развития фундаментальных основ медицинской микробиологии и генетики. Будет дана оценка клинического и эпидемического значения различных генотипов микобактерий, циркулирующих на территории Казахстана. Будет оценена дискриминирующая способность различных MIRU-VNTR-локусов для субтипирования штаммов МБТ доминирующих генотипов, циркулирующих на территории РК.

Впервые будет проведено сравнительное исследование больных туберкулезом для изучения их генетической предрасположенности к этому заболеванию.

Впервые в Казахстане будут использованы современные информационные технологии в биомедицинских и эпидемиологических исследованиях, что позволит

оценить геопространственное распределение и распространение инфекции, выявить очаги наибольшей концентрации и визуализировать эпидемиологический процесс, а также основные факторы, влияющие на него.

*Практическая значимость:*

Применение методологии комплексного подхода для анализа эпидемиологии туберкулеза позволит объективно оценить эпидситуацию, роль генетических и эко-социальных факторов риска развития ТБ и МЛУ ТБ в Казахстане на современном этапе, и определить приоритетные направления эпидемиологического надзора и контроля, предложить меры по оптимизации профилактики среди отдельных социальных групп.

Будет создана математическая модель кратко- и среднесрочного прогнозирования уровня заболеваемости и развития эпидемического процесса туберкулезной инфекции, учитывающая влияние наиболее значимых эко-социальных и *генетических* факторов подверженности к заболеванию, что позволит рационализировать планирование профилактических, лечебных и противоэпидемических мероприятий.

Будут предложены наборы MIRU-VNTR–локусов для эффективной дифференциации штаммов МБТ доминирующих генотипов, что позволит повысить эффективность диагностики и информативность молекулярных исследований при туберкулезе.

Выявленные ассоциации полиморфных вариантов генов-кандидатов подверженности к туберкулезу позволят прогнозировать риск развития заболевания на индивидуальном уровне.

Будет проведена комплексная оценка системы эпидемиологического надзора и мониторинга за ТБ и МЛУ ТБ в Казахстане, с использованием молекулярно-генетических методов, что позволит в будущем внедрить компонент молекулярно-генетического мониторинга в систему эпидемиологического надзора за ТБ инфекцией в Казахстане

Впервые будут использованы современные ГИС-технологии для геокартирования распространенности ТБ и МЛУ ТБ и дальнейшего совершенствования системы эпидемиологического надзора и контроля над инфекцией.

## ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

В предыдущих обзорах представлен анализ литературы, посвященный факторам, определяющим повышенный риск развития туберкулеза и лекарственной устойчивости, внедрению молекулярно-генетического мониторинга для изучения вариабельности штаммов МБТ, использованию современных ГИС-технологий во фтизиатрии. Настоящий обзор является логическим продолжением обзора литературных данных, представленных нами в предшествующих отчетах по выполняемой научно-исследовательской работе, с дополнением информации появившейся в литературе за прошедший период. В данной главе, мы остановимся на анализе текущей эпидемиологической ситуации в Казахстане за 9 месяцев 2013 года, связи различных социально-демографических, экономических, экологических и генетических факторов с заболеваемостью туберкулезом и лекарственно-устойчивым туберкулезом.

1 Совершенствование системы эпидемиологического надзора на основе комплексного изучения факторов повышающих восприимчивость к туберкулезной инфекции населения (обзор литературы)

1.1 Динамика основных эпидемиологических показателей по туберкулезу в Республике Казахстан

В республике продолжается динамичное осуществление мероприятий, направленных на снижение бремени туберкулеза и туберкулеза с множественной и широкой лекарственной устойчивостью (МЛУ/ШЛУ ТБ).

С целью усиления и эффективности Национальной Программы борьбы с туберкулезом, разработан проект Комплексного Плана борьбы с туберкулезом в Республике Казахстан на 2014-2020 г.г. Цели и задачи проекта Комплексного Плана борьбы с туберкулезом в Республике Казахстан на 2014-2020 г.г. согласуются с целями и задачами Глобального плана ВОЗ «Остановить туберкулез» на 2011-2015гг.

### Заболеваемость ТБ

По итогам 9 месяцев 2013г. отмечается снижение основных показателей, характеризующих степень эпидемиологической ситуации по туберкулезу, а именно показатель заболеваемости по стране снизился на 9,4% сравнительные данные с 2010г. заболеваемости эпидемиологической ситуации и мероприятий, направленных на снижение

бремени туберкулеза и составил 76,1 против 84,0 за аналогичный период 2012г. на 100 тыс. населения (экстраполированный показатель). Снижение показателя заболеваемости отмечается во всех областях [7].

Вместе с тем, показатель заболеваемости, превышающий в 1,3-1,1 раза республиканский уровень–76,1, отмечается в Атырауской-98,9; Костанайской-98,9; Кызылординской- 95,7; Акмолинской-94,0; Восточно-Казахстанской-91,5; Северо-Казахстанской- 89,7, Павлодарская-81,9 областях и в г. Астане – 83,5 на 100 тыс. населения.

Основными причинами высокого уровня заболеваемости в указанных регионах остаются недостаточная система инфекционного контроля в ПТО, сохраняющийся резервуар больных с хроническими резистентными формами туберкулеза, значительный уровень первичной МЛУ ТБ, недостаточное выявление туберкулеза на уровне сети ПМСП методом микроскопии, недостаточное взаимодействие с санитарно-эпидемиологической службой по проведению комплекса мероприятий в очагах туберкулезной инфекции.

#### **Заболеваемость МЛУ ТБ**

Казахстан относится к 24 странам Европейского региона с высоким уровнем распространенности туберкулеза с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ ТБ). Так, уровень первичной множественной лекарственной устойчивости в 2012г. составил 20,8%, а приобретенной – 53,6% (в 2011г. соответственно - 19,3% и 53,3%). Наряду с этим, высокий показатель первичной множественной лекарственной устойчивости, превышающий в 1,3-1,5 раза республиканский уровень (20,8%), отмечается в г. Алматы-27,9%, Восточно-Казахстанской-30,0% и Актыбинской-31% областях; показатель приобретенной: в Восточно-Казахстанской составляет 59,4%, Карагандинской–59,1%, Северо–Казахстанской – 66,9% областях и в г. Алматы–78,8%.

В связи с внедрением новой инновационной лабораторной технологии диагностики туберкулеза и МЛУ ТБ по стране, заболеваемость МЛУ ТБ по итогам 9 месяцев 2013года выросла на 11,5% и составила 8,7 против 7,8 за аналогичный период 2012года на 100 тыс. населения.

#### ***Смертность от ТБ***

В республике отмечается стойкая тенденция к снижению показателя смертности от туберкулеза. Сравнительный анализ показателя смертности от туберкулеза по стране по

итогах 9 месяцев 2013г. свидетельствует о его снижении. Так, показатель в целом по РК на 100 тыс. населения снизился на 24,1% и составил 5,5 против 7,2 за аналогичный период 2012г. Наибольший удельный вес умерших составили больные с резистентной формой туберкулеза- 56,6%. Однако, по сравнению с республиканскими данными -5,5, показатель выше в Восточно-Казахстанской-10,4; Карагандинской - 7,9; Костанайской- 7,1; Павлодарской - 7,3 и Северо-Казахстанской-6,3 области на 100 тыс. населения. Основными причинами смертности являются: дислокация на территории областей учреждений пенитенциарной системы; наличие у больных сопутствующего хронического алкоголизма и наркомании; социальные условия; серьезная сопутствующая патология; непереносимость противотуберкулезных препаратов.

*Молекулярно-генетические методы в диагностике туберкулеза с множественной лекарственной устойчивостью в Казахстане*

На сегодняшний день, Казахстан является одной из немногих стран в Европейском регионе, где во всех областных, городских и региональных бактериологических лабораториях при противотуберкулезных диспансерах внедрены передовые лабораторные технологии по ускоренной диагностике туберкулеза и МЛУ ТБ: ВАСТЕС MGIT-960, Hain-test и GeneXpert. Последний метод внедрен с июля 2012г. в 4 пилотных областях, в 2013г закуплено ГФСТМ 8 раунда 9 аппаратов GeneXpert для 9 регионов (Атырауская, ВКО (г. Семей), Жамбылская, Карагандинская, Костанайская, Мангистауская, Павлодарская, ЮКО, г. Астана)). В настоящее время в 13 бактериологических лабораториях действуют аппараты GeneXpert. В 2013г. при содействии проекта EXPAND–ТБ будет закуплено еще 6 аппаратов GeneXpert.

Таким образом, в стране существует реальная возможность применения ускоренного высокоспецифичного молекулярно-генетического метода диагностики туберкулеза и МЛУ ТБ во всех ПТО и в сети ПМСП. По республике постановкой теста на лекарственную чувствительность (ТЛЧ) охвачено 98,2% впервые выявленных и 98,9% повторных больных туберкулезом. В НЦПТ и в 9 регионах, где установлено оборудование Hain-test, в том числе и в Карагандинской бактериологической лаборатории пенитенциарной системы, усовершенствована методика постановки ТЛЧ к препаратам второго ряда всем больным МЛУ ТБ перед началом лечения с использованием оборудования Hain-test.

## Лечение МЛУ/ШЛУ ТБ

Закуп противотуберкулёзных препаратов второго и третьего ряда (ПВР/ПТР) из средств республиканского бюджета в 2013г. позволит взять впервые на лечение 6976 больных МЛУ ТБ и 334 больных ШЛУ ТБ. На 2013г. по проекту Глобального Фонда планируется охватить лечением 1250 больных МЛУ ТБ, из них в гражданском секторе 950, в пенитенциарном- 300.

На основании разработанной Национальной стратегии контроля над туберкулезом и МЛУ ТБ по рекомендации ВОЗ, приказа МЗ РК от 25.04.2011г. № 218, приложение №3, при дополнительном финансировании из грантов 6 и 8 раундов проекта ГФСТМ, ежегодно увеличивается охват адекватным лечением больных МЛУ ТБ в режиме DOTS-plus. Так, если в 2008г. число больных, взятых на лечение, составляло 2714, в 2010г.- 5215 больных, в 2011г. – 5565 больных. Охват больных МЛУ ТБ лечением препаратами II ряда в 2011г. составил- 77,2%. В 2012г. было взято на лечение ПВР 7353 больных МЛУ ТБ, что составило 86,9% из числа больных МЛУ ТБ, зарегистрированных на лечение.

Охват лечением больных МЛУ ТБ противотуберкулёзными препаратами второго ряда (ПВР) за 9 месяцев 2013 года составляет 96,2% против 80,9% за аналогичный период 2012г.

Впервые в НЦПТ внедряется лечение больных с ШЛУ ТБ, с включением в схему лечения противотуберкулёзных препаратов III ряда.

На базе НЦПТ внедрена новая технология хирургического лечения больных МЛУ/ШЛУ ТБ с помощью бронхоблокации и селективного коллапса легкого силиконовым имплантом.

## Эффективность лечения чувствительных форм ТБ

Когортный анализ эффективности лечения впервые выявленных больных туберкулезом легких с бактериовыделением при сохраненной лекарственной чувствительности за 9 месяцев 2013 года, свидетельствует о достижении показателя «успешности лечения» до 82,6% против 83,1% за аналогичный период 2012г. «Успешность» лечения новых случаев с бактериовыделением при сохраненной чувствительности оказалась ниже 80% в таких областях, как Восточно-Казахстанской – 78,4%, Карагандинской-72,1%, Костанайской-75,6%, Павлодарская – 70,6%, Южно-

Казахстанской-79,2%. Эффективность лечения ПВР больных МЛУ ТБ из когорты 2010 года в стране оказалась достаточно высокой и составила 72,7% (стандарт ВОЗ -75%).

## 1.2 Внешние и эндогенные факторы риска развития туберкулеза и мультирезистентного туберкулеза и их влияние на эпидемический процесс

Туберкулез, как и большинство инфекционных заболеваний, является заболеванием с многофакторной предрасположенностью и возникает в результате сложного взаимодействия многих генов с различными факторами окружающей среды [8]. Ухудшение эпидемиологической ситуации с туберкулезом во всем мире связано с социально-экономическими, демографическими факторами и факторами окружающей среды [9,10,11], вирусом иммунодефицита человека, снижением сопротивляемости организма к возбудителю [12,13,14].

Определенный вклад в развитие эпидемического процесса, оказывают факторы, связанные с особенностями образа жизни и питания населения [15,16,17,18,19]. По данным ряда авторов, масса тела имеет отчетливую связь с диабетом и туберкулезом. Низкая масса тела и диабет рассматриваются в качестве отдельных факторов риска на туберкулез; и наоборот, диабет чаще встречается у людей с избыточным весом. Хотя диабет повышает риск туберкулеза легких, больший индекс массы тела является защитным. Таким образом, одновременно избыточное и недостаточное питание, являются факторами повышенного риска заболевания. [20,21]. В результате анализа шести исследований Lönnroth ET . др., приходит к выводу, что есть обратная пропорциональная зависимость между заболеваемостью туберкулезом и индексом массы тела (ИМТ), в диапазоне ИМТ 18.5-30 кг/м<sup>2</sup> [22]. Заболеваемость туберкулезом в Индии варьирует в зависимости от возраста и пола и отличается между сельскими и городскими районами. В недавнем исследовании было изучено влияние на эпидемиологию туберкулеза изменений ИМТ, диабета, возрастной структуры населения и урбанизации, на основе изучения комбинации нутрициональных и демографических данных в течение десяти лет (1998-2008). Изучена заболеваемость туберкулезом в двух контрастных странах - Индии (с высоким бременем ТБ) и Кореи (с низким бременем ТБ) [23]. Это исследование показало, что наибольшее негативное влияние на заболеваемость туберкулезом в Индии оказало снижение индекса массы тела (от 21,3 до 20,9 кг/м<sup>2</sup>) среди мужчин, проживающих в сельской местности (85% в 2005 году). В исследовании делается

вывод, что динамика между ИМТ, туберкулезом и диабетом привели к дополнительным 0,90 миллиона случаев среди людей с диабетом в период между 1998 и 2008 годами.

Кроме статуса питания индивида, на туберкулез также влияют такие социально-демографические факторы, такие как бедность, урбанизация, миграция и повышение мобильности населения, перенаселенность [24,25].

Факторы, связанные с макроорганизмом и окружающей средой, играют определенную роль в развитии туберкулеза, но лишь немного исследований было проведено для выявления их роли в странах с ограниченными ресурсами. Многоцентровое исследование по типу случай-контроль было проведено в Гвинее, Гвинее-Бисау и Гамбии, с января 1999 года по март 2001 года. Случаями были вновь выявленные больные туберкулезом с положительным результатом исследования мазка мокроты. В окончательной модели оценки совокупного воздействия факторов макроорганизма и внешнесредовых факторов, туберкулез был связан с мужским полом, ВИЧ-инфекцией, курением (с зависимостью доза-эффект), наличие астмы в прошлом, случаи ТБ в семье в прошлом, семейное положение, скученностью взрослых, и арендой дома. Это исследование дает полезную информацию для оценки факторов организма хозяина и внешнесредовых факторов развития ТБ для улучшения борьбы с туберкулезом в развивающихся странах [26]. I. Suárez-García, др. были оценены такие переменные, как возраст, пол, страна происхождения, бездомность, употребление алкоголя, внутривенное употребление наркотиков, заместительная терапия метадонем, контакт с больным туберкулезом, результат микроскопии мазка мокроты, локализации заболевания, предшествующее лечение туберкулеза, ВИЧ-инфекция, история лишения свободы, сахарный диабет и хронические обструктивные заболевания легких. Тридцать пациентов с МЛУ-ТБ и 666 пациентов с не-МЛУ-ТБ были включены с 1997 года по 2006 год. Единственным фактором, связанных с МЛУ-ТБ в многофакторном анализе было предыдущее лечение туберкулеза (OR: 3,44 , 95% ДИ : 1.58-7.50 ,  $p = 0,003$ ), возрастная группа 45-64 лет (или : 3,24 , 95% ДИ : 1,34 - 7,81,  $p = 0,009$ ) и злоупотребление алкоголем (OR 0,12 , 95% ДИ: от 0,03 до 0,55 ,  $p = 0,003$ ). Установлено, что пациенты, которые имели предыдущий опыт лечения туберкулеза, возраст 45-64 лет и которые не злоупотребляли алкоголем в прошлом, более вероятно, имеют МЛУ-ТБ [27]. Также были ассоциированы с риском развития МЛУ ТБ такие факторы, как предыдущий опыт лечения, продолжительность лечения более 8 месяцев (OR: 2.18, 95% CI:1.05-4.52), более 3 эпизодов противотуберкулезного лечения (более 2 месяцев продолжающего лечения как один



эпизод) (OR 5.57, 95% CI 2.38-13.00), побочные эффекты ПТП (OR 3.63, 95% CI 1.79-7.36), низкий семейный доход ( $p=0.056$ ) [28].

Возрастающий негативный вклад в эпидемический процесс дает распространение ТБ с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ ТБ), что представляет собой серьезное препятствие на пути эффективной химиотерапии туберкулеза и нашло отражение в зарубежных исследованиях [29,30,31,32,33]. Ряд работ в англоязычной литературе посвящены изучению отдельных причинно-следственных связей развития МЛУ ТБ. Так, исследователи отмечают важность штаммов микобактерий туберкулеза, циркулирующих в различных географических регионах, в глобальной эпидемии туберкулеза [34,35] и этот вопрос более подробно будет рассмотрен в следующем разделе литературного обзора.

### 1.3 Генетические механизмы в развитии лекарственно-устойчивых форм туберкулеза

В последние 20 лет, после присвоения данной болезни статуса угрозы здоровью общества, благодаря развитию медицины и разработки новых лекарственных препаратов и методов лечения удалось сократить заболеваемость туберкулезом на 45%, однако, в связи с некорректным использованием противотуберкулезных препаратов имеет место развития у различных штаммов *M.tuberculosis* всевозможных типов устойчивости к антибиотикам [36]. У *M.tuberculosis* нет плазмидной ДНК и ввиду особенностей строения клеточной стенки МТБ не способны к трансформации, поэтому устойчивость к противотуберкулезным препаратам появляется благодаря спонтанным мутациям в геноме [37].

С другой стороны в различных географических регионах могут встречаться штаммы с лекарственной устойчивостью с мутациями в генах, кодирующих метаболизм противотуберкулезных препаратов. Поэтому важно исследовать природу лекарственной устойчивости микобактерий туберкулеза, циркулирующего на территории Республики Казахстан.

Одним из основных представителей противотуберкулезных препаратов первого ряда является рифампицин. Рифампицин – высокоактивный в отношении *M.tuberculosis* противотуберкулезный препарат широкого спектра действия, хорошо усваивается организмом и высокоэффективен. Рифампицин связывается с  $\beta$ -субъединицей ДНК

зависимой РНК полимеразы МТБ, тем самым блокирует синтез РНК. Отрицательной чертой рифампицина является быстрое развитие устойчивости к нему, некоторые бактерии как *E.coli*, *N. meningitidis* могут приобрести устойчивость к рифампицину в следствии мутации в гене *groB*, кодирующего  $\beta$ -субъединицу РНК полимеразы. Возбудитель туберкулеза не стал исключением. Мутации такого рода были определены у 97% клинических изолятов *M.tuberculosis* [38].

К наиболее часто встречающимся мутациям гена *groB* относятся мутации *r Ala233Leu*, *His232Asp*, *Asp203Val*, *Ser248Leu* которые встречаются у 13% рифампициноустойчивых штаммов *M.tuberculosis* [39]. По данным других исследований было установлено, что мутации в кодонах 531, 526 и 516 могут быть использованы как маркеры, которые можно применять для определения штамма и прогнозирования его устойчивости [40].

Данные мутации в генах передают МТБ устойчивость к препаратам и затрудняют лечение. К тому же, приобретение устойчивости к препаратам первого ряда образует некую основу для развития устойчивости к другим препаратам.

Мутации, обуславливающие устойчивость к рифампицину в 96-98% , находятся в активном участке *groB* гена который носит название – *rifampicin resistance-determining region (RRDR)*. Наиболее часто (до 86% случаев) мутации происходят в 531, 526, 516 кодонах. Кроме этих трех кодонов мутации в меньшей степени встречаются и в других кодонах этого активного участка гена.

Изониазид – противотуберкулёзный препарат, используемый для лечения туберкулеза всех форм локализации, относится к противотуберкулезным препаратам первого ряда и его можно назвать одним из лучших противотуберкулезных препаратов; он является неотъемлемой частью любого курса лечения, поскольку действует исключительно на микобактерий и хорошо переносится человеком (побочные эффекты проявляются лишь в 5% случаев). Штаммы *M.tuberculosis* высокочувствительны к изониазиду. Препарат оказывает подавляющий эффект на клетки этих микроорганизмов в концентрации 0,02 мкг/мл. Остальные виды микобактерий менее чувствительны к изониазиду, но для их подавления требуется концентрация препарата от 1 до 10 мкг/мл. Имеется огромное количество информации, как в области генетики, так и биохимии, о многоступенчатости процесса активации изониазида, превращении его в активное производное, способное ингибировать синтез миколовой кислоты, необходимой для клеточной стенки МТБ. Клетки *M.tuberculosis* поглощают изониазид, где происходит его окисление с помощью бифункционального фермента каталазы-пероксидазы и превращение в активный

промежуточный продукт, который оказывает губительное действие на клетку. Однако, чрезмерное использование изониазида привело в развитии устойчивости к данному препарату [41,42].

Недавно установлено, что эта корреляция является результатом мутации в гене *katG*, кодирующем синтез каталазы-пероксидазы. Это явление наблюдается приблизительно у 50% клинических штаммов [43,44]. Существует множество мутаций гена *katG*, которые влияют на устойчивость *M.tuberculosis* к изониазиду. Многие исследования показали, что штаммы с мутацией в 315 кодоне гена *katG*, приводящей к замене аминокислоты серина на треонин (Ser315Thr), что в свою очередь приводит к изменению конформации белка и его функции [45,46,47,48]. К тому же, в гене *katG* присутствуют множество мутаций, влияющих на устойчивость МТБ к изониазиду (Ala110Val, Ala139Pro, Leu619Pro, Leu634Phe и Asp735Ala). Клинические исследования показали, что устойчивость к изониазиду появляется вследствие мутаций не только в гене *katG*, но и в генах *fabG-inhA*, *oxyR-ahpC* и его промоторной области. Другие гены как *kasA* и *ndh* также связаны с устойчивостью, но эти мутации очень редкие и были обнаружены у изониазид-чувствительных изолятов в ассоциации с *katG* мутациями [49,50,51].

Мутации, обуславливающие устойчивость к изониазиду в основном происходят в 3 генетических локусах. В *katG* гене мутация происходит в 315 кодоне, которая приводит к замене аминокислоты серина на треонин (Ser315Thr) и составляет среди казахстанских изолятов 90-97%. В промоторной области *fabG-inhA* оперона мутации находятся в -15, -17 и -8 позициях. В промоторной области *oxyR-ahpC* оперона в -6, -9, -10, -12, -15, -39, -46 позициях. Кожамкулов У. и др. (2011), анализируя последовательности генов *groB*, *katG*, межгенных регионов *oxyR-ahpC* и промоторной области *inhA* в 259 изолятах *M.tuberculosis* с множественной лекарственной устойчивостью, у 51 изониазид и 13 рифампицин-устойчивых изолятов выявили наиболее частые мутации, связанные с устойчивостью к рифампицину и изониазиду, которые были однонуклеотидными заменами в кодонах 531 (82,7%) и 315 (98,4%) в *groB* и *katG* генах, соответственно [52].

Эти результаты обеспечивают лучшее понимание спектра мутации изониазид и рифампицин устойчивых штаммов, выделенных от больных в Казахстане, а также полезны для развития диагностических тестов с множественной лекарственной устойчивостью *M.tuberculosis*.

Выявление мутаций в этих генетических локусах *groB*, *katG*, *fabG-inhA* и *oxyR-ahpC* является основой фенотипических свойств *M.tuberculosis* и позволяет определить

чувствительность к противотуберкулезным препаратам первого ряда (изониазид, рифампицин).

Таким образом, внедрение методов генетического типирования возбудителя туберкулеза для решения текущих и долговременных задач мониторинга эпидемиологической ситуации по туберкулезу представляется особенно актуальной в регионах с высокой эндемичностью заболевания, таких как Казахстан. Проведение исследований с применением методов молекулярного типирования может способствовать лучшему пониманию закономерностей распространения возбудителей разных субтипов из одного региона или страны в другой, изучить зависимость гетерогенности субтипов от географического расположения региона, установить возможную связь субтипов с вирулентностью, определить особенности передачи инфекции. Это позволит определить приоритетные направления эпидемиологического надзора и контроля ТБ и предложить меры по оптимизации профилактики среди населения.

Роль полиморфизмов генома человека в формировании восприимчивости человека к туберкулезу.

Большая часть населения планеты инфицирована различными видами микобактерий. Разные по вирулентности и патогенности штаммы микобактерий способны вызывать различные клинические варианты заболеваний либо носительство. Наиболее опасны в этом отношении микобактерии туберкулеза. Следует отметить, что только у меньшей части инфицированных людей развивается заболевание с различными клиническими проявлениями, хотя и инфицированные вирулентными микобактериями могут быть здоровыми людьми.

Восприимчивость организма человека после заражения микобактериями зависит большого числа факторов внешней среды - от экологических, социальных и т.д. Отдельно должны рассматриваться генетические особенности индивидуумов. Поэтому вариабельность клинического течения и исходов заболевания является результатом совокупности факторов, включая наличие мутаций в генах человека, которые участвуют в регуляции иммунной защиты. Актуальным направлением является изучение ассоциативной связи между полиморфизмами генов-кандидатов и восприимчивостью организма, клинической картины и исходов заболевания.

Одним из таких генов-кандидатов является витамин D, который участвует в регуляции иммунитета посредством связывания с рецептором витамина D (VDR) расположенным на поверхности моноцитов, макрофагов и лимфоцитов [53,54] . Названия

полиморфизмов FokI, TaqI, ApaI, BsmI гена VDR произошли от названия рестриктаз, специфические сайты которых содержат SNP.

Ген VDR расположен на длинном плече хромосомы 12 (12q12-14) и состоит из 10 экзонов, первые из которых не транскрибируются [55]. Ген VDR является кандидатным локусом восприимчивости к различным воспалительным заболеваниям пищеварительного тракта, остеопорозу и в том числе к туберкулезу [56]. Это связано с аллельными вариациями, которые влияют на активность рецепторов и последующей витамин D-опосредованных эффектов, таких как поглощение кальция, выделение и модуляция клеточной пролиферации и дифференцировки. Изменения в способности синтезировать витамин Д, в том числе полиморфизмы гена VDR, могут быть факторами, способствующим увеличению чувствительности к туберкулезу. Полиморфизмы в гене рецептора витамина Д (VDR) – rs731236 TaqI (T/C) расположен в экзоне 9, rs7975232 ApaI(G/Ttransversion) и rs1544410 BsmI(A/Gtransition) находятся в интроне 8. Четвертый полиморфизм FokI (C→Ttransition), создает альтернативный старт-кодон (ATG), три кодона после стартового кодона. Генотип tt(TaqI) ассоциирован с уменьшением риска заболевания туберкулезом [57].

Генотип tt(TaqI) был недостаточно представлен среди больных туберкулезом в Гамбии [58] и Индии [59], однако среди больных в Перу Tt (TaqI) и FF (FokI) генотипы были связаны с изменением состава мокроты после начала терапии [60]. Аналогичная ситуация сложилась в Китае, где FF (FokI) генотип был связан с резистентностью к туберкулезу [61]. Исследование среди китайцев, проживающих в Тибете показало, что полиморфизм FokI возможно ассоциирован с туберкулезом, но недостаточно доказательств, что полиморфизм TaqI ассоциирован с заболеванием в популяции [62].

Исследование Babbetal среди Южно-Американской популяции выявило, что генотипы VDR могут влиять на тяжесть болезни или способность случаев излечения (положительная конверсия мазка мокроты или отрицательный окрас), но не было очевидной связи между туберкулезом и полиморфизмами VDR [63]. Данная группа ученых выявила, что гаплотип FokI-ApaI -TaqI ('FAT') был ассоциирован с туберкулезом и может быть фактором, тогда как гаплотип 'FaT' возможно обладает протективными свойствами [64].

В работе T.J.Kangetal в корейской популяции было определено, что частота генотипа Ff у FokI в 1,4 раза был увеличен в группе больных туберкулезом, по сравнению

с контрольной группой ( $p = 0,0857$ ). Однако однозначной ассоциативной связи между мутациями VDR гена и развитием туберкулеза выявлено не было [65].

В результате изучения ассоциации между полиморфизмами гена VDR и легочной формы туберкулеза при проведении мета-анализа S.Qianetal. (2011) обнаружили связь между аллельным вариантом FokI, однако не выявили значимой корреляции с полиморфизмами TaqI, ApaI, BsmI данного гена [66]. Они установили, что рецессивный аллель – мутантная гомозигота (ff) значительно повышала риск развития легочной формы туберкулеза (в 1.39 раза) по сравнению с другими аллельными вариантами (Ff+FF) полиморфизма FokI. Однако полностью исключить вклад полиморфизмов TaqI, ApaI, BsmI гена VDR в формирование восприимчивости к заболеванию нельзя.

Ген TLR также вносит свой вклад в развитие восприимчивости организма человека к микобактериальной инфекции. TLR оказывает влияние на взаимодействие врожденного и адаптивного иммунного ответа против *M. tuberculosis*, TLR2 агонист был использован в качестве "естественного стимулятора" для повышения Th1-индуцированного ответа, стимулируя легочные IFN- $\gamma$ -секретирующие CD4 + Т-клеток, или в «прайм буст» вакцинах, вызывая стимуляцию специфического антигена IFN- $\gamma$  и IL-2 ответ у мышей [67 32]. Структурная целостность компонентов TLR сигналинга имеет важное значение для иммунологической защиты от инфекции. Изменения в составе TLR сигналинг молекул, вызванные SNP часто связаны с восприимчивостью к различным инфекционным заболеваниям. Тот факт, что TLR2-дефицитные мыши очень восприимчивы к микобактерии туберкулеза, дает возможность предположить, что полиморфизмы, которые влияют на экспрессию или структуру TLR2, могут привести к снижению чувствительности к туберкулезу у людей.

Шесть несинонимичных SNP гена TLR2 могут изменять аминокислоты в цитозольной части этого рецептора. Тем не менее, только два полиморфизма были связаны с сокращением NF- $\kappa$ B активации и увеличением риска инфекции.

Первый полиморфизм – замена С на Т аргинин (Arg, R) на триптофан (Trp, W) в позиции 677, блокирующий связывание MyD88 с TLR2. Этот специфический полиморфизм расположен в bb TLR2 (Arg677Trp), блокирует активацию NF- $\kappa$ B в ответ на *M. tuberculosis*, что приводит к снижению уровня продуцирования сыворотки IL-12 носителями 677W [68]. Второй функциональный TLR2 вариант состоит из замены G на A, которая заменяет аргинин на глютамин в позиции 753. TLR2 753Q связан с повышенным риском развития туберкулеза для носителей генотипов AA и AG [69]. Была описана

Thuong et al. ассоциация полиморфизма T597CTLR2 с восприимчивостью больных-военных туберкулезом из Вьетнама [70]. Также данная ассоциация была описана среди корейцев в отношении микросателлитного полиморфизма в интроне II или TLR2 [71]. В настоящее время полиморфизм TLR2 является важным фактором риска прогрессирования заболевания.

Однако эти исследования должны быть проведены на больших масштабах в различных группах населения.

Таким образом, эпидемиологические исследования, проведенные в разных странах, доказывают сложность и многофакторность развития и течения туберкулеза, и свидетельствует о необходимости продолжения исследований в этой области, особенно в странах с напряженной эпидемиологической ситуацией, как Казахстан.

Высокое бремя туберкулеза в обществе усиливает необходимость выявления условий и тенденций развития текущей эпидемиологической ситуации, вклада различных эндогенных и экологических факторов риска инфицирования и заболевания на индивидуальном и популяционном уровнях.

Использование современных молекулярно-генетических методов, системный персонализированный подход в изучении характеристик пациента, даст возможность оценить восприимчивость к туберкулезу, возможное клиническое течение, ответ на лечение и тяжесть инфекции. Дальнейшие исследования в этом направлении, дадут возможность установить причинные связи между движущими факторами риска, определяющими бремя туберкулеза в различных географических районах внутри страны и обосновать эффективные стратегии борьбы с туберкулезом. Внедрение подходов основанных на персонализированной медицине в систему текущего эпидемиологического надзора позволит определить рациональные пути и меры борьбы с эпидемией и повышения эффективности профилактических мероприятий.

## 2 Дизайн, материалы и методы исследования

### 2.1 Дизайн исследования

В настоящем исследовании используется *комбинированный дизайн*, который включает:

- 1) исследование случай-контроль (рисунок 1)
- 2) проспективное исследование когорты

- 3) молекулярно-эпидемиологическое исследование
- 4) исследования генетической восприимчивости к хозяину (человека) к туберкулезу.

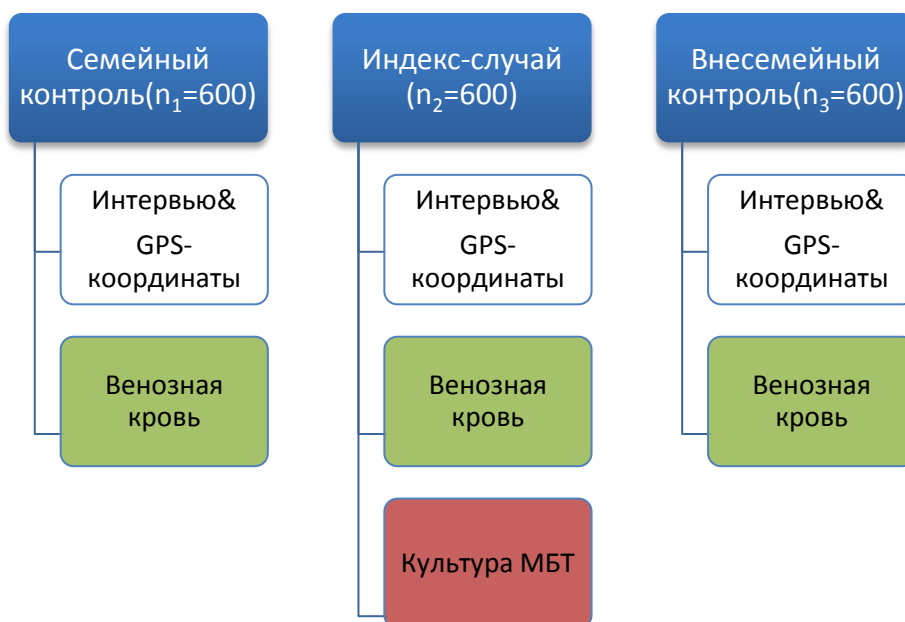


Рисунок 1 – Дизайн исследования случай-контроль

#### Размер выборки

Первоначальный размер выборки, который включал 1800 человек: 600 больных впервые выявленным туберкулезом легких, 1200 здоровых контрольных участников (контактные внутри семьи индексируемых участников и внесемейный контроль) был сокращен в связи с недостаточным бюджетом. В настоящий момент, нами планируется набрать 660 человек к 1 ноябрю 2013 г. (220 больных впервые выявленным туберкулезом легких и 440 здоровых контролей) в 4-х регионах – г. Алматы и Алматинской, Костанайской, Кызылординской областях.

В апреле-мае 2013 г. проект распространен на Костанайскую и Кызылординскую области. В Костанайской и Кызылординской областях проводится исследование *случай-контроль*, включающее базовое интервью и забор биоматериала. В данных регионах исключено наблюдение участников исследования в течение года. Это связано с сокращением финансирования НТП, ограниченными ресурсами для найма дополнительных сотрудников, содержания полевого офиса и покрытия командировочных расходов для выездов в районы выборки.



*Проспективное когортное исследование* проводится в г.Алматы и Алматинской области. Все участники отслеживаются в течение года. После прохождения базового интервью они будут привлечены для проведения 6-ти и 12-ти месячных оценочных интервью.

В Алматинской области набор участников исследования в рамках когортного исследования завершен в апреле 2013 г., в г. Алматы в июле 2013 г. в связи с необходимостью отслеживания рекрутированных участников в течение года для проведения 6-ти и 12-ти месячных интервью. Все участники, вошедшие в исследование после указанных сроков, пройдут только базовое интервью, без необходимости прохождения дополнительных оценочных интервью.

*Тип выборки: кластерная выборка*

Для репрезентативности выборки на уровне выбранных регионов, а также в целях увеличения эффективности при сокращении затрат, использована кластерная выборка районов в 4 регионах, вошедших в проект. Основным принцип кластерной выборки заключается в том, что сначала изучаемая совокупность делится на взаимоисключающие и взаимодополняющие подгруппы, называемые кластерами. Затем с помощью вероятностного метода выборки, такого как простая случайная выборка, отбираются кластеры. Элементы кластера должны быть максимально разнородны, а сами кластеры — как можно более однородными. В идеале каждый кластер должен представлять собой небольшую модель генеральной совокупности. Распространенная форма кластерной выборки — территориальная выборка (area sampling), в которой кластеры состоят из географических территорий, таких как округа, жилые районы или кварталы. В нашем случае, в качестве кластеров будут выступать районы, из которых состоят области и города, вошедшие в генеральную совокупность.

В кластерную выборку вошли:

- г. Алматы (7 - все районы) : Алатауский, Алмалинский, Жетысуский, Медеуский, Турксибский, Ауэзовский, Бостандыкский районы.
- Алматинская область (6): Алакольский район, Балхашский район, Енбекшиказахский район, Жамбылский район, Капчагай Г.А., Саркандский район.

- *Кызылординская область (8 - все):* Аральский, Жалагашский, Жанакорганский, Казалинский, Кармакшинский, Кызылорда Г.А., Сырдарьинский, Чиилийский.

Для репрезентативности выборки, равномерного представления городского и сельского населения в исследовании, в кластерную выборку в Костанайской области вошли все города области (4) и случайным образом выбранные районы (5).

*Костанайская область (9):* Аркалык Г.А. Костанай Г.А. Лисаковск Г.А. Рудный Г.А. Наурзумский район, Федоровский район, Мендыкаринский район, Житикаринский район, Костанайский район

*Универсальные критерии пригодности:*

- Возраст старше 18 лет на момент скрининга;
- наличие постоянного места жительства и адрес, по которому проживают не менее 3 месяцев;
- наличие других взрослых членов семьи, проживающих с ним вместе;
- свободно говорить по русски или казахски;
- отсутствие серьезных психиатрических или когнитивных нарушений, способных нарушить предоставлению информированного согласия и заполнению анкет проекта.
- отсутствие соматических заболеваний, которые могут привести к ухудшению и/или летальному исходу в течение года после скрининга.

Алгоритм исследования представлен на рисунке 2.

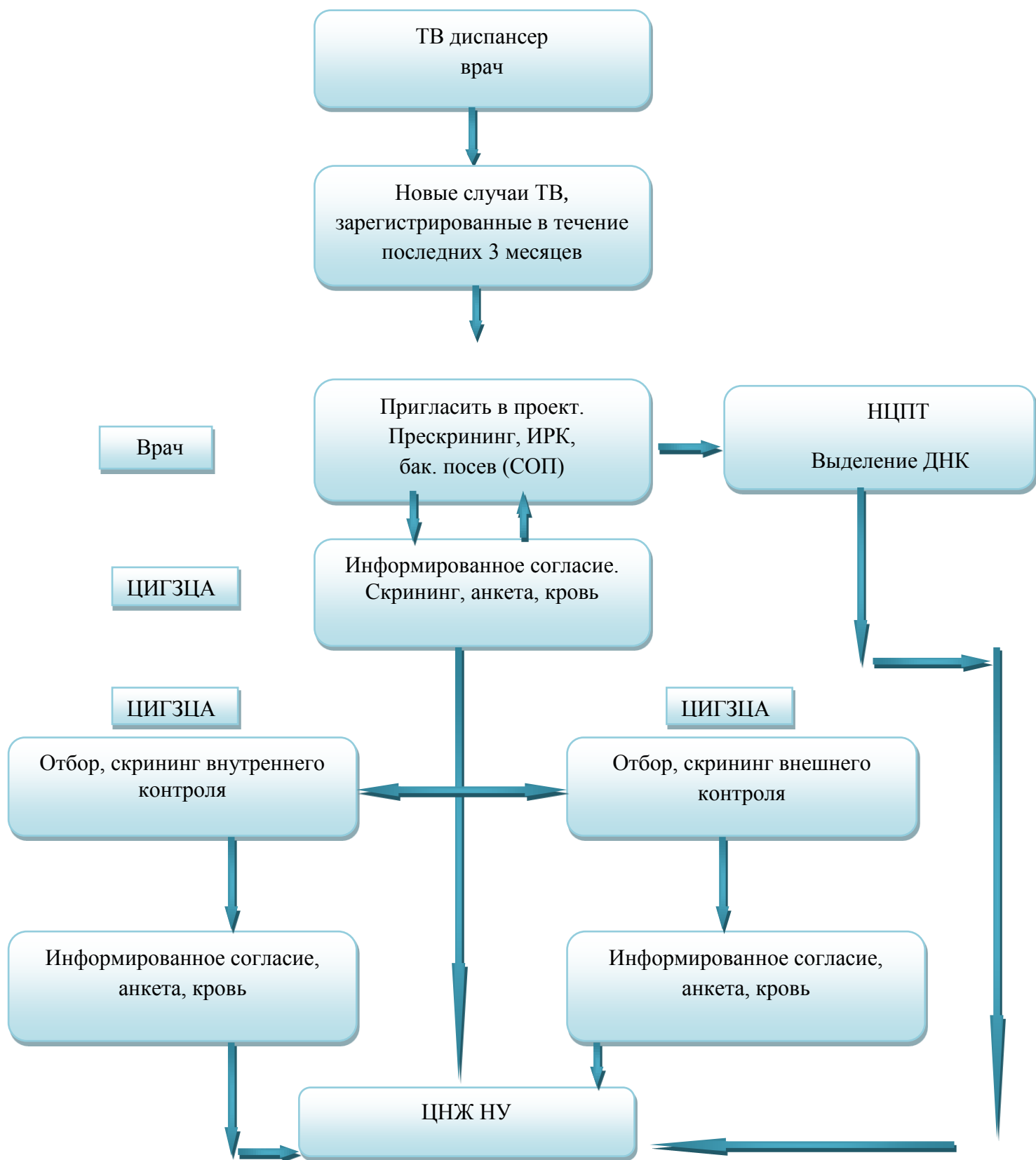


Рисунок 2 - Алгоритм исследования

## 2.2 Молекулярно-генетические методы исследования

*Объекты исследования:* Образцы венозной крови человека, ДНК микобактерий.

*Материалы исследования:* В работе использованы праймеры (олигонуклеотиды), последовательность которых приведена в таблице 1.

Таблица 1 - Последовательности праймеров, использованных в работе.

| Генетический локус                      | Название праймера   | Последовательность праймера, 5'-3' |
|-----------------------------------------|---------------------|------------------------------------|
| <i>rpoB</i>                             | <i>rpoB</i> -F      | GAGGCGATCACACCGCAGAC               |
|                                         | <i>rpoB</i> -R      | GGTACGGCGTTTCGATGAAC               |
| <i>katG</i>                             | <i>katG</i> -F      | ACCCGAGGCTGCTCCGCTGG               |
|                                         | <i>katG</i> -R      | CAGCTCCCACTCGTAGCCGT               |
| <i>fabG-inhA</i><br>промоторная область | <i>fabG-inhA</i> -F | GCCTCGCTGCCCAGAAAGG                |
|                                         | <i>fabG-inhA</i> -R | CTCCGGATCCACGGTGGGT                |
| <i>oxyR-ahpC</i><br>промоторная область | <i>oxyR-ahpC</i> -F | CGCAACGTCGACTGGCTCATA              |
|                                         | <i>oxyR-ahpC</i> -R | GCCTGGGTGTTTCGTCCTGGT              |
| FokI_rs2228570                          | VDR_FokI_F          | AGCTGGCCCTGGCACTGACTCTGCTCT        |
|                                         | VDR_FokI_R          | ATGGAAACACCTTGCTTCTTCTCCCTC        |
| IL1_rs16944                             | IL1B-511C/T_F       | TGGCATTGATCTGGTTCATC               |
|                                         | IL1B-511C/T_R       | GTTTAGGAATCTTCCCACTT               |
| TLR8_rs3764880                          | TLR8 A/(-)_F        | CACTTCAGTGTTAGGGAACATCAG           |
|                                         | TLR8 A/(-)_R        | TTTCTTCGGCGCATAACTCACAGG           |
| VNTR 52                                 | VNTR 52_F           | CGGTGGAGGCGATGAACGTCTTC            |
|                                         | VNTR 52_R           | TAGAGCGGCACGGGGGAAAGCTTAG          |
| VNTR 49                                 | VNTR 49_F           | GCGAACACCAGGACAGCATCATG            |
|                                         | VNTR 49_R           | GGCATGCCGGTGATCGAGTGG              |

*Методы исследования:*

*Выделение геномной ДНК, определение ее концентрации и чистоты.* Из всех образцов венозной крови была выделена ДНК. В работе для выделения ДНК был использован Wizard® Genomic DNA Purification kit (Promega) с модификацией (Miller, S.A. et al., 1988). Всего за отчетный период было выделено ДНК из 840 образца цельной венозной крови.

Электрофорез на наличие ДНК проводили в электрофоретическом аппарате BioRad Electrophoretic bath при напряжении 120 V в течение 20 минут. Для электрофореза использовали 1,5 % агарозный гель в 1xTAE-буфере. Гели агарозы окрашивали бромистым этидием в концентрации 1 мг/см<sup>3</sup> и документировали в УФ-свете на аппарате GelDoc XR, BioRad, USA. Концентрацию выделенной ДНК и отношение OD<sub>260</sub>/280 определяли на спектрофотометре Nanodrop 2000.

*Аmplификацию фрагментов генома* клинических штаммов *M. tuberculosis*, несущих в своем составе детерминанты генетической устойчивости к рифампицину – *rpoB*; изониазиду – *katG*, промоторная область *inhA-fabG*, *oxyR-ahpC* оперона проводили в реакционной смеси, содержащей 10x dNTP, 10x buffer, 2,5 mM MgCl<sub>2</sub>, 1 ед Taq-полимеразы (Fermentus, ЕС) и 10 пмоль каждого праймера в объеме 0,5 мкл.

Реакцию проводили в амплификаторах фирмы Eppendorf. Был использован универсальный профиль амплификации, адаптированный для максимального выхода ПЦР – продукта всех исследуемых локусов генома: 94<sup>0</sup>С – 5 мин., 30 циклов: 94<sup>0</sup>С – 15 сек., 63<sup>0</sup>С – 15 сек., 72<sup>0</sup>С – 15 сек., 72<sup>0</sup>С – 10 мин., 4<sup>0</sup>С – хранение. Визуализацию продуктов амплификации осуществляли путем электрофореза в 1,5 % агарозном геле с последующей окраской бромистым этидием.

*Real-time генотипирование* образцов проводили с использованием метода ПЦР в реальном времени на амплификаторе 7900HT (Applied Biosystems) с набором TaqMan зондов на SNP маркеры – FokI/rs2228570, ApaI/rs7975232, TaqI/rs731236, IL1/rs16944, TLR8/rs3764880. ПЦР проводили в реакционной смеси (10 мкл), содержащей 5 мкл буфера, 0,25 мкл праймер зонда, и 1,5 мкл ДНК, 3,25 мкл H<sub>2</sub>O по программе 50 °С – 2 мин, 95 °С – 10 мин, и 40 циклов по 92 °С – 15 мин, 60 °С – 1 мин.

*Дефосфорилирование* 5'-концевых фосфатных групп дНТФ в реакционной смеси после амплификации проводили путем внесения в нее 5 мкл смеси, содержащей 10x ПЦР буфер, 2,5 mM MgCl<sub>2</sub> и 0,5 ед. щелочной фосфатазы (ShrimpAlkalinePhosphatase (Fermentas, Литва). Инкубировали в течение 30 минут при 37<sup>0</sup>С с последующей инактивацией фермента прогреванием в течении 15 минут при 85<sup>0</sup> С. Образцы, предназначенные для проведения реакций секвенирования, дополнительно обрабатывали экзонуклеазой *E. coli*(ExoI, Fermentas, Литва), добавляя к вышеописанной реакционной смеси 5 ед. ExoI. При этом использовались аналогичные условия инкубации.

*Очистка сиквенса-ПЦР продуктов и осаждение ДНК ацетат Na-спиртовой смесью.*

Смесь была приготовлена из расчета на 1 образец: 3М (NaOAc) натрий ацетата (pH=4,6-5,5); 1,5 µl 95% этилового спирта; 31,25 µl; dH<sub>2</sub>O – 7,25 µl. Было внесено по 40 µl смеси на каждый образец, которые инкубировали 20 минут в темном месте. После центрифугирования было внесено по 80 µl этилового спирта (75-80%) на каждый образец. Затем центрифугировали и провели инкубацию в темном месте в течении 15 минут. Вносили по 14 µl формамида на каждый образец. Затем образцы денатурировали 2 минуты при 95<sup>0</sup>С.

Секвенирование и анализ фрагментов генома. Определение нуклеотидных последовательностей локусов генома, принимающих участие в формировании устойчивости, проводили с использованием ABIPrismBigDyeTerminatorCycleSequencingReadyReactionKit и прибора ABI 3730 (AppliedBiosystems, США) GeneticAnalyzer в соответствии с прилагаемыми инструкциями. В реакции секвенирования использовались те же праймеры, что и в реакции амплификации. Выравнивание и сравнительный анализ полученных последовательностей генов *rpoB*, *katG*, *fabG-inhA*, *oxyR-ahpC*, проводили с референсной последовательностью штамма *M.tuberculosisH37Rv*([NC\\_000962](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuclom/NC_000962)) с помощью программного пакета LasergeneDNA (DNASar).

### 2.3 Субкомпонент исследования

Учитывая снижение заболеваемости в последние годы в республике и как следствие уменьшение количества больных, имеющих положительную культуру *M.tuberculosis*, в 2012 г. введен субкомпонент исследования, в рамках которого осуществляется дополнительный сбор биоматериала для генетических исследований и выкопировка клиничко-лабораторной информации на больных новыми случаями легочного туберкулеза, которые не вошли в основное исследование по критериям пригодности. Субкомпонент одобрен Этическими комитетами (ЭК) НЦПТ МЗ РК и ЦНЖ НУ, реализуется в 4-х изучаемых регионах: гАлматы, Алматинская область, Костанайская область, Кызылординская область.

Местные фтизиатры, участвующие в сборе данных, предоставляют индивидуальные клинические и микробактериологические данные по индексированным случаям. Клинические данные, собираемые в ходе дополнительного компонента исследования, включают: клинический диагноз, результаты рентгенографии грудной клетки, результат анализа мокроты, тип первичного выявления, социальный и профессиональный статус, факторы риска, жалобы, длительность заболевания, наличие распада каверны, расположение, категорию и фазу лечения, побочные эффекты, исход лечения, результаты теста DST, BACTEC и культивирования.

Культура по индексированному случаю, полученная на местном уровне, направляется в НЦПТ с именем пациента для последующего выделения ДНК согласно существующему стандартному протоколу. Затем сотрудники ЦИГЗЦА присвоят

выделенной ДНК МТБ ПИН номер (тот же, что и на базовой стадии) и отправят образцы ДНК МТБ в лабораторию ЦНЖ. Таким образом, лаборатория ЦНЖ получит образцы ДНК МТБ индексированного случая только с ПИН кодами без какой-либо идентифицирующей информации.

Научно-техническая программа сохраняет основной дизайн, проводится с учетом международных требований к методологии научных исследований, позволит ответить на поставленные цели и задачи, получить ожидаемые результаты.

## 2.4 Программа исследования

Программа исследования включает несколько основных этапов работы (таблица 2).

Таблица 2 - Программа исследования

| Этапы исследования                                                                | Объекты исследования (количественная характеристика)                                                                                             | Предмет исследования                                                                                                                                                                 | Методы исследования                                                                         | Источники информации                                                                                                                   |
|-----------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1                                                                                 | 2                                                                                                                                                | 3                                                                                                                                                                                    | 4                                                                                           | 5                                                                                                                                      |
| I. Формирование групп исследования в 4-х изучаемых регионах                       |                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                                                      |                                                                                             |                                                                                                                                        |
| Рекрутинг участников исследования                                                 | 1.Прескринированные индекс-случаи - 433,<br>2. Индекс-участники – 333 чел<br>3.Внутрисемейный контроль – 309 чел<br>3.Внешний контроль – 313 чел | 1.Демографические и социально-экономические показатели, образ жизни, статус здоровья, психическое здоровье, социальная поддержка, насилие и стигма, услуги в области здравоохранения | Случай контроль<br>Проспективное исследование когорты<br>Социологический (интервьюирование) | Форма прескрининга (433)<br>Форма скрининга (955)<br>Форма информированного согласия (955)<br>Базовая оценочная анкета в Датстат (955) |
| II. Наблюдение групп исследования в г.Алматы и Алматинской области в течение года |                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                                                      |                                                                                             |                                                                                                                                        |

Продолжение таблицы 2

| 1                                                                                                                 | 2                                                                                                                 | 3                                                                                                                                                                                                | 4                                                                     | 5                                                                     |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------|
| Проведение 6 и 12 месячных интервью                                                                               | 1. Участники исследования (когорты) подлежащие наблюдению                                                         | 1. Сравнительная оценка изучаемых переменных, эволюция случая, заражение контактных, исходы лечения, социальная адаптация больных ТБ, наличие стигмы, удовлетворенность лечением, качество жизни | Проспективное исследование когорты Социологический (интервьюирование) | Оценочная анкета 6 месяцев (344)<br>Оценочная анкета 12 месяцев (141) |
| III. Сбор биоматериала и формирование банка ДНК в рамках основного исследования                                   |                                                                                                                   |                                                                                                                                                                                                  |                                                                       |                                                                       |
| Сбор и транспортировка биообразцов в организации участвующие в проекте                                            | Биообразцы:<br>1. Образцы цельной венозной крови (936)<br>2. Образцы культуры МБТ (55)<br>2. Образцы ДНК МБТ (55) | 2. Клинические и лабораторные данные: форма ТБ-01 (только для индекс-случаев)                                                                                                                    | Ретроспективный анализ Молекулярно-генетический Лабораторный          | Индивидуальная регистрационная карта (955)                            |
| IV. Дополнительный сбор биоматериала и формирование банка ДНК M. tuberculosis в рамках субкомпонента исследования |                                                                                                                   |                                                                                                                                                                                                  |                                                                       |                                                                       |



Продолжение таблицы 2

| 1                                                                                                                                     | 2                                                                                                     | 3                                                                                                                                                                                     | 4                                                                                                                                                 | 5                                                                         |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------|
| Сбор культуры МБТ, лабораторной и клинической информации на больных новыми случаями ТБ (пациенты, имеющие положительную культуру МБТ) | ИРК (325)<br>Образцы культуры МБТ (325)<br>Образцы ДНК МБТ (325)                                      | ИРК:<br>1) данные из истории болезни<br>2) характеристика социально-профессионального статуса<br>3) характеристика факторов риска<br>4) результаты лабораторного исследования мокроты | Ретроспективный анализ (Выкопировка данных из медицинской карты больного ТБ-01)<br>Молекулярно-генетический                                       | Индивидуальная регистрационная карта (ИРК) (325)<br>Образцы ДНК МБТ (325) |
| V. Выделение ДНК и генетический анализ биоматериала                                                                                   |                                                                                                       |                                                                                                                                                                                       |                                                                                                                                                   |                                                                           |
| Генетический анализ                                                                                                                   | ДНК выделенная из венозной крови (936)<br>ДНК МБТ (основное исследование - 55;<br>субкомпонент - 325) | гены, полиморфизмы                                                                                                                                                                    | Секвенирование, анализ геномной ДНК, методы генотипирования микобактерий (MIRU-VNTR—типирование), метод постановки ПЦР в реальном времени         | ИРК, база данных                                                          |
| VI. Картографирование индивидуальных и популяционных данных                                                                           |                                                                                                       |                                                                                                                                                                                       |                                                                                                                                                   |                                                                           |
| Визуализация данных                                                                                                                   | Случаи ТБ и МЛУ ТБ, Индивидуальные и популяционные данные                                             | Характеристики случаев и их координаты                                                                                                                                                | Геоинформационное картирование, пространственное распределение показателя на основе весов обратных пропорциональных расстояний (spatial analysis) | База данных проекта                                                       |
| VII. Формирование единой базы данных проекта                                                                                          |                                                                                                       |                                                                                                                                                                                       |                                                                                                                                                   |                                                                           |
| Контроль качества и обработка полученных данных                                                                                       | Заполненные анкеты в Датстат<br>Заполненная компьютеризованная ИРК                                    | -                                                                                                                                                                                     | Статистический                                                                                                                                    | Компьютерные программы DatStat, SPSS 15,0, Excel, MSAccess 2010           |

## 2.5 Методы анализа данных применяемые в исследованиях случай-контроль

Исследование методом случай-контроль – это вид неконтролируемого эпидемиологического исследования, когда испытуемых включают в ту или иную группу, основываясь на наличии (случаи) или отсутствии (контроли) у них заболевания, в нашем случае ТБ. В нашем исследовании были сформированы две контрольные группы – внутрисемейные и соседские контроли. Вывод о связи воздействующего фактора и заболевания осуществляется на основе сравнения подверженности воздействию фактору в группе случаев и контрольной группе. В его основе лежит следующее соображение: «Если поражение неким фактором является более распространенным среди случаев, чем среди контролей, то это воздействие может быть связано с заболеванием, и может являться причиной» [72]. Если какой-то фактор риска проявляется только среди случаев и нигде более, значит, существует строгая зависимость между этим фактором риска и заболеванием. Иными словами, мы хотим посмотреть, является ли воздействие определенного фактора риска более распространенным среди тех, кто заболел, и в этом случае мы говорим о наличии этого фактора риска. И, наоборот, если распространенность фактора выше среди тех, кто не заболел, это является свидетельством того, что фактор носит защитный характер.

Показатель, который вычисляют для того, чтобы определить насколько распространенным было воздействие фактора, называют шансом (odd) и вычисляют путем деления числа подвергшихся воздействию данного фактора на число не подвергшихся этому воздействию. Анализ начинается с того, что вычисляют шанс для каждого отдельного фактора риска в группе случаев и группе контролей в отдельности. Для иллюстрации данных, характеризующих ассоциацию между заболеванием и воздействием, используют таблицу 2 x 2.

|                                  |     | Наличие заболевания |          | ВСЕГО |
|----------------------------------|-----|---------------------|----------|-------|
|                                  |     | Случаи              | Контроли |       |
| Подвергались воздействию фактора | Да  | a                   | b        | a+b   |
|                                  | Нет | c                   | d        | c+d   |
| ВСЕГО                            |     | a+c                 | b+d      | N     |

Шанс подвергнуться определенному воздействию среди случаев вычисляется следующим образом:

Шанс для случаев = Число случаев, подвергшихся воздействию фактора /  
Число случаев, не подвергшихся воздействию фактора (**a/c**)

Шанс в группе контролей вычисляются аналогичным способом:

Шанс для контролей

= Число контролей, подвергшихся воздействию фактора  
/ Число контролей, не подвергшихся воздействию фактора (**b/d**)

Затем шанс среди случаев сравнивают с шансом среди контролей путем деления. Отношение шансов (odds ratio, OR) связанное с воздействием определенного фактора вычисляют по следующей формуле:

$OR = \text{Шанс для случаев} / \text{Шанс для контролей} (ad/bc)$

Исходя из вышеприведенных определений,  $OR > 1$  для факторов риска, и  $OR < 1$  для защитных факторов. Вследствие того, что исследование является выборочным, показатели, которые мы получаем, являются эстиматами, то есть представляют собой оценку истинного значения изучаемого показателя. Поскольку истинное значение не известно, оно оценивается путем вычисления 95% доверительного интервала (ДИ), который для 95% всех возможных выборок будет содержать истинное значение данного параметра (OR). Это позволяет экстраполировать полученные данные от выборки случаев и контролей на популяцию населения в целом. Границы доверительного интервала зависят от приемлемой степени точности результатов. Чем выше уровень приемлемой точности, тем шире границы самого интервала. Существуют 90%-, 95%-, 99%-ные доверительные интервалы. Как правило, в статистике используется 95% доверительный интервал. Он интерпретируется следующим образом: «В результате анализа выбранных групп случаев и контролей, мы с 95% уверенностью можем утверждать, что истинное значение OR для всей популяции, находится между верхней и нижней границами, то есть в пределах указанного интервала».

Существуют три возможных интерпретации 95% доверительных интервалов соотношения шансов (OR) в зависимости от фактических значений его нижней и верхней границы:

- 1 верхнее и нижнее значение доверительного интервала больше единицы,
- 2 верхнее и нижнее значение доверительного интервала меньше единицы,

3 верхнее значение доверительного интервала больше единицы, а нижнее значение доверительного интервала меньше единицы.

В случае, когда верхняя и нижняя границы доверительного интервала больше единицы, мы можем утверждать, что истинное значение OR для изучаемого фактора, которое находится в пределах указанных границ, также больше единицы. Это говорит нам о том, что изучаемый фактор является значимым для заболевания фактором риска. В случае, когда обе границы доверительного интервала OR меньше единицы, мы можем утверждать, что фактор является значимым для заболевания защитным фактором. В случае, когда верхнее значение доверительного интервала OR больше единицы, а нижнее значение доверительного интервала меньше единицы, возникает ситуация неопределенности, потому что истинное значение OR для изучаемого фактора может быть больше единицы (фактор риска) либо меньше единицы (защитный фактор). Поэтому в этом случае мы не можем сделать вывод о характере влияния изучаемого фактора.

В нашем исследовании был использован «matching», который в переводе с английского означает «спаривание», в смысле образования устойчивых пар, то есть спаривание случаев и контролей. При спаривании отбор контролей осуществляется таким образом, чтобы они были схожи со случаями по одной или нескольким характеристикам. Цель спаривания заключается в том, чтобы исключить влияние потенциальных факторов смешивания (или смешивающих факторов<sup>1</sup>) при изучении выбранных для исследования ассоциаций фактор-заболевание. Этим «спаривание» похоже на стратифицированный анализ, где для исключения влияния фактора смешивания анализ проводится отдельно по каждой из страт, каждая из которых имеет свое значение фактора смешивания. Спаривание является целесообразным, когда мы знаем, что (1) нет необходимости изучать ассоциацию выбранного фактора спаривания с заболеванием; (2) фактор спаривания относится к фактору риска заболевания, то есть является потенциальным фактором смешивания; (3) подбор «контролей» путем спаривания экономит временные и трудовые ресурсы; (4) когда размер выборки небольшой и мы хотим увеличить силу исследования, чтобы выявить факторы риска.

---

<sup>1</sup> Смешивающий фактор - фактор, который не является основным фактором воздействия, изучаемым в данном эпидемиологическом исследовании, который искажает результат исследования. Смешивающие факторы необходимо учитывать при планировании эпидемиологического исследования и анализе его данных. Например, основным фактором смешивания при изучении воздействия загрязненного атмосферного воздуха на рак легкого является курение, которое сильно ассоциировано с раком легкого, но при этом не является изучаемым фактором.

Статистический анализ данных исследования случай контроль состоит из двух основных этапов – одномерного и многомерного. В ходе одномерного анализа вычисляется значение соотношения шансов и его 95% доверительный интервал для каждого потенциального фактора воздействия (фактора риска или защитного фактора). При этом устанавливаются факторы, показавшие статистическую значимую связь с ТБ (95% доверительный интервал соотношения шансов не содержит 1; значение  $p$  меньше 0,05). Полученные значения соотношения шансов являются грубыми (crude OR), они не учитывают влияния смешивающих факторов. Чтобы определить независимое влияние воздействующих факторов на исход, то есть получить уточненное значение соотношения шансов (adjusted OR), на этапе анализа данных используются несколько методов многомерного анализа данных (стратифицированный анализ – stratified analysis, логистическая регрессия – logistic regression, анализ на основе уровня склонности – propensity score analysis). Из этих методов наибольшее распространение получила логистическая регрессия.

Для анализа данных, полученных от спаренных случаев и контролей (matched case-control study), используются стратифицированный анализ категориальных данных Мантеля-Хензеля и условная логистическая регрессия [73]. Перечисленные методы статистического анализа применены в настоящем исследовании.

### 3 Результаты реализации полевых исследований в изучаемых регионах Казахстана

#### 3.1 Общие количественные результаты выполненных полевых исследований

В 2013 г. на территории г. Алматы, Алматинской, Костанайской, Кызылординской областей в основное исследование набрано 773 человек соответствующих критериям отбора: а) согласившихся принять участие в исследовании; б) имеющих постоянное место жительства и адрес, по которому проживают не менее 3 месяцев; с) имеющих контактных; d) не имеющих психических и когнитивных нарушений; d) свободно владеющих казахским или русским языком. Осуществлен компьютеризированный опрос в Датстат, заполнение индивидуальной регистрационной карты участника (ИРК), сбор и транспортировка венозной крови (754 образца) и ДНК *M.tuberculosis* (37 образцов) в ЦНЖ НУ, в г.Астана. Отказались от сдачи венозной крови 19 человек. В соответствии с протоколом исследования, процедура сдачи венозной крови является добровольной и отказ не является критерием исключения из проекта.

Всего за весь период реализации полевой фазы исследования рекрутировано 955 участников исследования в 4-х регионах, проведен их компьютеризированный опрос в Датстат, заполнена форма ИРК, осуществлен сбор венозной крови (936 образцов) и существующая культура МБТ (55 образцов). Согласно протоколу исследования на всех участников исследования получены формы информированного согласия. Результаты и объем выполненных полевых исследований представлен в таблице 3.

Таблица 3 – Результаты выполненных полевых работ в количественном выражении

| Объекты исследования                                                                | 2012 г.    | 2013 г.    | Всего       |
|-------------------------------------------------------------------------------------|------------|------------|-------------|
| Основное исследование (интервью, сбор биоматериала)                                 |            |            |             |
| Участники исследования                                                              | 182 (чел.) | 773 (чел.) | 955 ( чел.) |
| Образцы венозной крови                                                              | 182 (шт.)  | 754 (шт.)  | 936 (шт.)   |
| Образцы культуры <i>M.tuberculosis</i>                                              | 18 (шт.)   | 37 (шт.)   | 55 (шт.)    |
| Субкомпонент исследования (сбор культуры <i>M.tuberculosis</i> для генотипирования) |            |            |             |
| Образцы культуры <i>M.tuberculosis</i>                                              | 44 (шт.)   | 281 (шт.)  | 325 (шт.)   |

Всего проведено 1440 интервью с выездом в районы выборки изучаемых регионов (таблица 4).

Таблица 4 – Количество проведенных оценочных интервью в Датстат

| Оценочное интервью                       | Количество  |
|------------------------------------------|-------------|
| Базовое интервью (baseline)              | 955         |
| Интервью 6 месяцев (6 month follow-up)   | 344         |
| Интервью 12 месяцев (12 month follow-up) | 141         |
| Всего                                    | <b>1440</b> |

Для проведения проспективного исследования когорты в г.Алматы и Алматинской области осуществляются выезды полевой команды для проведения 6- и 12-ти месячных интервью. Анкета для шести- и двенадцатимесячных интервью была адаптирована, переведена на казахский и английский языки, запрограммирована в Датстат. Всего проведено 344 шестимесячных и 141 двенадцатимесячных интервью участников, рекрутированных в исследование в 2012 г. и 1 квартале 2013 г.

Рекрутинг индекс-участников и семейного контроля в 4-х изучаемых регионах осуществлялся совместно с исполнителями проекта, прошедшими обучение процедурам исследования и этическим аспектам на тренинге.

В апреле-мае 2013 г. проект был распространен на Костанайскую и Кызылординскую области. В Костанайской и Кызылординской областях проводится исследование случай-контроль, включающее базовое интервью и забор биоматериала. В данных регионах исключено наблюдение участников исследования в течение года.

К 25 октября 2013 года в исследование набрано в г. Алматы – 92 человека, в Алматинской области – 324 человек; Костанайской области – 235 человек; Кызылординской области - 304 человек.

Этапы рекрутинга и причины не включения в проект отражены на рисунке 3.

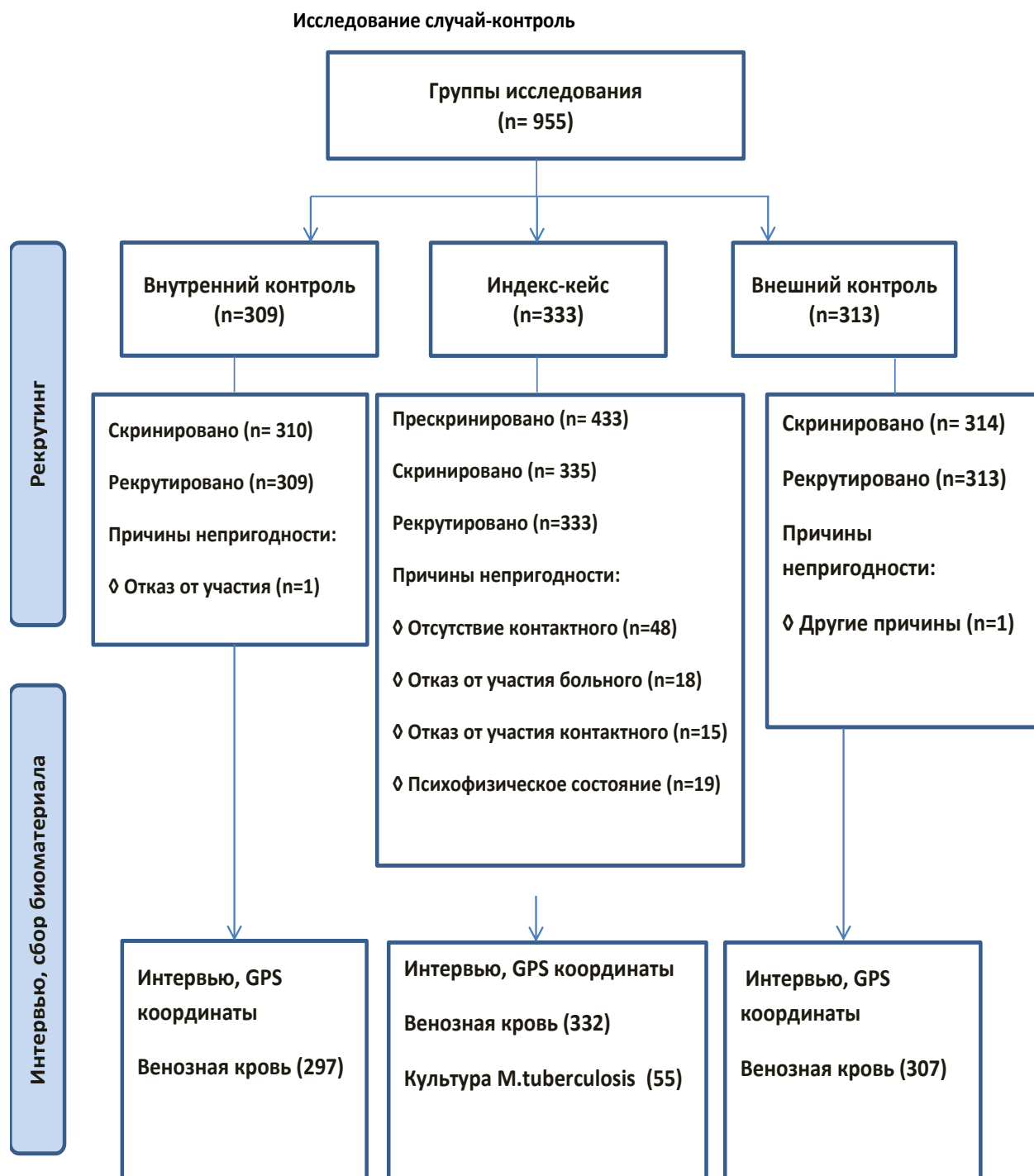


Рисунок 3 – Рекрутинг участников исследования, сбор информации и биобразцов

Процесс рекрутинга и распределение участников в разрезе регионов представлено на рисунке 4.



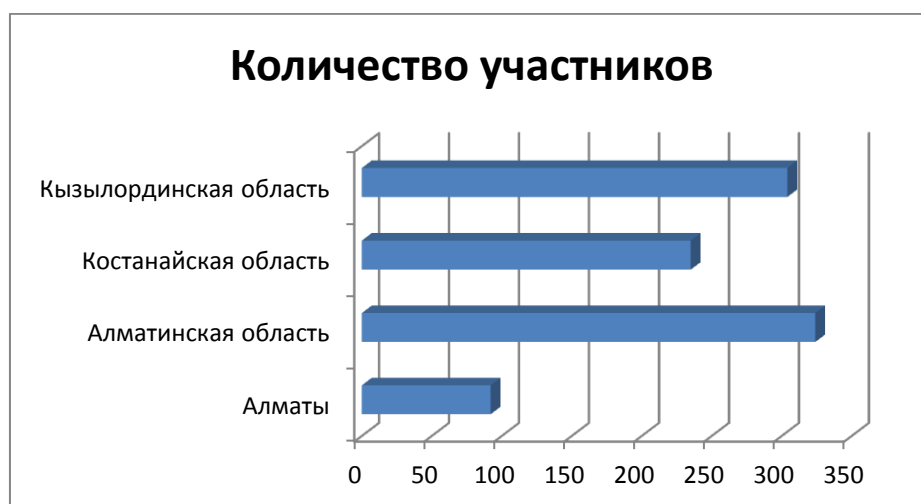


Рисунок 4 – Распределение количества участников исследования по регионам (на 25.10.2013)

### 3.2 Набор участников исследования в г.Алматы и Алматинской области

В Алматинской области работа осуществлялась совместно с координатором по клинике Областного противотуберкулезного диспансера г.Талдыкорган Копбосыновой Д.Д., в г.Алматы с заместителем главного врача по клинике Межрайонного противотуберкулезного диспансера Сапиевой Ж.А..

Согласно протокола исследования, нами получены списки потенциальных индекс-участников, включавшие в себя зарегистрированные новые случаи легочного туберкулеза. Распределение участников исследования по месту проживания представлено в таблице 5,6.

Таблица 5 – Распределение участников по месту проживания в г.Алматы

| г.Алматы<br>(районы выборки) | Индекс-случаи | Всего<br>(индекс-случаи и 2 контроля) |
|------------------------------|---------------|---------------------------------------|
| Алатауский район             | 11            | 22                                    |
| Алмалинский район            | 6             | 13                                    |
| Ауэзовский район             | 4             | 10                                    |
| Жетысуский район             | 3             | 6                                     |
| Медеуский район              | 5             | 13                                    |
| Турксибский район            | 3             | 9                                     |
| Бостандыкский район          | 8             | 19                                    |
|                              | 40            | 92                                    |

Таблица 6 – Распределение участников исследования по месту проживания в Алматинской области

| Алматинская область<br>(районы выборки) | Индекс-случаи | Всего<br>(индекс-случаи и 2 контроля) |
|-----------------------------------------|---------------|---------------------------------------|
| Алакольский район                       | 14            | 42                                    |
| Балхашский район                        | 8             | 22                                    |
| Енбекшиказахский район                  | 54            | 159                                   |
| Жамбылский район                        | 10            | 29                                    |
| Саркандский район                       | 8             | 24                                    |
| г.Капчагай                              | 16            | 48                                    |
| Всего                                   | 110           | 324                                   |

Рекрутинг индекс-участников осуществлялся в следующих организациях здравоохранения:

1. Межрайонный противотуберкулезный диспансер г.Алматы
2. Областной туберкулезный диспансер г.Талдыкорган Алматинской области
3. Алматинский региональный туберкулезный диспансер г.Талгар Алматинской области
4. Поликлиника при туберкулезной больнице с. Кабанбай Алматинской области
5. Туберкулезный кабинет при Центральной Районной Больнице Енбекшиказахского района Алматинской области
6. Врачебная амбулатория при туберкулезной больнице с.Шилек Алматинской области
7. Туберкулезный кабинет при Городской больнице г.Капшагай Алматинской области
8. Туберкулезный кабинет при Центральной районной больнице Жамбылского района

В Алматинской области набор новых участников исследования завершен в апреле 2013 г. в связи с необходимостью отслеживания рекрутированных участников в течение года для проведения 6-ти и 12-ти месячных интервью. Комплекс данных по Алматинской области, собранных в результате базового интервью, анализа генетического типирования биобразцов, выкопировки клинико-лабораторной информации взят в анализ для подготовки статьи в международный журнал с импакт-фактором.

В г. Алматы продолжается рекрутинг новых участников исследования. Вместе с тем, преобладание среди больных туберкулезом внутренних мигрантов и как следствие отсутствие постоянного места проживания и семейного контактного затрудняет процесс рекрутинга.

### 3.3 Реализация проспективного когортного исследования в г.Алматы и Алматинской области

#### *Шестимесячные интервью участников исследования*

В рамках проспективного исследования когорты на территории г.Алматы и Алматинской области проводятся 6-ти месячные интервью (6 month follow-up). Целью проведения 6-ти месячного интервью является сравнительная оценка и характеристика изучаемых переменных (демографические, социально-экономические, поведенческие и т.д.), эволюция случая, заражение контактных, исходы лечения, социальная адаптация больных ТБ, наличие стигмы, удовлетворенность лечением. Для этих целей нами адаптирована и отработана с казахстанскими и зарубежными консультантами шестимесячная анкета.

Внесены новые вопросы в раздел «Туберкулез» касающиеся диспансерного наблюдения, фазы противотуберкулезного лечения, удовлетворенности лечением, наличие побочных эффектов к противотуберкулезным препаратам, приверженности лечению, перерывам лечения, срокам обращения при появлении симптомов заболевания, срокам постановки диагноза, срокам взятия на лечение, работу с контактными в очагах инфекции, социальной поддержки и адаптации.

Также в 6-ти месячную анкету включен краткий опросник ВОЗ для оценки качества жизни WHOQOL-BREF. Опросник WHOQOL-BREF (The World Health Organization Quality Of Life (Whoqol) –Bref) состоит из 26 пунктов, которые оценивают следующие области: физическое здоровье, психологическое здоровье, социальные отношения и окружающую среду. Международный стандартизованный опросник используется в крупных научных исследованиях или клинических испытаниях.

Также в анкету были внесены скипы (переходы) с тем, чтобы избежать повторного ответа на вопросы, которые уже были отвечены участником во время базового интервью и не претерпели изменений в течение последних 6-ти месяцев. Например: если состав семьи

участника за последние 6 месяцев не изменился, он автоматически переходит к следующему вопросу анкеты.

Анкета переведена на казахский и английский языки, запрограммирована в программе Датстат и протестирована.

За отчетный период проведено 344 шестимесячных интервью. Интервью проводятся с выездом к месту проживания участников. Каждый участник получает компенсацию в размере 2250 тг за потраченное время. Процент удержания участников составляет 92%. Так, из 344 участников не прошли 6 месячное интервью 29 человек. Из них в г.Алматы - 7 человек; Алматинской области- 22 человек. Причинами являются смена контактных телефонов и адреса проживания (17 чел.), отказ от дальнейшего участия в исследовании (9 чел.), психофизическое состояние, не позволяющее пройти анкетирование (2 чел.), умер - 1. Из них, по группам: индекс-участников – 11 человек; контактных – 10 человек; внесемейных контролей – 8 человек.

#### *Двенадцатимесячное интервью участников исследования*

С целью отслеживания участников в течение года нами осуществлена подготовка к проведению 12 месячных интервью. Целью данного интервью является оценка исходов и эффективности лечения для индекс-случаев, сравнительная оценка и характеристика комплекса изучаемых переменных в 3-х группах исследования.

После согласования с казахстанскими и зарубежными консультантами внесены новые вопросы в раздел «Туберкулез» касающиеся исходов лечения, социальной адаптации больного. Также был изменен порядок разделов анкеты и внесены необходимые скипы (переходы). Анкета была переведена на казахский и английский языки, запрограммирована в программе Датстат и протестирована.

На настоящий момент проведено 141 двенадцатимесячных интервью. Каждый участник получает компенсацию в размере 2250 тг за потраченное время. Процент удержания участников составляет 88%. Так, из 141 участников не прошли 12 месячное интервью 20 человек. Из них в г.Алматы - 2 человек; Алматинской области- 18 человек. Причинами являются смена контактных телефонов и адреса проживания (5 чел.), переезд – 8 человек, отказ от дальнейшего участия в исследовании (5 чел.), психофизическое состояние, не позволяющее пройти анкетирование (1 чел.), умер (1). Из них, по группам:

индекс-участников – 6 человек; контактных – 6 человек; внесемейных контролей – 8 человек.

### 3.4 Организация полевых работ и формирование групп участников исследования в Костанайской области

С целью запуска полевых исследования в Костанайской области осуществлены два выезда сотрудников ЦИГЗЦА и НЦПТ. Во время визитов обсуждены и решены организационные вопросы связанные с поиском сотрудников на полную занятость, размещением и оборудованием полевого офиса, процедур транспортировки образцов цельной крови из городов Костанай и Аркалык в г.Астана, распределении ответственности и функциональных обязанностей полевых исполнителей. Так, ответственным за соблюдение процедур и протокола исследования в регионе является главный врач ОПТД Исаков И.С.; за работу с районными диспансерами, обеспечение доступа в противотуберкулезные учреждения области, составление маршрута и плана рекрутинга заведующая организационно-методическим отделом ОПТД Жабагина Г.С..

Врачи-фтизиатры из всех районных диспансеров области обучены в рамках тренинга «Recruitment process, field operations and ethics in the TB project», проведенного в г.Костанай 25 февраля 2013 г. Роль районных врачей-фтизиатров заключается в информировании и привлечении больных новыми случаями ТБ, проживающих в районах выборки, заполнении форм прескрининга с целью определения пригодности к исследованию.

Для поиска сотрудников проекта в регионе проведено 14 интервью с кандидатами и на конкурсной основе выбраны 3 человека: координатор по рекрутингу, медицинская сестра и водитель с собственным автотранспортом.

Во время визита состоялась официальная встреча с начальником Управления здравоохранения Акимата Костайской области Бекмагамбетовым Оралом Айтбаевичем. Целью встречи явилось информирование местных органов управления о проведении на территории области научно-технической программы и необходимость получения содействия в реализации исследования. Со стороны Управления здравоохранения была выражена заинтересованность в сотрудничестве и готовность оказания поддержки в реализации исследования.

Практическими сложностями проведения исследования в Костанайской области является отдаленность сайта от основного расположения офиса ЦИГЗЦА (г.Алматы) и следовательно затрудненность постоянного контроля качества сбора данных и выполнения полевых работ. В связи с тем, что сотрудники, привлеченные (врачи ОПТД) и нанятые на полную занятость в регионах (полевой штат ЦИГЗЦА), не имеют соответствующего опыта проведения подобных исследований, предполагающих соблюдения всех исследовательских и этических процедур. Учитывая это, координатор по рекрутингу ЦИГЗЦА, имеющий опыт запуска данного исследования в г.Алматы и Алматинской области провел 2-х недельное обучение для координатора по рекрутингу и медицинской сестры. В течение 2-х недель осуществлялись совместные выезды, в рамках которых отработан алгоритм набора участников и сбора информации, механизм взаимодействия с врачами противотуберкулезных диспансеров, проведено обучение новых сотрудников практическим вопросам рекрутинга в 3-х изучаемых группах, заполнению проектных форм, получению информированного согласия, работе в Датстат. Совместно отработаны процедуры транспортировки биобразцов (венозной крови) из г.Костанай в г.Астана. Новые сотрудники прошли сертификацию по этике Колумбийского университета, в том числе медицинская сестра прошла дополнительный тест по инфекционному контролю.

С целью контроля качества сбора материала и формирования групп участников поддерживается постоянная связь с полевым офисом, проводятся регулярные скайп-колла, ведутся формы отчетности, осуществляется контроль качества заполнения баз исследования.

Выезды осуществляются в районы выборки согласно отработанного и утвержденного плана рекрутинга на 2013 г. Работа по рекрутингу больных ТБ ведется совместно с заведующей диспансерным отделением Костанайского противотуберкулезного диспансера Жумабаевой З.Е.. Всего за отчетный период в исследование вошли 235 человек (рисунок 5, таблица 7).

Рисунок 5 – Распределение участников исследования по Костанайской области на 25.10.2013, (n=235)

Таблица 7 - Распределение индекс-участников по районам выборки Костанайской области

| Костанайская область<br>(районы выборки) | Индекс-случаи | Всего<br>(индекс-случаи и 2 контроля) |
|------------------------------------------|---------------|---------------------------------------|
| г. Костанай                              | 24            | 71                                    |
| г. Рудный                                | 6             | 17                                    |
| г. Аркалык                               | 5             | 15                                    |
| г.Лисаковск                              | 3             | 8                                     |
| Наурзумский район                        | 5             | 15                                    |
| Федоровский район                        | 4             | 12                                    |
| Мендыкаринский район                     | 8             | 23                                    |
| Жетыкаринский район                      | 10            | 30                                    |
| Костанайский район                       | 15            | 44                                    |
| Всего                                    | 80            | 235                                   |

Исследование проводится на базе следующих диспансеров и организаций здравоохранения:

1. Областной противотуберкулезный диспансер г.Костанай
2. Аркалыкский региональный противотуберкулезный диспансер

3. Рудненский противотуберкулезный диспансер
4. Затобольская межрайонная противотуберкулезная больница
5. Туберкулезные кабинеты при Центральных районных больницах исследуемых районов

### 3.5 Организация полевых работ и формирование групп участников исследования в Кызылординской области

После запуска исследования в Костанайской области, была проведена организационная работа по распространению полевой фазы на Кызылординскую область. В результате обсуждения посредством скайп-коллов проблемных вопросов с партнерами из ОПТД г.Кызылорды была утверждена программа, дата, список участников, место проведения тренинга.

В апреле 2013 г. осуществлен выезд в г.Кызылорду сотрудников ЦИГЗЦА. Состоялась встреча с главным врачом ОПТД Аблазим А.А., заместителем начальника Управления здравоохранения Акимата Кызылординской области. Целью встречи явилось предоставление информации о целях и задачах научно-технической программы, механизмах реализации на территории области. Проект получил поддержку со стороны государственных органов области.

29 апреля 2013 г. организован тренинг с получением сертификата «Recruitment process, field operations and ethics in the TB project» для 14 врачей Кызылординской области на базе ГУ «Кызылординский областной противотуберкулезный диспансер». В рамках тренинга проведено обучение протоколам исследования, этическим аспектам, критериям пригодности и скрининга.

Во время визита на конкурсной основе в проект были наняты медицинская сестра и водитель. Вследствии отсутствия кандидатов с необходимой квалификацией и опытом на должность рекрутера, учитывая сложности возникшие с транспортировкой биобразцов в летнее время года из отдаленных районов области, высокую заболеваемость ТБ в регионе было принято решение о переводе штатного сотрудника - рекрутера ЦИГЗЦА в г.Кызылорду.

На месте решен вопрос с поиском и оборудованием полевого офиса. Закуплено дополнительное полевое оборудование с программой DatStat и передано исполнителям



проекта. Отработан механизм транспортировки биоматериала, учитывая суровые климатические условия и высокую среднюю температуру воздуха в летнее время.

Во время встречи обсуждены функциональные обязанности исполнителей и ответственность по проекту.

Ответственными за менеджмент исследования, соблюдение процедур и протокола исследования в данном регионе являются главный врач ОПТД г.Кызылорды Аблазим А.А.; ответственным за работу с районными диспансерами и обеспечение доступа к больным и биоматериалу является заместитель главного врача ОПТД Сариева У.М., ответственным за предоставление списков больных и заполнению ИРК заведующая организационно-методическим отделом ОПТД Абишева Б.К..

Выезды осуществляются в районы выборки согласно отработанного и утвержденного плана рекрутинга на 2013 г. Распределение участников по месту проживания представлено на рисунке 6.

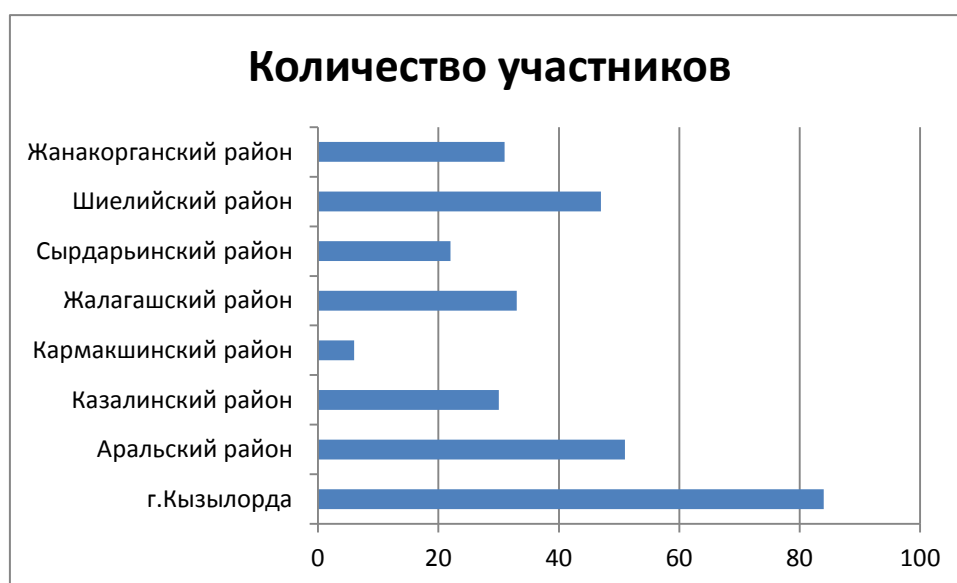


Рисунок 6 – Распределение участников исследования по Кызылординской области на 25.10.2013, (n=304)

Всего за отчетный период в исследование вошли 304 человека, из них 103 индекс-участника (таблица 8).

Таблица 8 - Распределение индекс-участников по районам выборки  
Кызылординской области

| Кызылординская область<br>(районы выборки) | Индекс-случаи | Всего<br>(индекс-случаи и 2 контроля) |
|--------------------------------------------|---------------|---------------------------------------|
| г.Кызылорда                                | 28            | 84                                    |
| Аральский район                            | 17            | 51                                    |
| Казалинский район                          | 10            | 30                                    |
| Кармакшинский район                        | 2             | 6                                     |
| Жалагашский район                          | 11            | 33                                    |
| Сырдарьинский район                        | 8             | 22                                    |
| Шиелийский район                           | 16            | 47                                    |
| Жанакорганский район                       | 11            | 31                                    |
| Всего                                      | 103           | 304                                   |

Рекрутинг больных новыми случаями ТБ проводится на базе следующих медицинских учреждений и организаций области:

1. Областной противотуберкулезный диспансер
2. Городской противотуберкулезный диспансер
3. Аральский противотуберкулезный диспансер
4. Казалинский противотуберкулезный диспансер
5. Кармакшинский противотуберкулезный диспансер
6. Шиелинский противотуберкулезный диспансер
7. Жанакорганский противотуберкулезный диспансер
8. Туберкулезные кабинеты при Центральных районных больницах исследуемых районов

Таким образом, в настоящее время ведется дальнейшее формирование групп исследования (больные ТБ и их контроли), сбор биоматериала 4-х регионах исследования. Осуществляется постоянный контроль качества над сбором данных и транспортировкой биоматериала.

### 3.6 Сбор и транспортировка биобразцов (венозной крови)

Забор крови осуществляется согласно протоколу исследования, сотрудниками ЦИГЗЦА имеющими соответствующую сертификацию по этике и инфекционному контролю. Забор проводится в два вакутейнера объемом 9 мл по 4 мл венозной крови в

каждую. Пробирки, а также иглы и держатели к ним получены от ЦНЖ. Собранная кровь хранится при температуре +4. С момента забора образца от участника до помещения в стационарный холодильник ЦИГЗЦА пробирки находятся в сумке с хладоэлементами, обеспечивающей данный температурный режим. Пробирки маркируются с указанием уникального персонального кода (ID) участника. На каждый образец крови заполняется индивидуальная регистрационная карта участника

### 3.7 Безопасность исследователей

При проведении компьютеризированного опроса и сбора венозной крови среди индекс-участников, согласно требованиям инфекционного контроля в противотуберкулезных учреждениях города и области исследователи (координаторы по рекрутингу, медицинские сестры) были обеспечены индивидуальными средствами защиты: одноразовые халаты, шапочки и респираторы марки «KleenGuard, respirator FFP2D, M20, EN 149:2001 FFP2D». После работы средства защиты утилизируются в специальную корзину.

### 3.8 Реализация субкомпонента исследования в изучаемых областях

С целью дополнительного набора культуры МБТ больных новыми случаями ТБ и создания банка ДНК продолжен сбор культуры и клинико-лабораторной информации в 4-изучаемых регионах. Заполнены ИРК и собрана культура МБТ 281 больных новыми случаями ТБ (таблица 9). Образцы культуры МБТ данных участников транспортированы из региональных противотуберкулезных диспансеров в референс лабораторию НЦПТ МЗ РК (г.Алматы). Сотрудниками референс лаборатории НЦПТ выделено 281 ДНК МБТ, которые в дальнейшем были транспортированы в лабораторию геномики ЦНЖ (г.Астана).

Всего в рамках субкомпонента исследования осуществлен сбор клинико-лабораторной информации и культуры *M.tuberculosis* 325-х больных новыми случаями ТБ в изучаемых регионах Казахстана, из них г.Алматы (68); Алматинской области (32); Костанайская область (114); Кызылординской область (111). Осуществлен сбор и транспортировка из изучаемых регионов 325 образцов культуры *M.tuberculosis* в НРЛ НЦПТ (г.Алматы). В НРЛ НЦПТ из всех образцов выделено ДНК *M.tuberculosis*, которые

в последующем доставлены в лабораторию геномики ЦНЖ НУ (г.Астана) с соблюдением правил техники безопасности и температурного режима.

Таблица 9 – Количество культур МБТ в разрезе регионов

| Регион                 | 2012 г. | 2013 г. | Всего |
|------------------------|---------|---------|-------|
| г.Алматы               | 8       | 60      | 68    |
| Алматинская область    | 5       | 27      | 32    |
| Кызылординская область | 20      | 91      | 111   |
| Костанайская область   | 11      | 103     | 114   |
| Итого                  | 44      | 281     | 325   |

Ответственными за сбор клинической и лабораторной информации и сбор культуры МБТ в рамках субкомпонента исследования являются врачи-фтизиатры ПТД г.Алматы, г.Талдыкорган, Кызылорды и Костанай прошедшие обучение исследовательским процедурам на тренинге 7-8 июня 2012 г. и имеющие сертификацию по этике Колумбийского университета. Протокол субкомпонента исследования одобрен этическими комитетами НЦПТ МЗ РК и ЦНЖ НУ.

#### 4 Контроль качества, выделение и транспортировка ДНК *M.Tuberculosis*

##### *Контроль качества образцов культур МБТ, поступавших в НРЛ НЦПТ*

В процессе реализации проекта в Национальной референс-лаборатории НЦПТ МЗ РК постоянно проводился контроль качества и всесторонний анализ культур микобактерий туберкулеза, доставляемых из пилотных регионов.

В частности, тщательно проверялись сопроводительные формы-заявки и культуры микобактерий туберкулеза в биксе, доставляемые курьером из различных регионов Казахстана на предмет идентичности (номер образца должен совпадать с номером, указанным в форме-заявке) до приема культур микобактерий туберкулеза в лабораторию.

При получении образцов они внимательно просматривались лаборантами на предмет герметичности пробирок, качества и количества переданного материала, наличия и совпадения номеров культур с переданным списком индекс участников; оценивается также количество, качество, цвет, размеры и другие характеристики колоний микобактерий туберкулеза в каждой пробирке. При достаточном количестве материала проводилось выделение ДНК МБТ и ее замораживание с последующим кодированием индивидуальных данных, внесение информации в журнал регистрации.

##### *Выделение ДНК *M.Tuberculosis**

За отчетный период в Национальную референс лабораторию НЦПТ было доставлено 356 направлений с соответствующим патологическим материалом. После сопоставления номеров в списках с соответствующими номерами на пробирках с культурами, проведенного контроля качества и, в ряде случаев, последующего пересева на среду Левенштейна Йенсена, выделение ДНК *M.tuberculosis* стало возможным только из 318 культур от больных новыми случаями туберкулеза. Все выделенные ДНК были транспортированы в лабораторию геномики ЦНЖ Назарбаев университета.

Наибольшее количество патологического материала для выделения ДНК *M.tuberculosis* было предоставлено из противотуберкулезных учреждений Костанайского (150 направлений от индекс участников ) и Кызылординского (103 направления от индекс участников) регионов.

Ниже представлено детальное описание поступивших культур и дифференцированная работа, проведенная на базе НРЛ НЦПТ МЗРК по *регионам*.

### *Кызылординская область*

Из Кызылординского областного противотуберкулезного диспансера поступила 101 культура *M.tuberculosis* с соблюдением правил техники безопасности и температурного режима. Проведенный осмотр не выявил каких-либо отклонений в количестве и качестве представленного патологического материала. Пробирки были закупорены, упакованы в абсорбирующий материал и помещены в бикс. Пробирки с культурой МБТ были надписаны с указанием фамилии, инициалов и лабораторного номера, во всех образцах было достаточно материала для выделения ДНК. Но в последующем, в партии №4 в биксе, вместо 20 пробирок находилось 18, то есть количество не соответствовало переданному списку, отсутствовали культуры от больных с закодированными номерами: LAK2678м LHA1823м. Поэтому, в последующем выделение ДНК *M.tuberculosis* проведено из культур от 99 больных (таблица 10).

Таблица 10 - Сравнительные данные по культуре и ДНК *M.tuberculosis* в разрезе изучаемых регионов

| Количество/<br>регионы | Алматы | Алматинская<br>область | Кзылординская<br>область | Костанайская<br>область | Итого |
|------------------------|--------|------------------------|--------------------------|-------------------------|-------|
| Получено<br>культур    | 65     | 38                     | 101                      | 150                     | 354   |
| Выделено<br>ДНК        | 62     | 37                     | 99                       | 120                     | 318   |
| Отправлено<br>ДНК      | 62     | 37                     | 99                       | 120                     | 318   |

### *Костанайская область*

Из ОПТД г.Костанай было доставлено наибольшее количество материала для исследований от индекс участников проекта и, в то же время именно из этого региона было забраковано наибольшее количество культур, даже после пересева из жидкой среды на твердую- Левенштейна Йенсена.

В первой партии культуры качественными по всем параметрам были 9 культур *M.tuberculosis*, доставленных 01.02.13. Пробирки были закупорены, упакованы в абсорбирующий материал и помещены в бикс. Пробирки с культурой МБТ были надписаны с указанием фамилии, инициалов и лабораторного номера, во всех образцах было достаточно материала для выделения ДНК. Замечаний нет. ДНК была выделена 20.03.13. В последующем, во второй партии материала, доставленного 26.03.2013г из восьми заявленных образцов для исследований, имелись в биксе – семь. В третьей партии

материала, доставленного 15.05.2013г из 54 заявленных образцов качественными для дальнейших исследований оказались 38 культур. 20 культур были пересеяны на твердые среды Левенштейна Йенсена, но 13 из них не выросли - повлияло исходное плохое качество материала; одна культура была доставлена высохшей, одна с проростом и одна пробирка на заявленного индекс участника отсутствовала. В четвертой партии, доставленной с соблюдением температурного режима, в качественной упаковке из 37 заявленных культур фактически имелись -36, не было культуры под номером - МЛ1917м. В пятой партии, доставленной также 02.07.2013г. из 42 заявленных культур для исследования, пригодными оказались – 30. Причем 29 культур были доставлены в жидком состоянии, поэтому они были пересеяны, одиннадцать из них не выросли; один образец культуры на заявленного индекс участника отсутствовал.

#### *Алматинская область*

Из РПТД г. Талгар в НРЛ поступили культуры *M.tuberculosis* 4 партиями. Все образцы осмотрены на предмет качества и количества переданного материала, информация внесена в журнал регистрации. Выделение ДНК *M.tuberculosis* проведено из культур 16 больных туберкулезом легких и образцы ДНК отправлены для последующего генотипирования в ЦНЖ НУ.

Из ОПТД г. Талдыкорган тремя партиями были доставлены культуры МБТ от пяти, шести и одиннадцати больных, соответственно 21.01.13 и 15.03.13 и 24.05.13. ДНК МБТ первой партии были выделены 05.02.13, второй – 20.03.13 г и третьей -13.06.13г. В первой партии не было пробирки с культурой одного больного туберкулезом. Проведено описание и просмотр качества культур. На дальнейшее молекулярно-генетическое исследование в ЦНЖ НУ отправлена - 21 ДНК МБТ.

#### *г. Алматы*

За истекший период времени из ГПТД г. Алматы в НРЛ НЦПТ были доставлены списки на 65 больных с впервые выявленным туберкулезом и соответствующий материал в биксах. Однако, в партии материала от 28.12.2012 г. доставленного в НЦПТ МЗ РК пригодными для работы оказались 17 культур вместо 20-ти. Две пробирки с культурой МБТ были с проростом (SEЖ16068,SXC14304), одна пробирка с кодом - SJA16629, не была доставлена. Поэтому общее количество выделенных ДНК составило 62 .

В процессе реализации научно-технической программы: «Картирование эко-социальных и генетических факторов, определяющих восприимчивость к туберкулезу населения Республики Казахстан» в регионах, с участниками НТП постоянно обсуждались проблемные вопросы, анализировались и уточнялись списки индекс участников, номера, качество и количество культур микобактерий туберкулеза.

Таким образом, в рамках исследования было осуществлено выделение 318 ДНК *M.tuberculosis* из культуры 318-х больных с впервые выявленным туберкулезом легких и осуществлена их транспортировка в лабораторию геномики ЦНЖ НУ г. Астана



## 5 Результаты реализации генетического компонента исследования и их обсуждение

### Выделение ДНК

Из 840 образцов венозной крови проведено выделение геномной ДНК, на основе которых идет формирование и пополнение банка геномной ДНК. Далее проведено измерение концентрации выделенной ДНК (Рисунок 7).

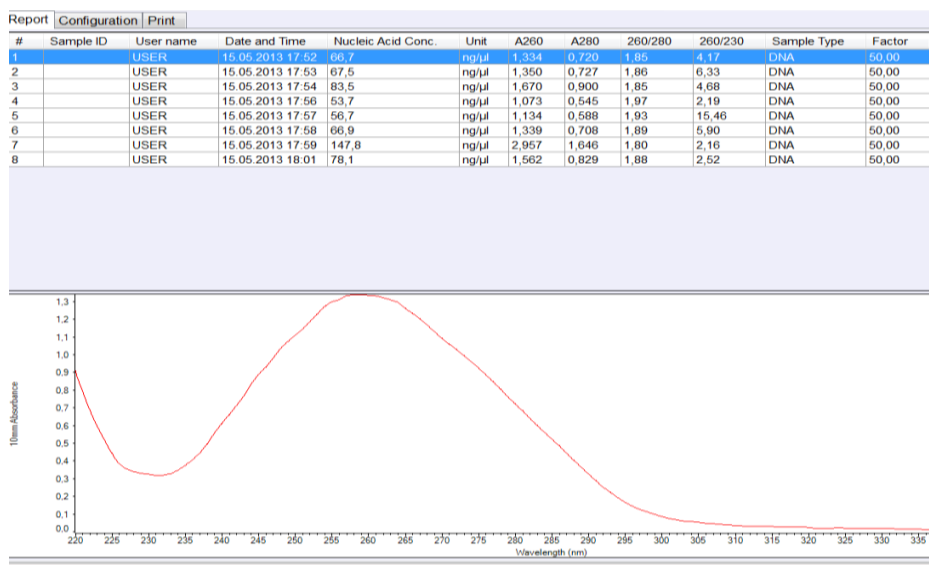


Рисунок 7 – Измерение концентрации геномной ДНК и определение степени чистоты ДНК

Как видно на рисунке 7 концентрация выделенной геномной ДНК составляла в среднем 70-80 ng/ul, степень чистоты оценивалась отношением 260/280 и находилась в пределах 1,8-2,0. Показатели ОД260/280 характеризизуют высокое качество выделенной ДНК, показатели ниже 1,8 и выше 2,0 свидетельствуют о наличие посторонних примесей таких как деградированная РНК, остатки клеточной стенки и т.д. На следующем этапе проводилась нормализация рабочей коллекции ДНК, которая готовилась разведением стоковых растворов на аликвоты геномной ДНК с концентрацией 5-10 ng/ul.

### Генотипирование геномной ДНК человека

Генетические варианты определяют восприимчивость организма человека к различным заболеваниям инфекционной природы. Восприимчивость к *M.tuberculosis* опосредована широким спектром иммунокомпетентных клеток и продуцируемых ими цитокинов. Поэтому большинство инфицированных *M.tuberculosis* остаются вполне здоровыми благодаря имеющемуся у них протективному иммунитету. На данном этапе

исследования наше внимание было сфокусировано на 5 SNP маркерах – FokI(rs2228570), ApaI (rs7975232), TaqI (rs731236), IL1(rs16944) и TLR8(rs3764880) по литературным данным, имеющих ассоциации с риском развития заболевания и требующего дальнейшего исследования, в том числе и в казахской популяции.

За отчетный период в работе были использованы 840 образцов геномной ДНК. У всех 840 образцов была проведена нормализация концентрации ДНК с целью подготовки рабочей коллекции.

По 2 полиморфизмам: IL1(rs16944), TLR8(rs3764880). 182 образца типированы. Результаты генотипирования, полученные по 2 маркерам представлены на рисунке 8

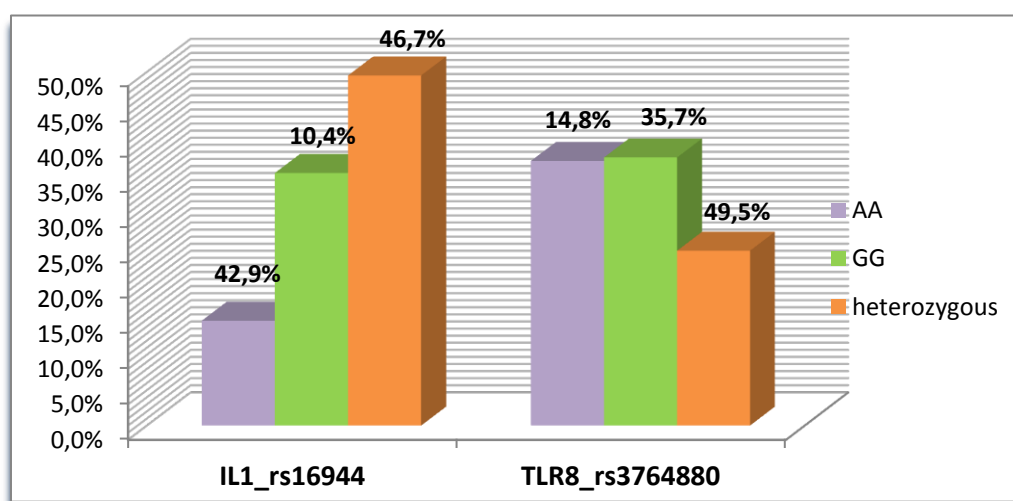


Рисунок 8 – Распределение генотипов по генетическим маркерам IL1(rs16944), TLR8(rs3764880).

Таким образом, преобладающим генотипом по SNP маркеру IL1(rs16944) был гетерозиготный вариант (49,5%), по SNP маркеру TLR8(rs3764880) – преобладали 2 варианта AA генотип (37,4%) и GG генотип (37,9%). Исследование индонезийских(OR=1,8) и российских(OR=1,2) больных туберкулезом привело к выводу, что минорный (A) аллель TLR8(rs3764880) связан с повышенным риском развития туберкулеза (Davila et al., 2008).

Генотипирование 3 полиморфизмов гена VDR FokI(rs2228570), ApaI (rs7975232) и TaqI (rs731236) было проведено на 631 образце геномной ДНК. 406(304)+225(220) Из данного числа протипированных образцов в анализ на современном этапе были взяты

результаты по 525 образцам. Распределение по группам исследуемой выборки представлено в таблице 11.

Таблица 11 – Распределение исследуемой выборки по группам.

|                          | г.Алматы | Алматинская область | г.Кызылорда | Всего |
|--------------------------|----------|---------------------|-------------|-------|
| Всего образцов           | 54 (10%) | 251 (48%)           | 220 (42%)   | 525   |
| Экспериментальная группа | 21 (11%) | 87 (47%)            | 76 (41%)    | 184   |
| Контрольная группа       | 33 (10%) | 164 (48%)           | 144 (42%)   | 341   |

Определение аллельной дискриминации проводилось методом ПЦР в режиме реального времени.

На рисунке 9 представлен анализ аллельной дискриминации по SNP маркеру FokI(rs2228570).

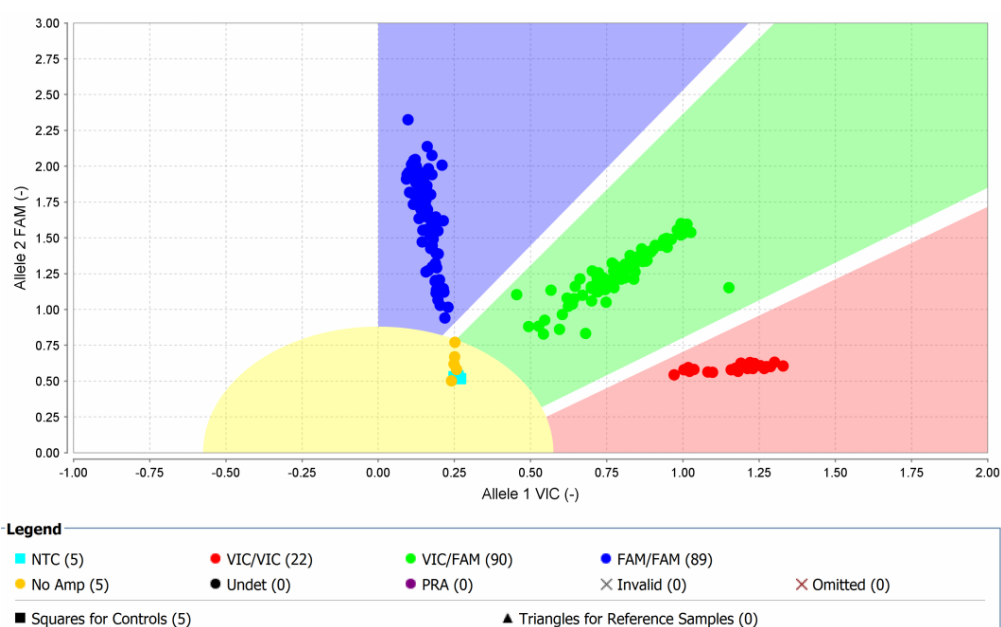


Рисунок 9 – Результаты распределения генотипов на примере SNP маркера FokI(rs2228570).

Отметим что FokI(rs2228570) известен высокой ассоциацией F аллеля ( $OR=2,02$ ) с пародонитом в исследованиях китайских пациентов (Li et al., 2008). Тогда как IL1(rs16944) более известен тем, что восприимчивость к остеоартриту увеличивается 1,80 раза для гетерозигот (AG) и 2,90 раза для гомозигот (AA) (Meulenbelt et. al., 2004). Распределение по результатам генотипирования FokI, TaqI и ApaI полиморфизмов по аллельным частотам представлено в таблице 12.

Таблица 12 – Распределение по результатам генотипирования FokI, TaqI и ApaI полиморфизмов по аллельным частотам исследуемой выборки.

| SNP               | Модель         | Генотип  | Случай      | Контроль    | OR (95% CI)             |
|-------------------|----------------|----------|-------------|-------------|-------------------------|
| FokI<br>rs2228570 | Ко-доминантная | G/G      | 84 (46.1%)  | 146 (42.8%) | 1.00                    |
|                   |                | G/A      | 72 (39.6%)  | 157 (46%)   | <b>1.27 (0.86-1.88)</b> |
|                   |                | A/A      | 26 (14.3%)  | 38 (11.1%)  | 0.85 (0.48-1.50)        |
|                   |                | G аллель | 240         | 449         |                         |
|                   |                | A аллель | 124         | 233         |                         |
|                   |                | HW test  | $p=0.14$    | $p=0.72$    |                         |
|                   | Доминантная    | G/G      | 84 (46.1%)  | 146 (42.8%) | 1.00                    |
|                   |                | G/A-A/A  | 98 (53.9%)  | 195 (57.2%) | 1.16 (0.81-1.67)        |
|                   | Рецессивная    | G/G-G/A  | 156 (85.7%) | 303 (88.9%) | 1.00                    |
|                   |                | A/A      | 26 (14.3%)  | 38 (11.1%)  | 0.76 (0.44-1.29)        |
|                   |                |          | N=182       | N=341       |                         |
| TaqI<br>rs731236  | Ко-доминантная | C/C      | 65 (35.5%)  | 110 (32.6%) | 1.00                    |
|                   |                | C/A      | 84 (45.9%)  | 157 (46.6%) | 1.09 (0.73-1.64)        |
|                   |                | A/A      | 34 (18.6%)  | 70 (20.8%)  | <b>1.21 (0.72-2.02)</b> |
|                   |                | C аллель | 214         | 377         |                         |
|                   |                | A аллель | 152         | 297         |                         |
|                   |                | HW test  | $p=0.45$    | $p=0.32$    |                         |
|                   | Доминантная    | C/C      | 65 (35.5%)  | 110 (32.6%) | 1.00                    |
|                   |                | C/A-A/A  | 118 (64.5%) | 227 (67.4%) | 1.12 (0.77-1.65)        |
|                   | Рецессивная    | C/C-C/A  | 149 (81.4%) | 267 (79.2%) | 1.00                    |
|                   |                | A/A      | 34 (18.6%)  | 70 (20.8%)  | 1.15 (0.73-1.81)        |
|                   |                |          | N=183       | N=337       |                         |
| 520               |                |          |             |             |                         |
| ApaI<br>rs7975232 | Ко-доминантная | A/A      | 104 (58.4%) | 184 (55.8%) | 1.00                    |
|                   |                | A/G      | 63 (35.4%)  | 132 (40%)   | <b>1.17 (0.80-1.72)</b> |
|                   |                | G/G      | 11 (6.2%)   | 14 (4.2%)   | 0.72 (0.31-1.64)        |
|                   |                | A аллель | 271         | 500         |                         |
|                   |                | G аллель | 85          | 160         |                         |
|                   |                | HW test  | $p=0.68$    | $p=0.13$    |                         |
|                   | Доминантная    | A/A      | 104 (58.4%) | 184 (55.8%) | 1.00                    |
|                   |                | G/A-G/G  | 74 (41.6%)  | 146 (44.2%) | <b>1.10 (0.76-1.60)</b> |
|                   | Рецессивная    | A/A-G/A  | 167 (93.8%) | 316 (95.8%) | 1.00                    |
|                   |                | G/G      | 11 (6.2%)   | 14 (4.2%)   | 0.67 (0.30-1.52)        |
|                   |                |          | N=177       | N=329       |                         |

Анализ результатов типирования показал, что есть тенденция к ассоциации G/A генотипа с повышенным риском развития туберкулеза в ко-доминантной модели [OR=1.27; 95% CI: 0.86-1.88 P=0.28] для FokI полиморфизма, A/A генотипа [OR=1.21; 95% CI: 0.72-2.02 P=0.77] для TaqI полиморфизма. Менее значимая ассоциация выявлена между развитием туберкулеза и A/G генотипом ApaI, [OR=1.21; 95% CI: 0.72-2.02 P=0.46].

Результаты типирования в разрезе деления исследуемой выборки по регионам Казахстана представлены в таблице 13.

Таблица 13 – Распределение по результатам генотипирования FokI, TaqI и ApaI полиморфизмов исследуемой выборки в разрезе регионов Казахстана .

| SNP           | генотип | г.Алматы |          |                     | Алматинская область |          |                                   | г.Кызылорда |          |                                   |
|---------------|---------|----------|----------|---------------------|---------------------|----------|-----------------------------------|-------------|----------|-----------------------------------|
|               |         | Случай   | Контроль | OR (95% CI)         | Случай              | Контроль | OR (95% CI)                       | Случай      | Контроль | OR (95% CI)                       |
| FokI<br>N=523 | G/G     | 5        | 12       | 1.00                | 39                  | 73       | 1.00                              | 40          | 61       | 1.00                              |
|               | G/A     | 12       | 16       | 0.56<br>(0.15-2.01) | 36                  | 75       | 1.10<br>(0.63-1.92)               | 24          | 66       | <b>1.88</b><br><b>(1.01-3.50)</b> |
|               | A/A     | 2        | 5        | 1.03<br>(0.15-7.21) | 12                  | 16       | 0.71<br>(0.31-1.66)               | 12          | 17       | 0.95<br>(0.41-2.22)               |
|               |         |          |          |                     |                     |          |                                   |             |          |                                   |
| TaqI<br>N=520 | C/C     | 5        | 11       | 1.00                | 37                  | 53       | 1.00                              | 23          | 46       | 1.00                              |
|               | C/A     | 10       | 16       | 0.73<br>(0.19-2.72) | 35                  | 76       | 1.49<br>(0.83-2.67)               | 39          | 65       | 0.83<br>(0.44-1.57)               |
|               | A/A     | 5        | 6        | 0.55<br>(0.11-2.68) | 15                  | 32       | 1.49<br>(0.71-3.13)               | 14          | 32       | 1.13<br>(0.50-2.52)               |
|               |         |          |          |                     |                     |          |                                   |             |          |                                   |
| ApaI<br>N=508 | A/A     | 8        | 21       | 1.00                | 54                  | 84       | 1.00                              | 42          | 79       | 1.00                              |
|               | G/A     | 10       | 9        | 0.34<br>(0.10-1.15) | 24                  | 67       | <b>1.78</b><br><b>(1.00-3.18)</b> | 29          | 56       | 1.02<br>(0.57-1.83)               |
|               | G/G     | 2        | 2        | 0.38<br>(0.05-3.18) | 6                   | 4        | 0.43<br>(0.12-1.60)               | 3           | 8        | 1.38<br>(0.35-5.51)               |

Анализ результатов типирования в разрезе исследуемых областей выявил высокую ассоциацию генотипа G/A [OR=1.88; 95% CI:1.01-3.50] по FokI в Кызылординском регионе по сравнению с г.Алматы и Алматинской областью. G/A генотип [OR=1.78; 95% CI:1.0-3.18] полиморфизма ApaI в Алматинской области.

Таким образом, мы выявили потенциальную связь между полиморфизмами VDR (FokI, ApaI) генов и восприимчивостью к туберкулезу в исследуемой выборке. Для более детального исследования ассоциативной связи генотипа человека и риска развития туберкулеза планируется изучение других генов мишеней, а также расширение исследуемой выборки по регионам Казахстана.

#### *Генотипирование геномной ДНК микобактерий*

Проведена амплификация генов *rpoB*, *katG*, промоторной области *fabG-inhA*, *oxyR-ahpC* оперона, обуславливающих устойчивость к основным противотуберкулезным препаратам - изониазиду и рифампицину у 202 штаммов *M.tuberculosis*.

Следующим этапом работы было проведение сиквенс пир реакции и определение первичной нуклеотидной последовательности генов *rpoB*, *katG*, промоторной области *fabG-inhA*, *oxyR-ahpC* оперона. Полученные данные анализировались в приложении SeqMan программного пакета Lasergene. Пример хроматограммы приведен на рисунке 10.

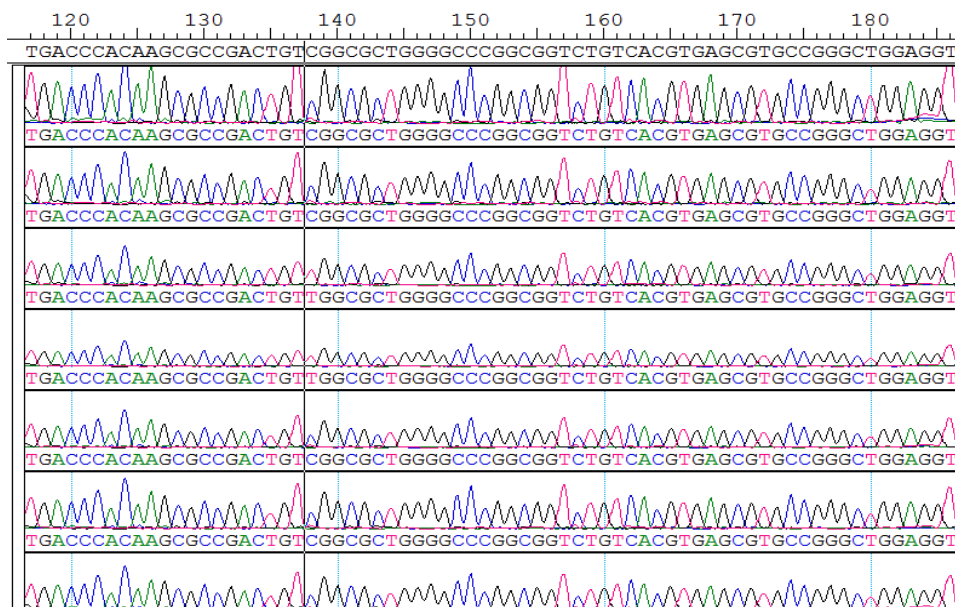


Рисунок 10 – Участок хроматограммы гена *rpoB*.

(выделен участок гена с заменой Ser →Leu (TCG→TTG) в 531 кодоне)

Среди них мутации между 507 и 533 кодонами, известном, как RRDR-регион *rpoB* гена обнаружены в 24% (37) случаях, в 76% (117) случаях мутаций не выявлено (Таблица 13).

Мутации в генах (*katG*, промоторной области *fabG-inhA*, *oxyR-ahpC* оперона) определяющие устойчивость к изониазиду определены в 63 исследуемых образцах, то есть в 40,9% случаях. В таблице 14 представлены сводные данные по спектру мутаций, обнаруженных среди 154 штаммов *M.tuberculosis* взятых в исследование.

Таблица 14 – Сводные данные мутаций в генах, обуславливающих устойчивость к изониазиду и рифампицину. Варианты аминокислотных замен, выявленных среди исследованных 154 штаммов *M. tuberculosis*.

| Кодон /гены |                | Аминокислотная замена (нуклеотидная замена) | Число штаммов/ (%) |
|-------------|----------------|---------------------------------------------|--------------------|
| Рифампицин  | 516 rpoB       | Asp →Val (GAC→GTC)                          | 1 (0,5%)           |
|             | 526 rpoB       | His→ Leu (CAC→CTC)                          | 3 (1,5%)           |
|             | 531 rpoB       | Ser →Leu (TCG→TTG)                          | 43 (21,5%)         |
|             | 531 rpoB       | Ser→Trp(TCG→TGG)                            | 1 (0,5%)           |
|             | 533 rpoB       | Leu→ Pro(CTG→CCG)                           | 2 (1%)             |
|             |                | Нет мутаций                                 | 150 (75%)          |
| N=200       |                |                                             |                    |
| Изониазид   | 315 katG       | Ser→Thr (AGC→ACC)                           | 80 (39,6%)         |
|             | - 15 fabG-inhA | -15C→T                                      | 2 (0,99%)          |
|             | -8 fabG-inhA   | -8T→C                                       | 1 (0,49%)          |
|             | -46 oxyR-ahpC  | -46 G→A                                     | 1 (0,49%)          |
|             |                | Нет мутаций                                 | 118 (58,4%)        |
| N=202       |                |                                             |                    |

В гене-мишени, обуславливающей устойчивость к рифампицину *rpoB* было выявлено 4 варианта мутаций в 4 (516, 526, 531 и 533) кодонах *rpoB* гена, где преобладающей мутацией в гене *rpoB* выявлена мутация в 531 кодоне с заменой Ser (серин) → Leu (лейцин), что составляет 31,0%. В одном случае (0,65%) определена мутация в 516 кодоне гена *rpoB*.

Мутации, определяющие резистентность к изониазиду изучали в генах *katG*, промоторной области *fabG-inhA*, *oxyR-ahpC* оперона. Мутации в гене *katG* определены в 40,9% случаях. Среди исследуемых штаммов *M. tuberculosis* преобладала мутация в 315 кодоне гена *katG* с аминокислотной заменой Ser (серин)→Thr (треонин) и частота встречаемости мутации составила 38,3%. В одном случае (0,65%) отмечены мутации в промоторной области *fabG-inhA* оперона в позиции -8T→C и *oxyR-ahpC* в позиции -46 G→A .

Таблица 15 – Варианты сочетаний мутаций в генах, обуславливающих одновременную устойчивость к изониазиду и рифампицину, выявленных среди исследованных штаммов *M. tuberculosis*.

| Сочетание кодон /ген                                                         | Число штаммов (%) |
|------------------------------------------------------------------------------|-------------------|
| katG <sup>S315T</sup> + rpoB <sup>S531L</sup>                                | 40 (20%)          |
| katG <sup>S315T</sup> + rpoB <sup>S531T</sup>                                | 1 (0,5%)          |
| katG <sup>S315T</sup> + rpoB <sup>D516V</sup>                                | 1 (0,5%)          |
| katG <sup>S315T</sup> + rpoB <sup>H526L</sup>                                | 1 (0,5%)          |
| katG <sup>S315T</sup> + rpoB <sup>L533P</sup>                                | 2 (1%)            |
| katG <sup>S315T</sup> + rpoB <sup>L533P</sup> + fabG-inhA <sup>C(-15)T</sup> | 2 (1%)            |
| N=200                                                                        |                   |

Наиболее частым сочетанием мутаций в генах, обуславливающих устойчивость одновременно к изониазиду и рифампицину стала комбинация мутаций в 315 кодоне гена *katG* и 531 кодоне гена *rpoB* (Таблица 15). У двух изолятов (1,3%) выявлена комбинация мутаций в 315 кодоне гена *katG* в сочетании с нуклеотидной заменой в -15 позиции (C→T) промотора *fabG-inhA*, а также мутацией гена *rpoB* в 526 кодоне.

#### *Определение MIRU-VNTR профиля исследуемых штаммов M. tuberculosis*

За отчетный период проведено определение профиля по локусам VNTR 52 и VNTR 49. Электрофореграмма приведена на рисунках 11 и 12.

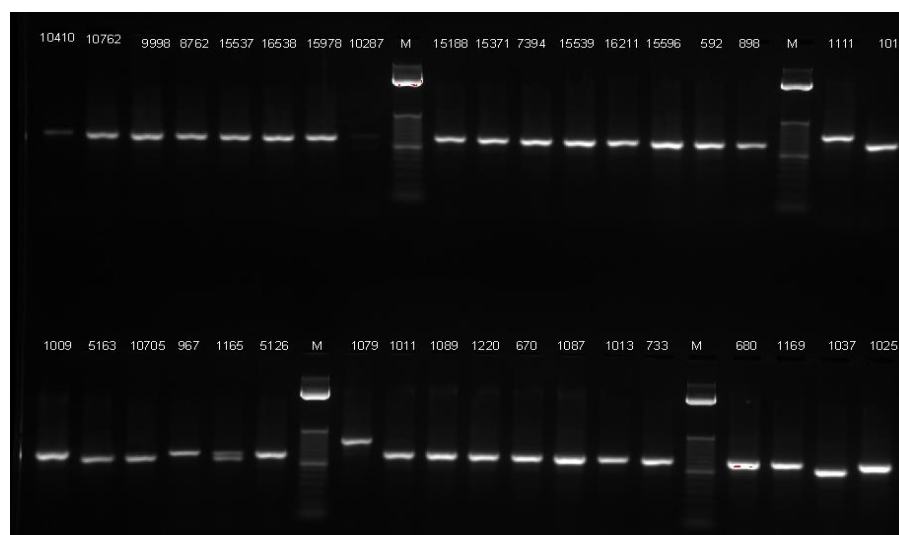


Рисунок 11 – Электрофореграмма ампликонов с праймерами к VNTR 52 в 1,8% агарозном геле +1xTAE буфером.

(10410-1025 – номера штаммов *M.tuberculosis*, М – маркер молекулярного веса с шагом 50 п.н.)



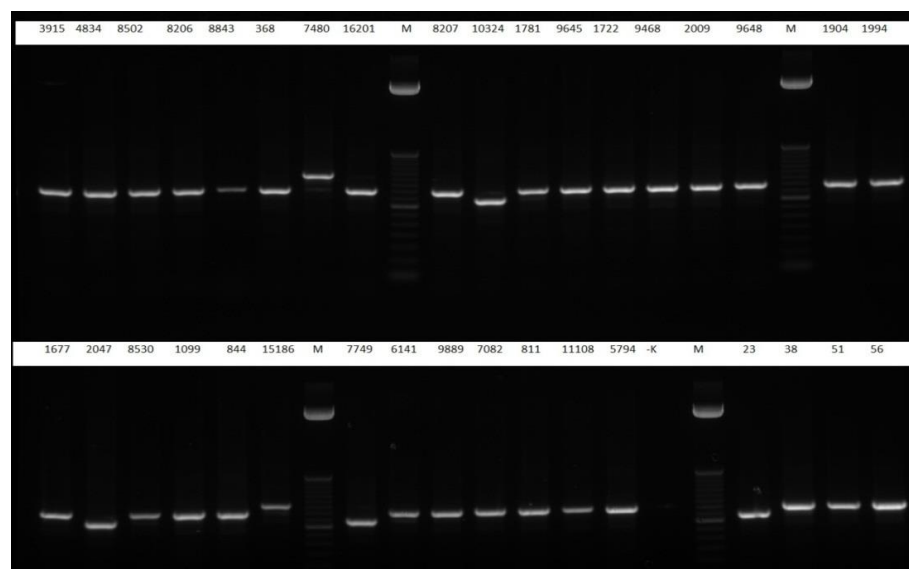


Рисунок 12 – Электрофореграмма ампликонов с праймерами к VNTR 49 в 1,8% агарозном геле +1xTAE буфером.

(10410-1025 – номера штаммов *M.tuberculosis*, M – маркер молекулярного веса с шагом 50 п.н.)

По результатам выполнения работ были сделаны следующие **выводы**:

- выделена геномная ДНК из 840 образцов венозной крови;
- проведена аллельная дискриминация по SNP маркерам IL1(rs16944), TLR8(rs3764880) у 182 образцов: преобладающим генотипом по SNP маркеру – IL1(rs16944) был гетерозиготный вариант (49,5%), по SNP маркеру TLR8(rs3764880) – преобладали 2 варианта AA генотип (37,4%) и GG генотип (37,9%).
- выявлена тенденция к ассоциации G/A генотипа с повышенным риском развития туберкулеза в ко-доминантной модели [OR=1.27; 95% CI: 0.86-1.88 P=0.28] для FokI полиморфизма, A/A генотипа [OR=1.21; 95% CI: 0.72-2.02 P=0.77] для TaqI полиморфизма. Менее значимая ассоциация выявлена между развитием туберкулеза и A/G генотипом ApaI, [OR=1.21; 95% CI: 0.72-2.02 P=0.46]
- наиболее высокая ассоциация генотипа G/A [OR=1.88; 95% CI:1.01-3.50] по FokI выявлена в г.Кызылорде.
- амплифицированы и определены нуклеотидные последовательности генов *rpoB*, *katG*, промоторной области *fabG-inhA*, *oxyR-ahpC* оперона, обуславливающих устойчивость к основным противотуберкулезным препаратам - изониазиду и рифампицину:
- в *katG* гене выявлена мутация в 315 кодоне гена с аминокислотной заменой Ser (серин)→Thr (треонин) и частота встречаемости мутации составила 80 (39,6%)

- в *rpoB* гене обнаружено 4 варианта мутаций в кодонах (531, 516, 533 и 526), где преобладающей мутацией в гене *rpoB* является мутация в 531 кодоне с заменой Ser (серин) → Leu (лейцин), что составляет 43 (21,5%) из них 47 (23,5%) случая характеризовались сочетанием мутаций в генах *rpoB* и *katG*.

Также из 202 штаммов *M. tuberculosis* – в двух случаях (1%) выявлены сочетанные мутации в генах *rpoB*, *katG* и *fabG-inhA*.

На текущий момент проводится анализ результатов типирования по MIRU-VNTR.

Ожидается дальнейший сбор образцов клинического материала в соответствии с разработанным протоколом исследований.

Для последующего оформления заявки на патент РК проведен анализ патентной информации на способ прогнозирования риска развития туберкулеза и лекарственно-устойчивого туберкулеза. Поиск проведен по России и Казахстану за период с 1994 по 2012 г.г; СНГ-2011,2012 г.г.; международный поиск (Великобритания, Германия, США,Франция,Япония) 2003 -2012 гг.; Евразийское патентное ведомство и Всесоюзная организация интеллектуальной собственности- 2003-2012 гг..

## 6 Комплексное изучение факторов индивидуального риска развития туберкулеза (на основании базового интервью в Алматинской области)

В данной главе представлены результаты анализа демографических, социальных и поведенческих факторов риска развития ТБ на основании базового интервью в Алматинской области, одного из четырех регионов, выбранных для более крупного исследования. Дизайн «связанный случай-контроль» был использован для оценки роли путем сравнения индекс-случаев с контрольными из домохозяйств и случайным образом выбранных контрольных из сообщества. Выборка включает 324 человека, разделенных на три группы: 110 ТБ индекс-участников с зарегистрированным легочным ТБ; 107 контактных из домохозяйств участников и 107 внешних контрольных из сообщества.

Случаи ТБ определялись как новые случаи легочного, диагностированного в течение трех месяцев со дня сбора данных. Другие критерии правомочности включения были универсальными по всем изучаемым группам и включали: а) возраст 18 лет или старше на момент скрининга; б) наличие постоянного адреса и проживание по этому адресу более трех месяцев; в) наличие других взрослых членов в домохозяйстве; г) отсутствие планов переезда в ближайшие 12 месяцев; д) свободное владение и понимание русского или казахского языка; е) отсутствие серьезных психических или умственных нарушений, которые могли бы помешать возможности предоставить информированное согласие и пройти интервью. И контрольные из домохозяйств, и контрольные из сообщества не должны были иметь ранее диагностированные случаи легочного туберкулеза. Контактный из домохозяйства был связан с индекс-случаем по национальности. Контрольный участник из сообщества был из домохозяйства, выбранного случайным образом и расположенного поблизости от ТБ случая. Для выбора контактных участников из домохозяйств или сообщества использовался метод Киша, если в домохозяйстве было более одного подходящего контактного.

Исследование проводилось в шести административных регионах Алматинской области: Алакольский, Балхашский, Енбекшиказахский, Жамбылский, Саркандский районы и город Капчагай. Все новые случаи ТБ (126), зарегистрированные в этих регионах в период с июня 2012 до января 2013, прошли предварительный скрининг, 110 из них отвечали критериям отбора и 110 согласились участвовать в исследовании.

### *Сбор данных и методы статистического анализа*

Социально-демографическая, профессиональная и поведенческая информация была собрана среди участников в ходе 60-минутного аудио компьютерного

самостоятельного интервью (ACASI). Инструмент исследования был запрограммирован в DatStat, пакете программного обеспечения, предоставляющем аудио и видео презентации вопросов и вариантов ответов в компьютере на казахском и русском языках. Все интервью проводились в частных комнатах, где ассистент исследователя оказывал помощь участникам. Данные были собраны в период с сентября 2012 до марта 2013.

Статистический анализ проводился в R версии 3.0.1. Одномерные ассоциации были созданы для описания исследуемого населения и установления переменного уровня потерь. Категориальные переменные изучались посредством частот, а непрерывные переменные изучались посредством расчетов средних, медианных и стандартных отклонений. У индикатора религии был самый высокий уровень переменной потерь ( $N = 53$ , 16%), но он не был включен или использован в дальнейшем анализе, поскольку 100% респондентов были той же религии, и не было отмечено никаких различий в группе населения. Бивариантные соотношения вероятностей Мантеля-Хенцеля (OR) рассчитывались для исследования связей между ТБ-статусом и факторами риска, предложенными в литературе. Получившаяся условная логистическая регрессия соответствовала оценкам одномерного и многомерного эффекта. Анализ проводился по трем базам данным путем сравнения индекс случаев ТБ с их соответствующими контрольными из домохозяйств; сравнения индекс случаев ТБ с их соответствующими контрольными из сообщества; и сравнения индекс случаев ТБ с их соответствующими контрольными из домохозяйств и сообщества. Переменные были рассмотрены с точки зрения их включения в заключительную модель с изменяющимися параметрами, если оценки двумерного OR были значимы на уровне 0,10 или продемонстрировали эпидемиологическую значимость с диагностикой случаев туберкулеза. Переменные, включенные в окончательную модель, включают в себя: возраст, пол, страну рождения, образование, текущую занятость, жилье, семейное положение, тюремное заключение, курение, злоупотребление алкоголем, сахарный диабет и заболевание мочевыводящих путей или почек. Прогностическая точность моделей регрессии оценивалась посредством классификационных таблиц.

Данное исследование имеет ряд сильных сторон. Прежде всего, это первое исследование «случай-контроль» в Республике Казахстан, позволяющие последовательно оценить сложные факторы риска ТБ и их влияние. Оно также имеет ряд ограничений, например, данные были перекрестные, что не позволяло нам определить временные связи между факторами риска и инфекцией ТБ. Поскольку данные, полученные в этом

исследовании, включают в себя только информацию со слов респондентов, ошибка памяти может быть еще одним ограничивающим фактором.

*Результаты анализа социально-демографических, поведенческих факторов и статуса здоровья*

В таблице 16 представлены базовые характеристики всего населения по исследованию. Средний возраст участников составил 40 (SD 13,58), женщин несколько больше, чем мужчин-участников, преимущественно казахов (по рождению и национальности), мусульман. 12 (3,7%) участников были когда-либо заключенными, 100 (30,9%) курили табак в последние двенадцать месяцев, и 298 (92,0%) с их слов имеют низкий балл по шкале Оценки злоупотребления алкоголем CAGE. В общей сложности 13 (4,0%) участники ранее имели диагноз диабет, 8 (2,5%) имели ранее диагностированный гепатит С, 2 (0,8%) сообщили о положительном результате теста на ВИЧ и у 34 (10,5%) был ранее выставлен диагноз заболевания мочевыводящих путей или почек.

Таблица 16 - Случаи ТВ, контрольные участники из домохозяйств и сообщества в Алматинской области

| Изучаемые переменные             |                                          | n (%)         | Всего<br>n |
|----------------------------------|------------------------------------------|---------------|------------|
| 1                                |                                          | 2             | 3          |
| <i>Социально-демографические</i> |                                          |               |            |
|                                  | Возраст, лет, средний [SD]               | 39.59 [13.58] | 324        |
|                                  | Пол                                      |               | 324        |
|                                  | Женский                                  | 175 (54.0)    |            |
|                                  | Мужской                                  | 149 (46.0)    |            |
|                                  | ИМТ, кг/м <sup>2</sup> , средний [range] | 22.78 [14.53- | 324        |
|                                  | Национальность                           |               | 324        |
|                                  | казахи                                   | 254 (78.4)    |            |
|                                  | русские                                  | 38 (11.7)     |            |
|                                  | другие                                   | 32 (9.9)      |            |
|                                  | Рожденные в Казахстане                   | 269 (83.0)    | 324        |
|                                  | Религия, мусульмане                      | 271 (100.0)   | 271        |
|                                  | Образование                              |               | 324        |
|                                  | Начальная школа                          | 28 (8.6)      |            |
|                                  | Средняя школа *                          | 146 (45.1)    |            |
|                                  | Профессиональное обучение                | 104 (32.1)    |            |
|                                  | Неоконченное высшее <sup>†</sup>         | 46 (14.2)     |            |
|                                  | Текущий статус занятости <sup>‡</sup>    |               | 288        |

Продолжение таблицы 16

| 1                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |                                              | 2           | 3   |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------|-------------|-----|
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | Работают                                     | 137 (47.6)  |     |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | Пенсионеры                                   | 70 (24.3)   |     |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | Безработные, способные работать              | 61 (21.2)   |     |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | Безработные, инвалиды                        | 20 (6.9)    |     |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | Ежемесячный доход в USD, среднее [SD]        | 179 [188]   |     |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | В настоящее время арендуют жилье             | 44 (13.6)   | 324 |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | Семейное положение                           |             | 273 |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | Неженатые                                    | 51 (18.7)   |     |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | Женатые                                      | 234 (85.7)  |     |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | Ранее были женаты §                          | 39 (14.3)   |     |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | Имеют детей                                  | 261 (845.6) | 324 |
| <i>Поведенческие</i>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |                                              |             |     |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | Опыт тюремного заключения                    | 12 (3.7)    | 324 |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | В последнее время курили табак ¶             | 100 (30.9)  | 324 |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | Употребление алкоголя #                      |             | 324 |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | 0-1                                          | 298 (92.0)  |     |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | >2                                           | 26 (8.0)    |     |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | Физическая активность, дни **                |             | 324 |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | 0                                            | 75 (23.1)   |     |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | 1-3                                          | 41 (12.7)   |     |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | 4-7                                          | 208 (64.2)  |     |
| <i>Сопутствующие заболевания</i>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |                                              |             |     |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | Диабет ††                                    | 13 (4.0)    | 324 |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | Гепатит С ††                                 | 8 (2.5)     | 324 |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | Последний положительный тест на ВИЧ ††       | 2 (0.8)     | 253 |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | Заболевание мочевыводящих путей или почек †† | 34 (10.5)   | 324 |
| <p>* Средняя школа включает окончание 11 классов<br/> † Начал получать высшее образование в университете или колледже<br/> ‡ Основной профессиональный статус в последние 12 месяцев<br/> § Категория включает разведенных, живущих раздельно и вдовцов<br/> ¶ Последние 12 месяцев<br/> # На основе шкалы CAGE с максимальным баллом 4<br/> ** Дней за последние 7 дней<br/> †† Когда-нибудь диагностировано заболевание<br/> ‡‡ Результаты самого последнего теста на ВИЧ<br/> ИМТ = индекс массы тела; HCV = Вирус гепатита С; SD = стандартное отклонение; USD = доллар США по курсу Казахстанского тенге; ВИЧ = Вирус иммунодефицита человека</p> |                                              |             |     |

Более половины ТБ пациентов (56%), прошедших интервью, были мужчины. Респонденты-женщины преобладали в контрольных группах из домохозяйств и сообщества (34% и 48% соответственно). Средний возраст ТБ пациентов был 35 лет, контрольных из домохозяйств и сообщества - 43 и 41 лет соответственно. Казахи составили большинство из участников исследования (более 75%), вторая этническая группа состояла из русских (чуть более 10%).

Большинство респондентов во всех группах были мусульманами (более 80%). Около 60% ТБ случаев и примерно 80% контрольных были женаты. Одна треть случаев никогда не были женаты. Доля участников с малым весом (индекс массы тела менее 18,5) была значительно выше среди всех случаев (16%) по сравнению с контрольными из домохозяйств (2%) и сообщества (8%).

Бивариантные результаты суммированы в таблице 17. Представлены три модели: модель 1 – ТБ случаи и контрольные из домохозяйств; модель 2 – ТБ случаи и контрольные из сообщества; и модель 3 – ТБ случаи и обе контрольные группы. Мы исключили ИМТ из моделей, поскольку потеря веса подразумевает и симптомы, и потенциальные факторы риска ТБ.

В таблице 18 приведены заключительные модели с переменными параметрами. Результаты модели 1 (ТБ случаи и контрольные из домохозяйств) показывают, что ТБ случаи с большей вероятностью моложе (OR = 11,36, 95% CI = 1.67-77.49 для 18-24 лет; OR = 7,41, 95% CI = 1.29-42.52 для 25-34; OR = 1,99, 95% CI = 0,35 -11,47 для 35-44; OR = 1,5, 95% CI = 0.23-9.6 для 45-54 лет); курили в течение последних 12 месяцев (OR = 3,27, 95% CI = 1.10-9.68) и имели диабет (OR = 48,59, 95% CI = 3.05-773.01).

Модель 2 (ТБ и контрольные из сообщества) показывает, что туберкулез в значительной степени связан с возрастом (18-24-летние по сравнению с 55 плюс, OR = 5,13, 95% CI = 1.01-26.18), не состоящих в браке (OR = 3,21, 95% CI = 1.28-8.05), живущие в арендованном доме или квартире (OR = 5,15, 95% CI = 1.39-19.05), курящие в последние 12 месяцев (OR = 4,07, 95% CI = 1.16-14.32) и имеющие диабет (OR = 23,43, 95% CI = 1.86-295.49). В дополнение к ранее выявленным ассоциациям Модель 3 (ТБ и обе контрольные группы) показывает, что рождение за пределами Казахстана (OR = 3,16, 95% CI = 1.08-9.29) также положительно связано с ТБ статусом. Первая модель правильно предсказывает 84,4%, вторая – 82,2%, третья – 75,8 % ТБ-статусов участников.

Таблица 17 - Факторы, связанные с ТБ статусом в Алматинской области

|                                  |                        |            | Модель 1              |                     | Модель 2              |                     | Модель 3              |         |
|----------------------------------|------------------------|------------|-----------------------|---------------------|-----------------------|---------------------|-----------------------|---------|
| Переменная                       |                        |            | OR (95%CI)            | Значение<br>P       | OR (95%CI)            | Значение<br>P       | OR (95%CI)            | P value |
| 1                                |                        |            | 2                     | 3                   | 4                     | 5                   | 6                     | 7       |
| <b>Социально-демографические</b> |                        |            |                       |                     |                       |                     |                       |         |
|                                  | Возраст                |            |                       |                     |                       |                     |                       |         |
|                                  |                        | 18-24 года | 7.91 (2.15-29.08)     |                     | 3.05 (1.03-9.02)      |                     | 4.95 (1.91-12.81)     |         |
|                                  |                        | 25-34 года | 3.31 (1.07-10.26)     |                     | 1.86 (0.73-4.75)      |                     | 2.36 (1.03-5.44)      |         |
|                                  |                        | 35-44 года | 1.21 (0.39-3.77)      |                     | 0.65 (0.23-1.86)      |                     | 0.84 (0.34-2.11)      |         |
|                                  |                        | 45-54 года | 1.05 (0.28-3.89)      |                     | 1.01 (0.34-3.01)      |                     | 1.07 (0.4-2.84)       |         |
|                                  |                        | >55 лет    | референтная категория |                     | референтная категория |                     | референтная категория |         |
|                                  | Пол                    |            |                       |                     |                       |                     |                       |         |
|                                  |                        | Мужской    | 1.93 (1.21-3.07)      | 0.005 <sup>#</sup>  | 1.47 (0.82-2.64)      | 0.188               | 1.77 (1.13-2.77)      |         |
|                                  |                        | Женский    | референтная категория |                     | референтная категория |                     | референтная категория |         |
|                                  | ИМТ, кг/м <sup>2</sup> |            |                       | <0.001 <sup>#</sup> |                       | <0.001 <sup>#</sup> |                       |         |
|                                  | Национальность         |            |                       |                     |                       |                     |                       |         |
|                                  |                        | Казахи     |                       | 0.097               |                       | 0.997               |                       |         |
|                                  |                        | Не-казахи  | референтная категория |                     | референтная категория |                     | референтная категория |         |
|                                  | Страна рождения        |            |                       |                     |                       |                     |                       |         |



Продолжение таблицы 15

| 1                    |                            |                         | 2                     | 3                   |  | 4                     | 5                   |  | 6                     | 7 |
|----------------------|----------------------------|-------------------------|-----------------------|---------------------|--|-----------------------|---------------------|--|-----------------------|---|
|                      | За пределами Казахстана    |                         | 1.2 (0.37-3.93)       | 0.258               |  | 1.89 (0.84-4.24)      | 0.065               |  | 1.54 (0.73-3.24)      |   |
|                      |                            | В Казахстане            | референтная категория |                     |  | референтная категория |                     |  | референтная категория |   |
|                      | Образование                |                         |                       |                     |  |                       |                     |  |                       |   |
|                      |                            | Неоконченное высшее     | 0.75 (0.32-1.78)      | 0.672               |  | 0.9 (0.37-2.21)       | 0.805               |  | 0.83 (0.4-1.74)       |   |
|                      |                            | Нет высшего образования | референтная категория |                     |  | референтная категория |                     |  | референтная категория |   |
|                      | Текущий статус занятости * |                         |                       |                     |  |                       |                     |  |                       |   |
|                      |                            | Работают                | 0.58 (0.34-1)         | 0.018 <sup>#</sup>  |  | 0.77 (0.45-1.32)      | 0.005 <sup>#</sup>  |  | 0.67 (0.42-1.06)      |   |
|                      |                            | Не работают             | референтная категория |                     |  | референтная категория |                     |  | референтная категория |   |
|                      | Текущий статус жилья       |                         |                       |                     |  |                       |                     |  |                       |   |
|                      |                            | Арендуют жилье          | 2.33 (0.60-9.02)      |                     |  | 2.37 (1.04-5.43)      |                     |  | 2.36 (1.03-5.41)      |   |
|                      |                            | Имеют свое жилье        | референтная категория |                     |  | референтная категория |                     |  | референтная категория |   |
|                      | Семейное положение         |                         |                       |                     |  |                       |                     |  |                       |   |
|                      |                            | Неженаты                | 4.57 (2.02-10.36)     | <0.001 <sup>#</sup> |  | 2.44 (1.36-4.36)      | <0.001 <sup>#</sup> |  | 3.0 (1.76-5.12)       |   |
|                      |                            | Женаты (были женаты)    | референтная категория |                     |  | референтная категория |                     |  | референтная категория |   |
| <b>Поведенческие</b> |                            |                         |                       |                     |  |                       |                     |  |                       |   |

Продолжение таблицы 15

| 1                                |                                    |                         | 2                     | 3                  |  | 4                     | 5                  |  | 6                     | 7 |
|----------------------------------|------------------------------------|-------------------------|-----------------------|--------------------|--|-----------------------|--------------------|--|-----------------------|---|
|                                  | Тюремное заключение                |                         |                       |                    |  |                       |                    |  |                       |   |
|                                  |                                    | Когда-либо              | 1.0 (0.2-4.95)        | 1.000              |  | 0.33 (0.07-1.65)      | 0.148              |  | 0.62 (0.17-2.32)      |   |
|                                  |                                    | Никогда                 | референтная категория |                    |  | референтная категория |                    |  | референтная категория |   |
|                                  | Недавнее курение табака †          |                         |                       |                    |  |                       |                    |  |                       |   |
|                                  |                                    | Курят                   | 1.82 (1.01-3.29)      | 0.042 <sup>#</sup> |  | 1.32 (0.73-2.39)      | 0.365              |  | 1.58 (0.95-2.63)      |   |
|                                  |                                    | Не курят                | референтная категория |                    |  | референтная категория |                    |  | референтная категория |   |
|                                  | Употребление алкоголя ‡            |                         |                       |                    |  |                       |                    |  |                       |   |
|                                  |                                    | Когда-то злоупотребляли | 1.0 (0.32-3.10)       | 1.000              |  | 0.30 (0.08-1.09)      | 0.067              |  | 0.57 (0.21-1.55)      |   |
|                                  |                                    | Не злоупотребляли       | референтная категория |                    |  | референтная категория |                    |  | референтная категория |   |
| <b>Сопутствующие заболевания</b> |                                    |                         |                       |                    |  |                       |                    |  |                       |   |
|                                  | Диабет §                           |                         |                       |                    |  |                       |                    |  |                       |   |
|                                  |                                    | Да                      | 11.0 (1.42-85.2)      | 0.022 <sup>#</sup> |  | 10.8 (1.38-85.2)      | 0.028 <sup>#</sup> |  | 10.54 (2.33-47.67)    |   |
|                                  |                                    | Нет                     | референтная категория |                    |  | референтная категория |                    |  | референтная категория |   |
|                                  | Результат последнего теста на ВИЧ+ |                         |                       |                    |  |                       |                    |  |                       |   |
|                                  |                                    | Да                      |                       | 0.125              |  |                       | 0.368              |  |                       |   |
|                                  |                                    | Нет                     | референтная категория |                    |  | референтная категория |                    |  | референтная категория |   |

Продолжение таблицы 15

| 1                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |                                                         | 2                     | 3                  |  | 4                     | 5     |  | 6                     | 7 |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------|-----------------------|--------------------|--|-----------------------|-------|--|-----------------------|---|
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | Заболевание мочевыводящих путей или заболевание почек § |                       |                    |  |                       |       |  |                       |   |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | Да                                                      | 0.33 (0.11-1.03)      | 0.041 <sup>#</sup> |  | 0.40 (0.14-1.12)      | 0.055 |  | 0.38 (0.15-0.97)      |   |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | Нет                                                     | референтная категория |                    |  | референтная категория |       |  | референтная категория |   |
| <p>Модель 1 – сравнение контрольных из домохозяйств с ТБ случаями; модель 2 – сравнение контрольных из сообщества с ТБ случаями; модель 3 – сравнение контрольных из домохозяйств и сообщества с ТБ случаями</p> <p>* Основной статус занятости в течение последних 12 месяцев</p> <p>† Последние 12 месяцев</p> <p>‡ CAGE балл <math>\geq 2</math></p> <p>§ Когда-либо диагностировано заболевание</p> <p>¶ Результат САМОГО последнего теста на ВИЧ</p> <p># Статистически значимый при уровне <math>p &lt; 0.05</math></p> <p>TB = туберкулез; OR = соотношение вероятностей; CI = доверительный интервал; HIV = вирус иммунодефицита человека</p> |                                                         |                       |                    |  |                       |       |  |                       |   |

Таблица 18 - Многомерные факторы, связанные со случаями ТБ в Алматинской области

|            |                 |                         | Модель 1              |                    | Модель 2              |                    | Модель 3              |                    |
|------------|-----------------|-------------------------|-----------------------|--------------------|-----------------------|--------------------|-----------------------|--------------------|
| Переменная |                 |                         | aOR* (95%CI)          | Значение<br>P      | aOR* (95%CI)          | Значение<br>P      | aOR* (95%CI)          | Значение<br>P      |
| 1          |                 |                         | 2                     | 3                  | 4                     | 5                  | 6                     | 7                  |
|            | Возраст         |                         |                       |                    |                       |                    |                       |                    |
|            |                 | 18-24 года              | 11.36 (1.67-77.49)    | 0.013 <sup>#</sup> | 5.13 (1.01-26.18)     | 0.049 <sup>#</sup> | 8.4 (2.16-32.72)      | 0.002 <sup>#</sup> |
|            |                 | 25-34 года              | 7.41 (1.29-42.52)     | 0.025 <sup>#</sup> | 2.77 (0.64-12.01)     | 0.172              | 4.78 (1.37-16.69)     | 0.014 <sup>#</sup> |
|            |                 | 35-44 года              | 1.99 (0.35-11.47)     | 0.440              | 0.54 (0.1-2.89)       | 0.471              | 1.19 (0.31-4.54)      | 0.798              |
|            |                 | 45-54 года              | 1.5 (0.23-9.66)       | 0.672              | 2.39 (0.46-12.6)      | 0.303              | 1.99 (0.5-7.89)       | 0.326              |
|            |                 | >55 лет                 | референтная категория |                    | референтная категория |                    | референтная категория |                    |
|            | Пол             |                         |                       |                    |                       |                    |                       |                    |
|            |                 | Мужской                 | 1.24 (0.54-2.84)      | 0.610              | 0.87 (0.3-2.49)       | 0.789              | 1.3 (0.63-2.69)       | 0.486              |
|            |                 | Женский                 | референтная категория |                    | референтная категория |                    | референтная категория |                    |
|            | Страна рождения |                         |                       |                    |                       |                    |                       |                    |
|            |                 | За пределами Казахстана | 5.1 (0.72-35.98)      | 0.102              | 2.85 (0.9-9.0)        | 0.074              | 3.16 (1.08-9.29)      | 0.036 <sup>#</sup> |
|            |                 | В Казахстане            | референтная категория |                    | референтная категория |                    | референтная категория |                    |
|            | Образование     |                         |                       |                    |                       |                    |                       |                    |

Продолжение таблицы 16

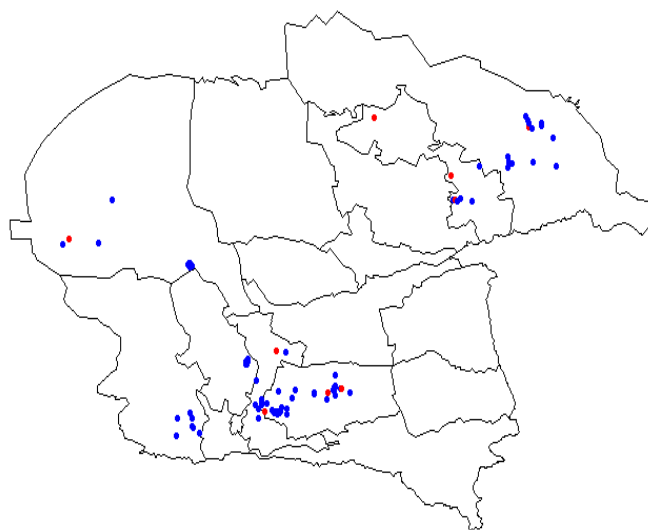
| 1 |                                       |                         | 2                     | 3     |  | 4                     | 5                  |  | 6                     | 7                  |
|---|---------------------------------------|-------------------------|-----------------------|-------|--|-----------------------|--------------------|--|-----------------------|--------------------|
|   | Неоконченное высшее                   |                         | 1.08 (0.31-3.76)      | 0.898 |  | 0.92 (0.23-3.69)      | 0.909              |  | 1.1 (0.38-3.22)       | 0.855              |
|   |                                       | Нет высшего образования | референтная категория |       |  | референтная категория |                    |  | референтная категория |                    |
|   | Текущий статус занятости <sup>†</sup> |                         |                       |       |  |                       |                    |  |                       |                    |
|   |                                       | Работают                | 0.75 (0.32-1.77)      | 0.514 |  | 0.75 (0.33-1.68)      | 0.480              |  | 0.8 (0.41-1.55)       | 0.503              |
|   |                                       | Не работают             | референтная категория |       |  | референтная категория |                    |  | референтная категория |                    |
|   | Текущий статус жилья                  |                         |                       |       |  |                       |                    |  |                       |                    |
|   |                                       | Арендуют жилье          | 0.93 (0.14-6.15)      | 0.942 |  | 5.15 (1.39-19.05)     | 0.014 <sup>#</sup> |  | 2.94 (0.95-9.11)      | 0.062              |
|   |                                       | Имеют собственное жилье | референтная категория |       |  | референтная категория |                    |  | референтная категория |                    |
|   | Семейное положение                    |                         |                       |       |  |                       |                    |  |                       |                    |
|   |                                       | Не женаты               | 3.49 (0.99-12.23)     | 0.051 |  | 3.21 (1.28-8.05)      | 0.013 <sup>#</sup> |  | 2.91 (1.4-6.06)       | 0.004 <sup>#</sup> |
|   |                                       | Женаты                  | референтная категория |       |  | референтная категория |                    |  | референтная категория |                    |
|   | Тюремное заключение                   |                         |                       |       |  |                       |                    |  |                       |                    |
|   |                                       | Когда-либо              | 0.63 (0.06-6.54)      | 0.697 |  | 0.66 (0.08-5.24)      | 0.693              |  | 0.92 (0.16-5.4)       | 0.930              |
|   |                                       | Никогда                 | референтная категория |       |  | референтная категория |                    |  | референтная категория |                    |
|   | Курение табака <sup>‡</sup>           |                         |                       |       |  |                       |                    |  |                       |                    |

Продолжение таблицы 16

| 1                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |                                                        |                        | 2                     | 3                  |  | 4                     | 5                  |  | 6                     | 7                  |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------|------------------------|-----------------------|--------------------|--|-----------------------|--------------------|--|-----------------------|--------------------|
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |                                                        | Курят                  | 3.27 (1.1-9.68)       | 0.032 <sup>#</sup> |  | 4.07 (1.16-14.32)     | 0.029 <sup>#</sup> |  | 2.87 (1.2-6.89)       | 0.018 <sup>#</sup> |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |                                                        | Не курили              | референтная категория |                    |  | референтная категория |                    |  | референтная категория |                    |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | Употребление алкоголя <sup>§</sup>                     |                        |                       |                    |  |                       |                    |  |                       |                    |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |                                                        | Когда-либо употребляли | 0.66 (0.1-4.3)        | 0.668              |  | 0.16 (0.02-1.16)      | 0.069              |  | 0.24 (0.05-1.02)      | 0.053              |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |                                                        | Никогда не употребляли | референтная категория |                    |  | референтная категория |                    |  | референтная категория |                    |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | Диабет <sup>¶</sup>                                    |                        |                       |                    |  |                       |                    |  |                       |                    |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |                                                        | Да                     | 48.59 (3.05-773.01)   | 0.006 <sup>#</sup> |  | 23.43 (1.86-295.49)   | 0.015 <sup>#</sup> |  | 30.73 (4.31-218.99)   | 0.001 <sup>#</sup> |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |                                                        | Нет                    | референтная категория |                    |  | референтная категория |                    |  | референтная категория |                    |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | Заболевание мочевыводящих путей или почек <sup>¶</sup> |                        |                       |                    |  |                       |                    |  |                       |                    |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |                                                        | Да                     | 1.39 (0.29-6.59)      | 0.676              |  | 0.29 (0.06-1.38)      | 0.120              |  | 0.61 (0.19-1.98)      | 0.410              |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |                                                        | Нет                    | референтная категория |                    |  | референтная категория |                    |  | референтная категория |                    |
| <p>Модель 1 – сравнение контрольных из домохозяйств с ТБ случаями; модель 2 – сравнение контрольных из сообщества с ТБ случаями; модель 3 – сравнение контрольных из домохозяйств и сообщества с ТБ случаями</p> <p>* С поправкой на все другие независимые переменные в модели</p> <p>† Первоначально работающие в последние 12 месяцев по сравнению с неработающими в последние 12 месяцев</p> <p>‡ Последние 12 месяцев <sup>§</sup> CAGE балл <math>\geq 2</math></p> <p><sup>¶</sup> Когда-либо диагностировано заболевание</p> <p><sup>#</sup> Статистически значимый при уровне <math>p &lt; 0.05</math> ТБ = туберкулез ; AOR = соотношение вероятностей с поправками; CI = доверительный интервал; HIV = вирус иммунодефицита человека</p> |                                                        |                        |                       |                    |  |                       |                    |  |                       |                    |

Для пространственного представления случаев ТБ и МЛУ ТБ в изучаемой области нами использован метод весов обратных пропорциональных расстояний (spatial analysis). На рисунке изображена локализация и концентрация случаев ТБ и МЛУ ТБ (рисунок 13, 14). Установлено, что наибольшая концентрация случаев ТБ отмечается Енбекшиказахском, Алакольском районах и г.Капчагае, МЛУ ТБ – в Балшахском, Алакольском, Саркандском и Енбекшиказахском районах.

**Location of TB (blue) and MDR-TB (red) cases in Almaty oblast**



**Рисунок 13 – Пространственное распределение случаев ТБ и МЛУ ТБ  
в Алматинской области (n =110)**

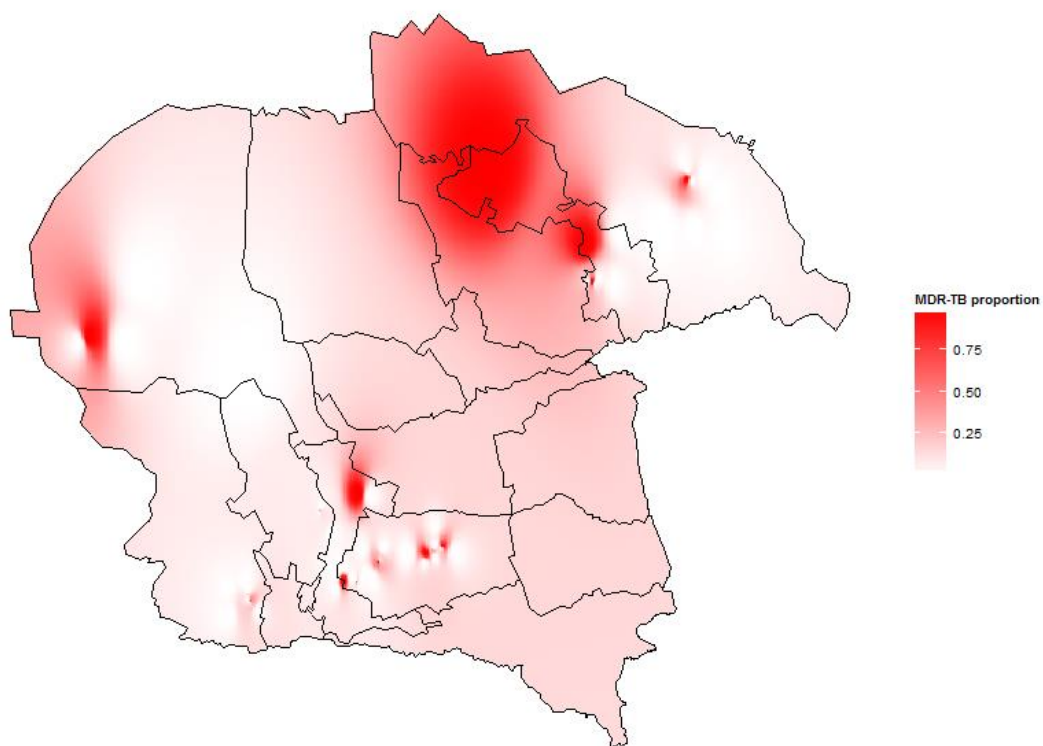


Рисунок 14– Пространственное распределение случаев МЛУ ТБ  
в Алматинской области (n =11)

#### *Обсуждение и выводы*

Результаты показывают, что определенные социально-демографические тенденции, сопутствующие условия и ассоциации существуют между ТБ и контрольными из домохозяйств и сообщества. Мультивариантные модели показывают сильную позитивную связь с молодым возрастом, холостым положением и проживанием в арендованных домах или квартирах. По сравнению с контрольными из домохозяйств и сообщества ТБ случаи моложе (менее 35 лет), чаще неженаты и проживают отдельно в арендованном доме или квартире с соседями по комнате или друзьями. Эти факторы отражают демографический и социально-экономический статус. Оценены жилищные условия в качестве показателя (проху) дохода и социально-экономического статуса, так как оба понятия относительно трудно измерить.



Курение в течение последних 12 месяцев оказалось независимым фактором риска развития туберкулеза. Мы оценили курение в последние 12 месяцев против текущего курения, чтобы избежать эффекта снижения курения из-за туберкулеза.

Кроме того, обнаружено, что диабет является фактором риска для ТБ. Этот вывод согласуется с отчетами по другим исследованиям, связывающими сахарный диабет 2 типа с ТБ (Dooley, Baker & Goldhaber-Fiebert). Baker et al, 2011 также показали, что сахарный диабет не только повышает риск неудачного лечения и смерти среди больных туберкулезом, но и увеличивает вероятность рецидива.

В рамках данного исследования в Алматинской области мы не рекрутировали мигрантов, не имеющих временного или постоянного правового статуса в РК. Исследуемое население включало только законных жителей Республики, которые переехали в Казахстан в прошлом. Таким образом, мы оценили прошлую историю миграции, которая имела статистическую значимость с ТБ. Huffman et al, (2011) показал, что лица, рожденные вне Казахстана и переехавшие из других стран, с высоким бременем туберкулеза в прошлом все еще имеют более высокий риск развития заболевания в будущем по сравнению с их контрольными из домохозяйств и сообщества, которые родились в принимающей стране. Это может быть объяснено тем, что большинство случаев туберкулеза у взрослых развивается через много лет после первичной инфекции из-за экзогенного повторного инфицирования или эндогенной реактивации латентной инфекции (Lienhardt, 2001).

В нашем исследовании ИМТ был сильно связан с ТБ в одномерном анализе, но исключен из заключительной мультивариантной модели. Связь между ИМТ и ТБ показана в научной литературе, однако сложность механизмов связи ИМТ и ТБ и дизайн «случай-контроль» исследования затрудняет определение причинной связи между этими двумя показателями.

Данное «случай-контроль» исследование впервые в Казахстане подтвердило роль основных факторов риска развития туберкулеза: *молодой возраст, холостое семейное положение, проживание в арендованной квартире, курение, сахарный диабет и миграция.*

Эти выводы имеют важное значение в профилактике и борьбе с последствиями туберкулеза. Кроме медицинских технологий, направленных на прекращение передачи ТБ, важно развивать и укреплять существующие вмешательства по социальным

определяющим факторам и непосредственным факторам риска ТБ. Картирование ключевых групп населения с более высоким риском заболевания ТБ и предложение профилактической химиотерапии для отдельных групп высокого риска прогрессирования латентной инфекции в активную форму болезни, включая пациентов с диабетом и мигрантов должны учитываться при планировании превентивных противоэпидемических мероприятий. Укрепление систем здравоохранения и сотрудничество с другими программами общественного здравоохранения и социального сектора, таких как табакокурение и контроль диабета, а также миграционная политика должны быть частью программ по профилактике и контролю туберкулеза.

## 7 Обоснование методики кратко- и среднесрочного прогнозирования заболеваемости туберкулезом и развития эпидемического процесса с учетом влияния наиболее значимых факторов риска

Математическое моделирование является одним из самых действенных подходов для понимания сложных популяционных процессов, включая распространение инфекционных заболеваний. Модели, как правило, основаны на некоторых базовых допущениях и предположениях, чтобы найти параметры для отдельных инфекционных заболеваний и использовать значения этих параметров, чтобы оценить эффект различных противоэпидемических мероприятий, включая вакцинацию, раннее выявление, улучшение исходов лечения и т.п.

В настоящей научно-исследовательской работе для обоснования и разработки методики кратко- и среднесрочного прогнозирования ТБ мы апробировали несколько моделей с использованием следующих принципов:

1. Исследование временных рядов с целью определения трендов, их характера, цикличности, в том числе связанной с сезонностью
2. Математическое моделирование эпидемиологических процессов с оценкой количества населения, имеющих латентную форму ТБ, количества невыявленных случаев заболевания ТБ, эффективности иммунитета к ТБ после вакцинации, восприимчивостью к ТБ, обусловленной демографическими (пол, возраст) характеристиками и этнической принадлежностью.
3. Моделирование эпидемического процесса по территориям (область, район) с включением в анализ экологических (агрегированных) данных, включая размер и динамику валового регионального продукта, величину расходов на здравоохранение, социально-экономические, природные и климатические факторы.

Каждая из построенных моделей была проверена на существующих доступных данных из Национального регистра ТБ за 2007-2012 гг. После их сравнения создана новая статистическая модель ARIMA, которая использована для прогнозирования новых случаев ТБ.

### *Прогнозирование новых случаев туберкулеза*

Модели прогнозирования описывают исследуемый процесс и являются основой для получения его будущих значений.

*Модели временных рядов* — математические модели прогнозирования, которые стремятся найти зависимость будущего значения от прошлого внутри самого процесса и на этой зависимости вычислить прогноз. Эти модели универсальны для различных предметных областей и активно используются для прогнозирования случаев заболевания, в том числе туберкулеза [74,75] .

### *Сезонность заболеваемости туберкулезом*

Сезонный характер заболеваемости туберкулезом был описан несколькими исследователями [76,77,78]. Чтобы изучить сезонность заболеваемости на первом этапе нами была использована декомпозиция на сезонную заболеваемость ( $S[t]$ ), тренд заболеваемости ( $T[t]$ ) и иррегулярный компонент, представляющий собой ошибку ( $e[t]$ ).

$$Y[t] = T[t] + S[t] + e[t]$$

Декомпозиция месячной заболеваемости ТБ по Республике Казахстан за период 2007-2012 годы представлена на рисунке 15, а в таблице 19 показана сезонная составляющая заболеваемости.

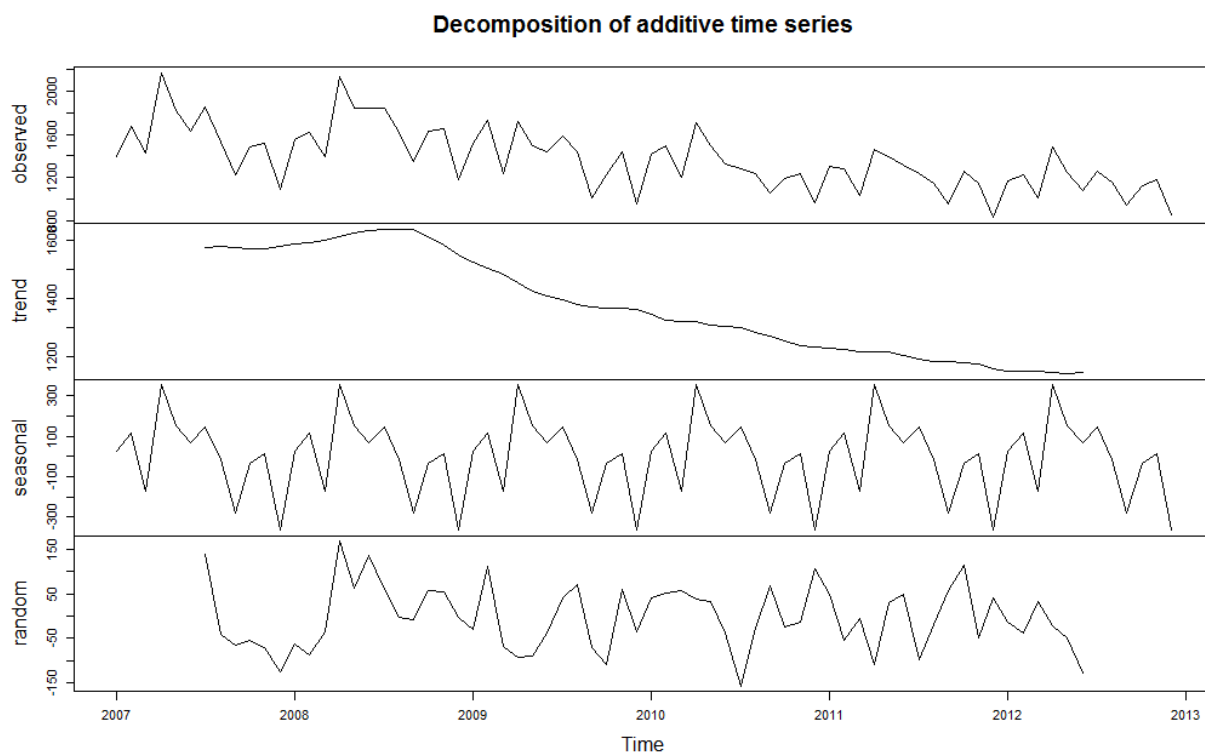


Рисунок 15 - Декомпозиция месячной заболеваемости (Республика Казахстан, 2007-2012)

Таблица 19 - Сезонная составляющая заболеваемости туберкулезом на основе данных за 2007-2012 годы

| Jan | Feb | Mar  | Apr | May | Jun | Jul | Aug | Sep  | Oct | Nov | Dec  |
|-----|-----|------|-----|-----|-----|-----|-----|------|-----|-----|------|
| 28  | 114 | -175 | 354 | 153 | 67  | 144 | -16 | -283 | -37 | 15  | -364 |

Данные свидетельствуют о том, что заболеваемость в Казахстане носит ярко выраженный сезонный характер.

#### *АРИМА модели*

Прогнозирование на основе моделей АРИМА (ARIMA) успешно применяется уже достаточно длительное время. Данная модель впервые была предложена Дж. Боксом и Г. Дженкинсом, и поэтому в некоторых источниках модель авторегрессии проинтегрированного скользящего среднего также называют «моделью Бокса-

Дженкинса» или в англоязычной литературе Auto Regressive Integrated Moving Average model (ARIMA-model) [79]. Модели ARIMA активно использует Бюро переписи населения США, которое создало специальную программу для прогнозирования [80].

Модели ARIMA опираются, в основном, на автокорреляционную структуру данных (строятся на основании предыстории исследуемых временных рядов). В методологии ARIMA не предусматривается какой-либо четкой модели для прогнозирования данного временного ряда. Задается лишь общий класс моделей, которые описывают временной ряд и, которые позволяют как-то выражать текущее значение переменной через ее предыдущие значения. Потом алгоритм, подставляя внутренние параметры, сам избирает наиболее пригодную модель прогнозирования.

Модель ARIMA имеет вид:

$$\Delta^d X_t = c + \sum_{i=1}^p a_i \Delta^d X_{t-i} + \sum_{j=1}^q b_j \varepsilon_{t-j} + \varepsilon_t$$

И представляет собой обобщение модели авторегрессионного скользящего среднего и предназначена для описания нестационарных временных рядов. В общем случае модель обозначается следующим образом:

- $p$  – порядок авторегрессии;
- $d$  – порядок интегрирования;
- $q$  – порядок скользящего среднего.

Эти же параметры могут относиться к описанию сезонного характера заболеваемости. Сезонная модель ARIMA представляется в виде: ARIMA(p, d, q)(p<sub>s</sub>, d<sub>s</sub>, q<sub>s</sub>). Для построения моделей нами были использованы данные о новых случаях заболевания по месяцам с 2007 по 2012 года. Эти данные были обработаны в программе R с использованием пакета forecast. Наилучшим образом месячную заболеваемость ТБ описывает модель ARIMA(0,1,1)(1,0,1) (рисунок 16).

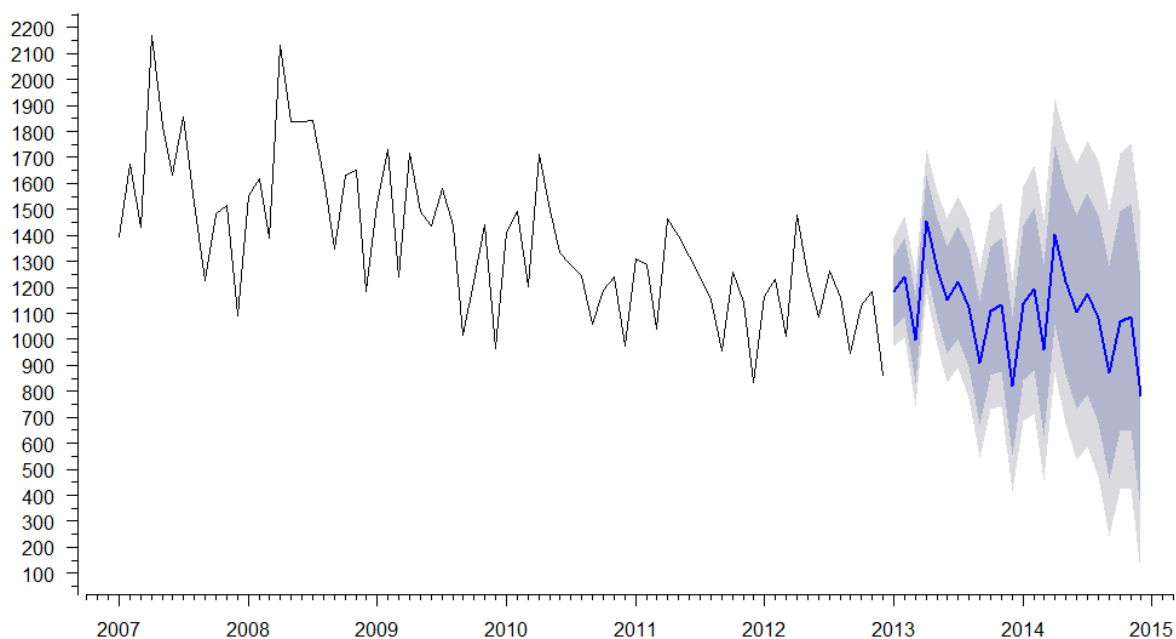


Рисунок 16 - Количество новых случаев ТБ по месяцам в 2007-2012 годах и прогноз на 2013-2014 годы

Прогноз заболеваемости ТБ учитывает как сезонность, так и общий тренд на снижение количества новых случаев. Вместе с тем, обращает внимание большая величина размаха оценок. Так, 95% интервальная оценка новых случаев в декабре 2014 года находится в пределах от 338 до 1467 случаев.

Чтобы повысить точность прогнозирования, были определены оптимальные модели ARIMA для каждого региона Казахстана: 14 областей и города Астана и Алматы (рисунок 17, 18).

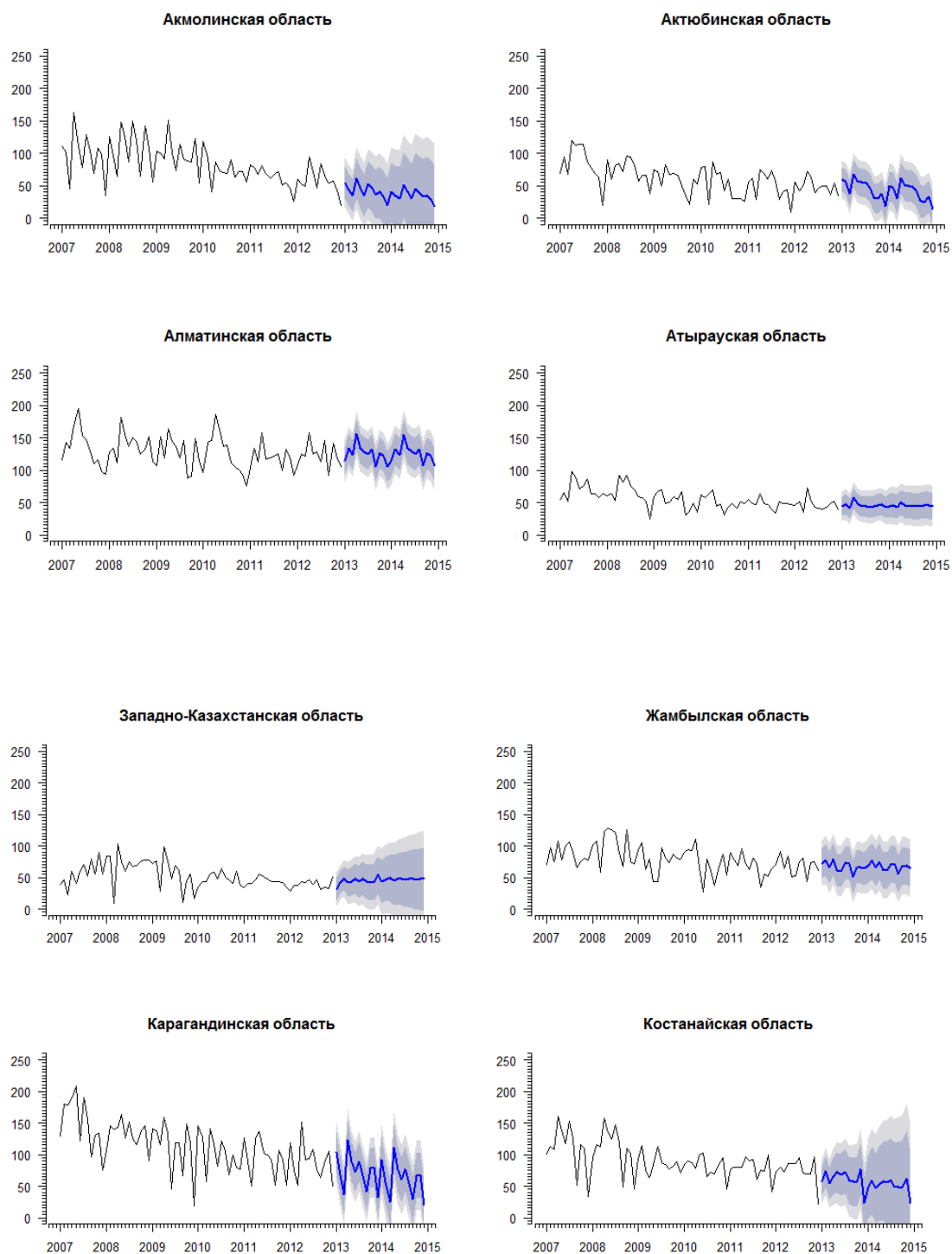


Рисунок 17 - Месячная заболеваемость ТБ по регионам Казахстана в 2007-2012гг. и прогноз на 2013-2014гг. (8 областей)



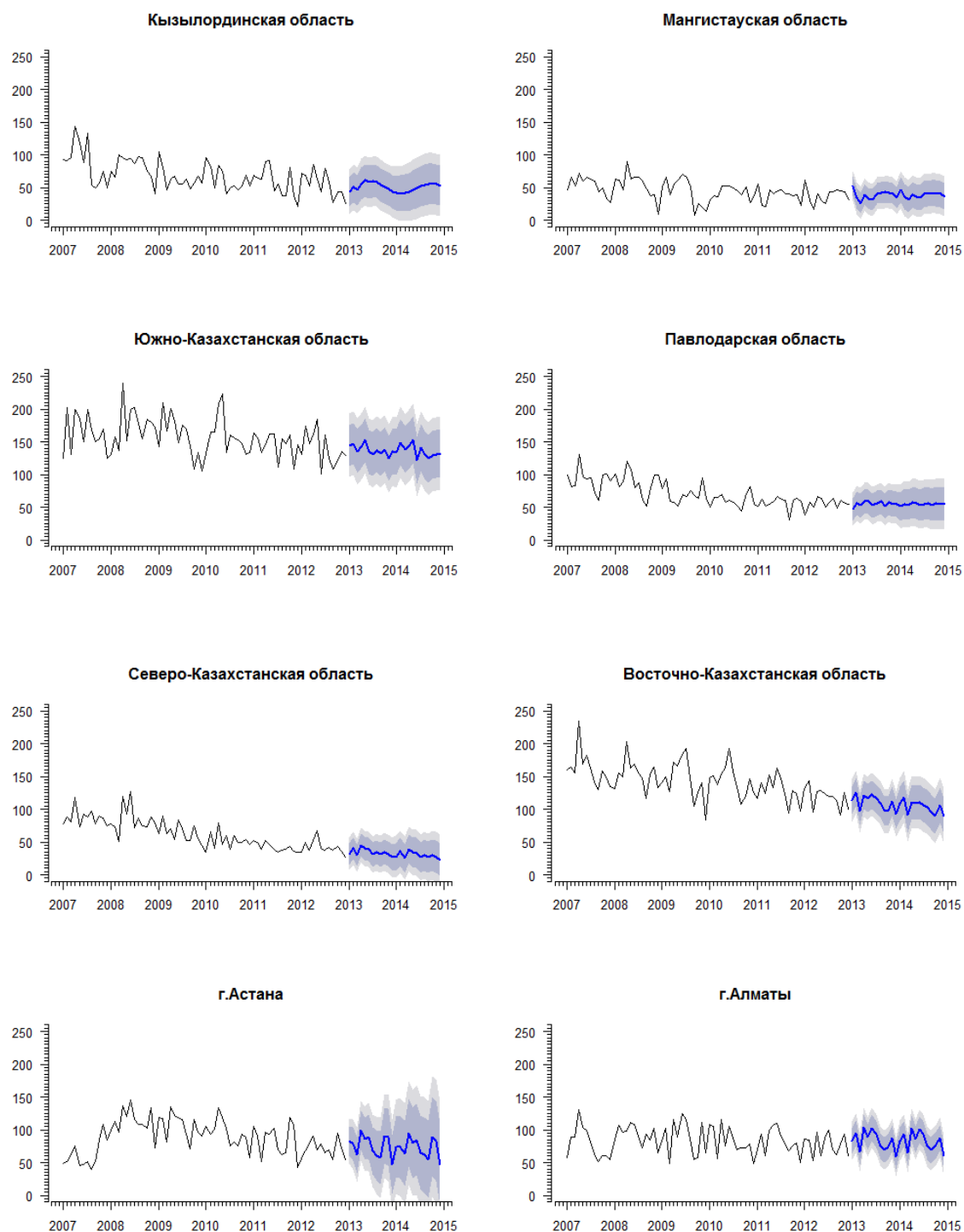


Рисунок 18 - Месячная заболеваемость ТБ по регионам Казахстана в 2007-2012гг. и прогноз на 2013-2014гг. (6 областей, г.Астана и Алматы)

Уточненный вариант прогноза по Казахстану представляет собой обобщение региональных моделей, при этом его дисперсия ниже, чем у модели, построенной только на основе данных по республике (рисунок 19).

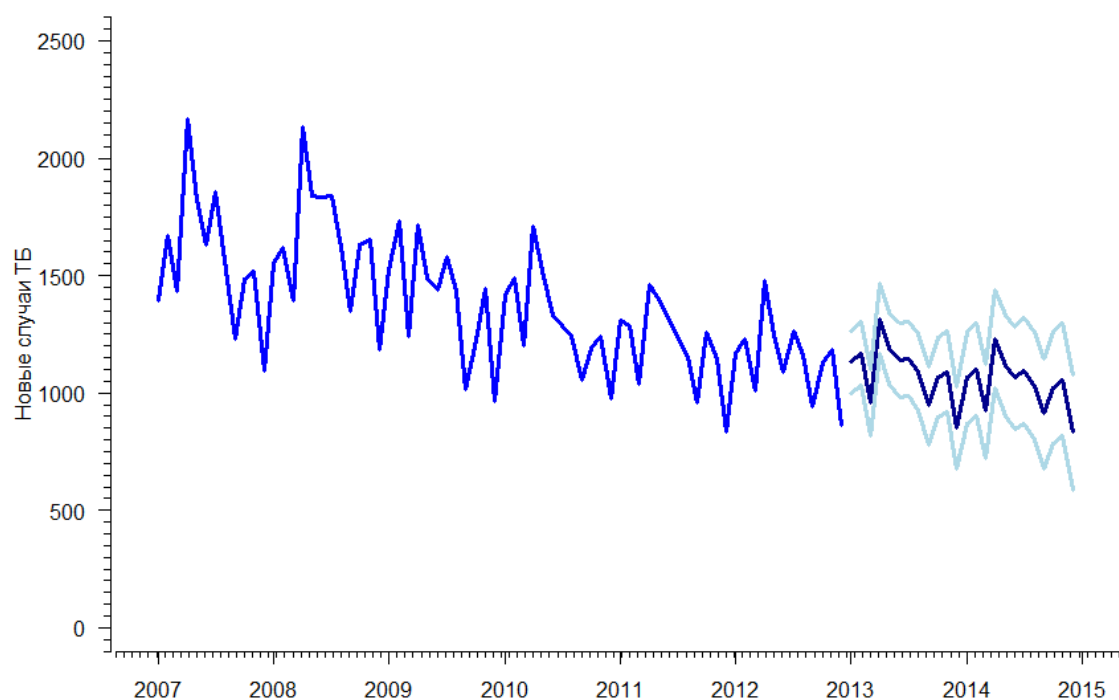


Рисунок 19 - Месячная заболеваемость ТБ в 2007-2012 годах и уточненный прогноз на 2013-2014 годы (Республика Казахстан) с использованием региональных данных

Прогноз на 2013-2014 годы представлен в таблице 20.

Таблица 20 - Прогноз месячной заболеваемости в 2013-2014 годах

| Год  |     | Прогноз | Нижняя граница 95% интервала | Верхняя граница 95% интервала |
|------|-----|---------|------------------------------|-------------------------------|
| 2013 | Jan | 1132    | 999                          | 1265                          |
|      | Feb | 1168    | 1030                         | 1306                          |
|      | Mar | 957     | 815                          | 1099                          |
|      | Apr | 1317    | 1168                         | 1467                          |
|      | May | 1189    | 1036                         | 1342                          |
|      | Jun | 1139    | 983                          | 1295                          |
|      | Jul | 1145    | 985                          | 1305                          |
|      | Aug | 1090    | 927                          | 1253                          |
|      | Sep | 946     | 779                          | 1112                          |
|      | Oct | 1068    | 898                          | 1237                          |
|      | Nov | 1091    | 918                          | 1264                          |
|      | Dec | 852     | 676                          | 1028                          |
| 2014 | Jan | 1063    | 871                          | 1256                          |
|      | Feb | 1098    | 900                          | 1296                          |
|      | Mar | 922     | 720                          | 1125                          |
|      | Apr | 1231    | 1023                         | 1440                          |
|      | May | 1116    | 903                          | 1330                          |
|      | Jun | 1065    | 847                          | 1283                          |
|      | Jul | 1094    | 871                          | 1317                          |
|      | Aug | 1029    | 801                          | 1257                          |
|      | Sep | 911     | 679                          | 1143                          |
|      | Oct | 1023    | 786                          | 1260                          |
|      | Nov | 1057    | 816                          | 1298                          |
|      | Dec | 832     | 587                          | 1077                          |

Представленный нами прогноз заболеваемости ТБ является среднесрочным, поскольку предсказывает новые случаи заболевания по месяцам в течение двух лет (всего 24 оценки). Увеличение этого периода не целесообразно вследствие значительного роста ошибки прогноза. Вышеприведенный прогноз заболеваемости может использоваться для планирования ответных мероприятий, так и для их оценки.

### *Модели ARIMAX*

Модели ARIMAX представляют собой расширение моделей ARIMA с добавлением учета внешних факторов (X - «eXtended»). Важно отметить, что в моделях прогнозирования внешние факторы должны учитываться в соответствующие моменты

времени, то есть в будущем, в течение периода прогнозирования. Например, в качестве внешнего фактора для временного ряда заболеваемости ТБ можно использовать величину душевого дохода, поскольку заболеваемость ТБ связана с питанием. Однако при прогнозировании в модели должны учитываться не фактические значения душевого дохода, а прогнозные. Получение прогнозных значений факторов, которые оказывают влияние на заболеваемость ТБ, является отдельной исследовательской задачей, которая будет решена при построении долгосрочной прогнозной модели заболеваемости ТБ. Учет внешних факторов для среднесрочного прогнозирования не имеет целесообразности из-за того, что внешние факторы, как правило, менее изменчивы и периодом их измерения является календарный год.

Таким образом, разработанная методика кратко- и среднесрочного прогнозирования заболеваемости туберкулезом и развития эпидемического процесса может использоваться для планирования профилактических и контрольных мероприятий.

8 Обучение дополнительного полевого штата (исполнителей проекта) из Кызылординской и Костанайской областей протоколам, процедурам и этическим аспектам исследования

С целью расширения набора участников исследования и ознакомления врачей фтизиатров из районных противотуберкулезных диспансеров с исследовательскими процедурами проведено два однодневных обучающих тренинга.

25 февраля 2013 г. в г. Костанай сотрудниками ЦИГЗЦА И НЦПТ проведен обучающий тренинг «Recruitment process, field operations and ethics in the TB project» для врачей-фтизиатров из районных противотуберкулезных диспансеров Костанайской области. Общее количество участников тренинга составило 13 человек.

29 апреля 2013 г. в г.Кызылорда организован тренинг для 14 врачей из Кызылординской области на базе ГУ «Кызылординский областной противотуберкулезный диспансер».

В рамках данных тренингов проведено обучение протоколам исследования, этическим аспектам, критериям пригодности и скрининга. Всего в 2-х регионах обучено 27 врачей фтизиатров, которые оказывают помощь в прескрининге больных новыми случаями туберкулеза, проживающих в районах, вошедших в выборку исследования.

Цели тренинга:

- 1) Дать общую информацию по проекту
- 2) Ознакомить врачей-фтизиатров с процедурами пошаговых действий по реализации программы и формирования групп участников исследования в изучаемых сайтах
- 3) Обучить полевой штат этическим аспектам (получение информированного согласия), протоколам исследования (критериям отбора, прескрининга участников исследования)
- 4) Ознакомить врачей-фтизиатров с формами сбора лабораторной и клинической информации разработанными в рамках программы

Программа тренинга включала следующие вопросы:

- Краткое описание проекта. Организационная структура проекта. Роли и задачи исполнителей проекта. Вопросы компенсации.
- Этические аспекты исследования. Информированное согласие.
- Субъекты исследования. Критерии пригодности Рекрутинг и скрининг индекс участников и внутреннего (семейного) контроля
- Практические вопросы рекрутинга
- Вопросы биобезопасности в микробиологических и генетических исследованиях
- Протокол менеджмента данных. ПИК (персональный идентификационный код)
- База данных для участников исследования . Отчетность, формы сбора клинической и лабораторной информации

После завершения тренинга слушателям были вручены сертификаты.

#### *Подготовка к тренингу*

Для координации действий были проведены рабочие совещания и скайп-коллы партнеров с решением организационных и финансовых вопросов тренинга.

На совещании утвержден:

- окончательный список лиц, задействованных в проведении полевых работ;
- подготовлен проект программы тренинга;
- назначены ответственные лица по проведению подготовительных работ и тренинга;

На предварительном этапе были сделаны запросы в пилотные районы, составлены списки участников тренинга, разослана программа тренинга. Утверждена дата проведения тренинга.

Перечень разработанных тренинг-материалов:

- a. программа тренинга
- b. учебно-тренировочный комплекс
- c. сертификаты участников тренинга

*Рабочая встреча сотрудников проекта с со-исследователями Колумбийского университета*

15 мая 2013 года два со-исследователя из Колумбийского университета, США находились в Республике Казахстан для встречи с командой, проводящей исследования. Основная цель совещания заключалась в обсуждении основной фазы исследования и подготовки публикаций для международных рецензируемых изданий.

Участники, вместе с американскими коллегами обсудили выполнение основной фазы исследования, включая все программные, логистические и административные вопросы, практические сложности исполнения, вовлечение персонала с соответствующим профессиональными навыками в регионах, оборудование 2-х новых полевых сайтов, способность проведения определенных исследований на местах, проблемы транспортировки биобразцов и т.д.

Участники также обсудили возможные направления и темы подготовки статей, которые будут подготовлены по результатам исследований.

Совещание проводилось в формате рабочей дискуссии.

В течение всего отчетного периода еженедельно проводились текущие консультации и скайп-коллы с экспертами Колумбийского университета по контролю качества проведения исследования, сбору информации, формированию базы данных и решению текущих проблем выполнения проекта.

Экспертами Колумбийского университета подготовлен постерный доклад Risk factors for tuberculosis in Kazakhstan: a case control study N. Schluger, A. Terlikbayeva, N.El-Bassel, M. Darisheva, Zh. Zhumadilov, B. Amirov на конференцию Американского сообщества пульмонологов, Пенсильвания, США, май, 2013 г.

На основании анализа предварительных данных полученных в результате полевых исследований и сбора информации в Алматинской области подготовлена статья для опубликования в международном издании с высоким импакт-фактором.

## 9 Картографирование индивидуальных и популяционных данных собранных в ходе исследования

Картирование индивидуальных данных осуществлялось в системе ГИС. Популяционные данные накапливаются и отражаются в системе НИСТ, описанной в следующей главе.

Сформирована база геоданных (в формате MS Access и Excel) по сбору случаев ТБ и контроля в разрезе пилотных областей Казахстана: Алматинская, Костанайская, Кызылординская области (масштаб 1:2 500 000), и г.Алматы (масштаб 1:50 000). Разработана структура и дизайн базы геоданных, определены форматы ввода и вывода данных. Структура базы данных по сбору случаев ТБ населения Алматинской, Костанайской, Кызылординской областей и г.Алматы создана на основе применения Классификатора административно-территориальных объектов (КАТО) и будет содержать данные в разрезе областей и районов. Отличительной чертой географических информационных систем является использование системы координат, часто в комбинации с топологией. В международной практике как стандарт для вычисления местоположений, расстояний и других параметров используется система WGS 84 (Мировая геодезическая система 1984 г.). Для того, чтобы выбрать наиболее подходящую проекцию в нашем случае учитывались такие аспекты, как сохранение равнопромежуточности при отображении того обширного участка земной поверхности, который занимает Республика Казахстан. При создании векторных слоев одновременно создавались так называемые аннотации – слои, содержащие надписи-названия сопредельных государств, населенных пунктов, физико-географических объектов и другую информацию, необходимую для отображения на картах. Информация для надписывания и размещения на картах была занесена в атрибутивные таблицы каждого создаваемого слоя. Помимо этого, атрибутивные таблицы содержат в себе данные для классификации объектов, оценки их площадных размеров и т.д.



Общее визуальное представление сбора данных в пилотных областях по «Индивидуальной регистрационной карте участника» (текущее состояние) представлено на рисунке 20, и по URL адресу в всемирной сети:

<http://www.arcgis.com/apps/HeaderFooter/main/index.html?appid=3fb1737764fe49a19c7c737941fc10ad>

Точки регистрации случаев ТБ на картах определены географическими координатами (сертифицированными GSM приемниками) по системе WGS 84 (рисунок 20).

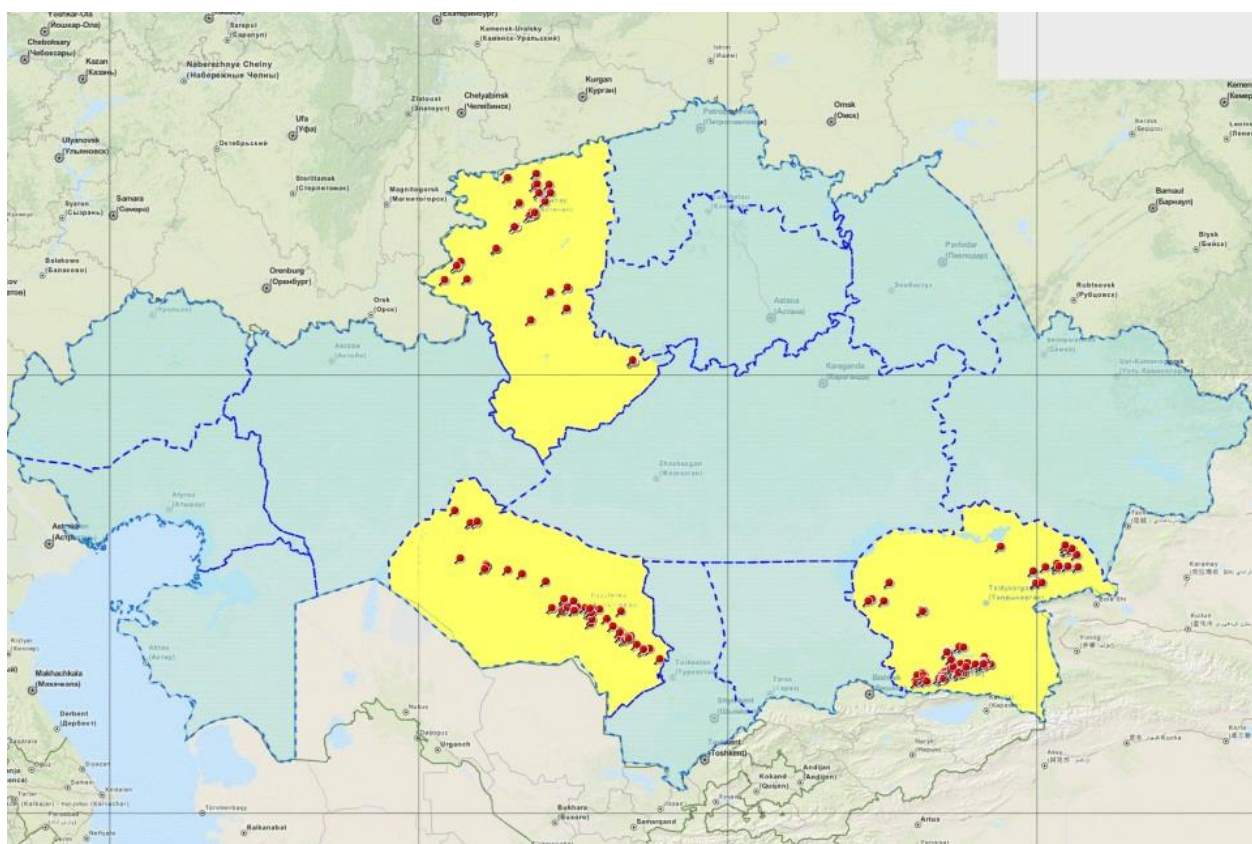


Рисунок 20 – Пространственное распределение индекс-случаев, вошедших в исследование в изучаемых регионах

Далее представлены отдельные векторные карты по 4 пилотным областям в геопространственном распределении индекс случаев, рисунки 21,22, 23, 24.

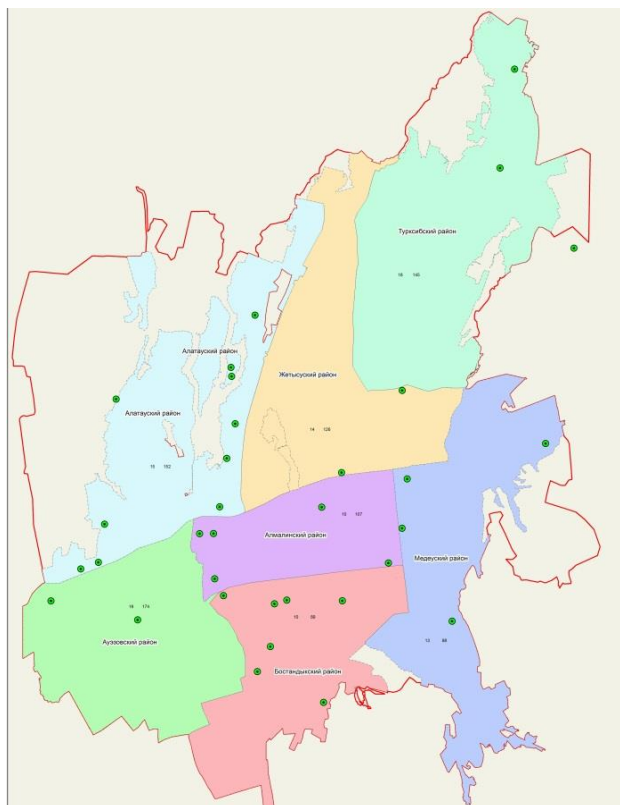


Рисунок 21 – Пространственное распределение индекс-случаев в г.Алматы, (n=40)

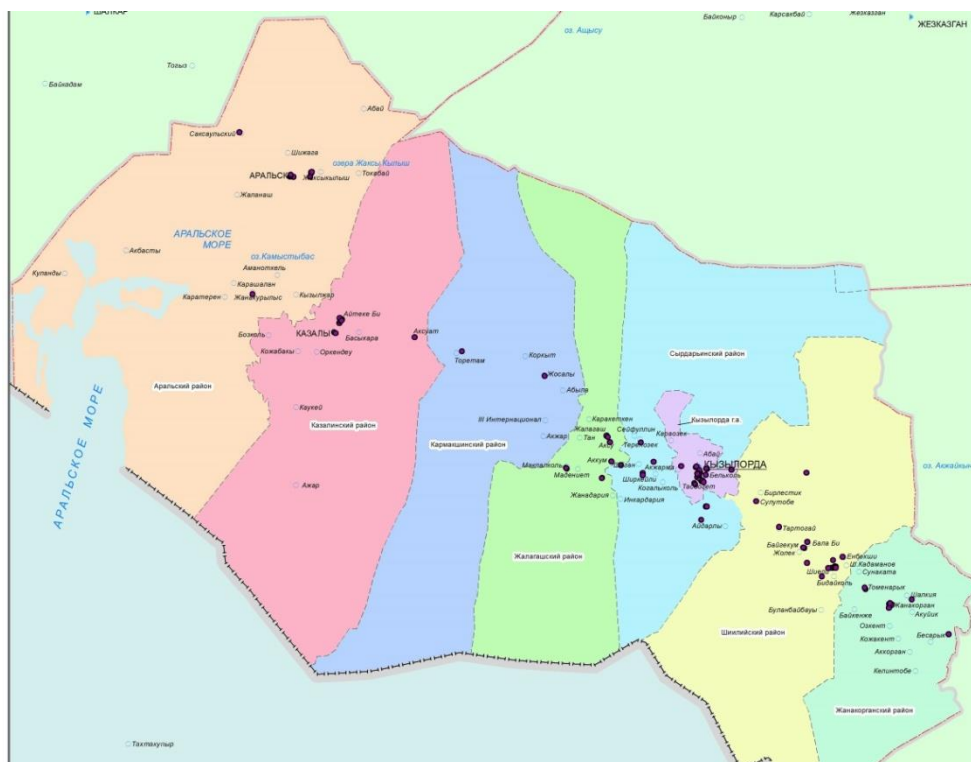


Рисунок 22 – Пространственное распределение индекс-случаев в Кызылординской области, (n=103)

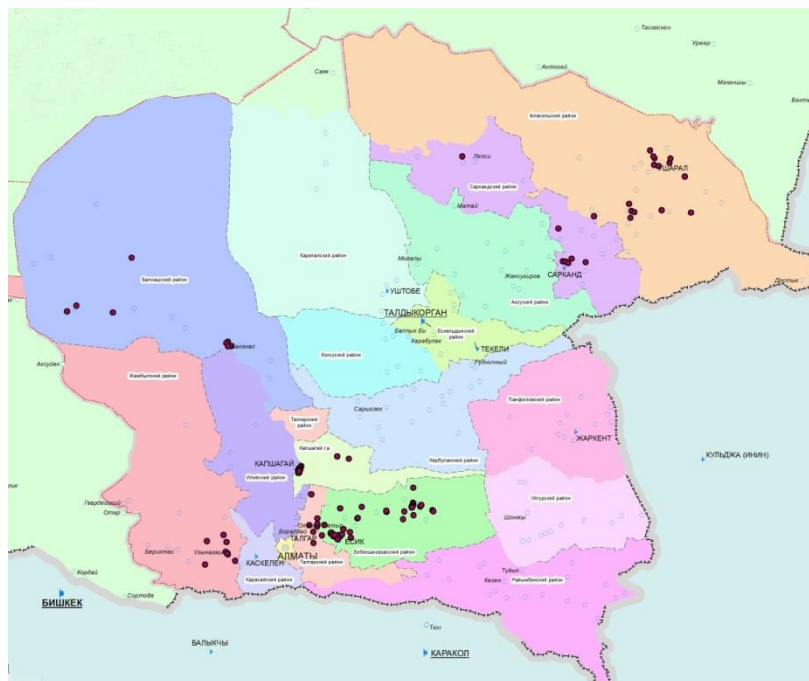


Рисунок 23– Пространственное распределение индекс-случаев в Алматинской области,  
(n=110)

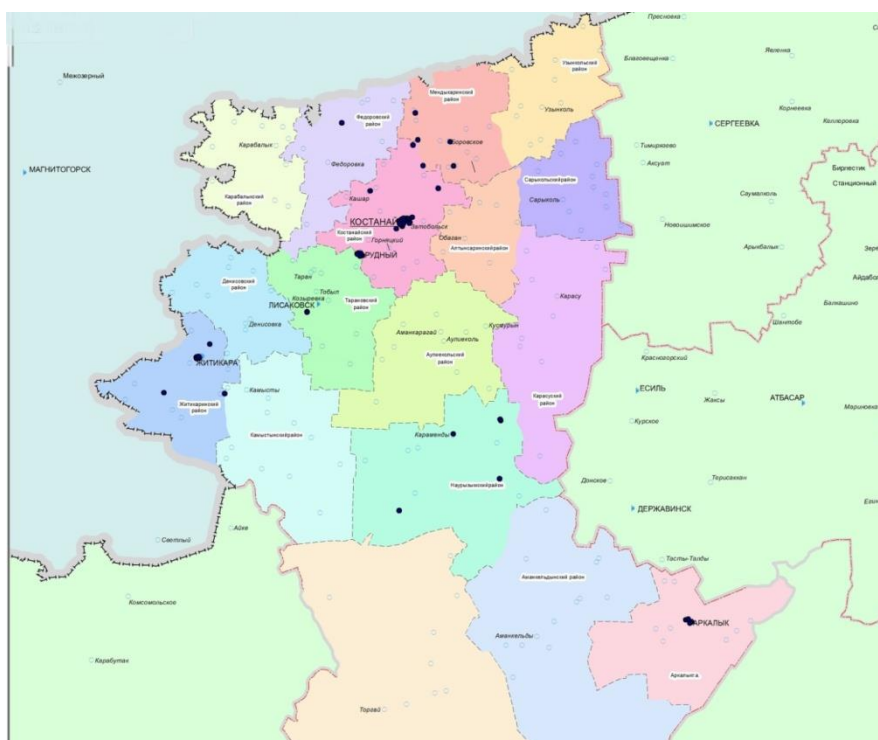


Рисунок 24 – Пространственное распределение индекс-случаев  
в Костанайской области, (n=80)

## 10 Разработка Национальной интерактивной информационной системы по ТБ

В основе идеи программы лежит версия программы DPS (Data Presentation System), разработанная ВОЗ для общественного здравоохранения. Ее аналогом является программа OTIS (Online Tuberculosis Information System), разработанная в США также для нужд здравоохранения. Программы не используют никакие коммерческие продукты и алгоритмы, и используют свободный программный код, что позволяет модифицировать их под нужды других систем.

Цель программы состоит в том, чтобы вывести на экран любые статистические данные, сопряженные с географической областью в удобной для пользователя, графической и табличной форме. Программа содержит широкий набор данных по показателям туберкулеза, а также демографическим, социально-экономическим, экологическим данным, а также данным по ресурсам здравоохранения, касающиеся лечения и профилактики туберкулеза.

Идея состоит в том, чтобы сделать выбор тех или иных показателей, сравнить их, посмотреть в динамике и сделать выводы или заключения о взаимосвязанности тех или иных показателей.

Программа позволяет вводить данные только доверенному оператору. Можно вводить данные по схеме: показатель - географическая локализация (страна, область, район); временная точка (год, квартал или месяц).

Источником информации являются Национальный центр проблем туберкулеза, который вместе с текущим проектом собирает и анализирует данные по туберкулезу. Источником демографических и социально-экономических данных является Агентство по статистике Республики Казахстан.

В основу работы Национальной интерактивной информационной системы (НИСТ) положен алгоритм запросов от пользователей (рисунок 25). Пользователь получает данные при выборе тех или иных показателей, заложенных в систему. Возможны три уровня запросов: страна, область, район. Запрос также определяется показателями: координаты, пол, возраст, случай ТБ, диагноз, лечение, исход.

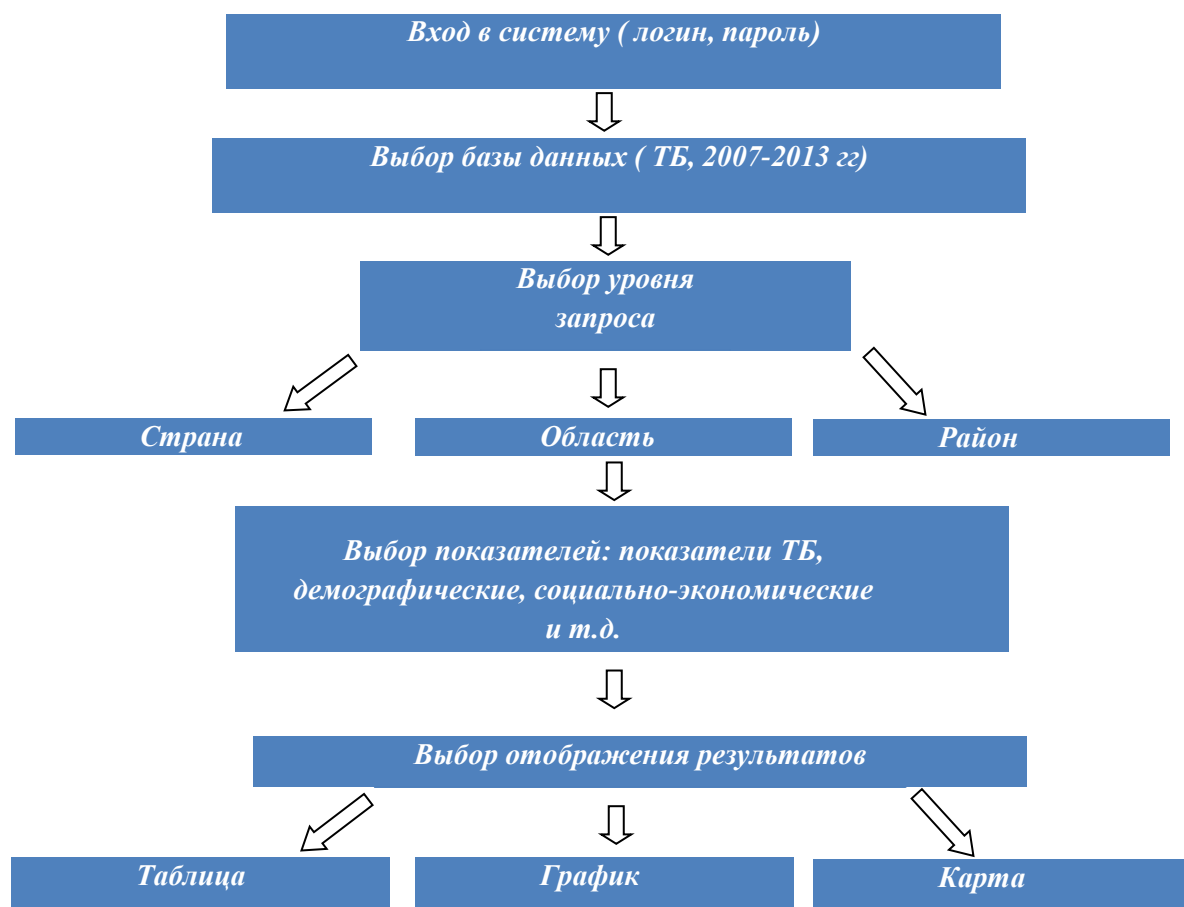


Рисунок 25 – Схема работы системы НИСТ

В настоящее время версия программы локальная, работает только при установке на компьютер. Ведется разработка сетевой версии.

#### КРАТКИЙ АЛГОРИТМ ПО РАБОТЕ С ПРОГРАММОЙ НИСТ

После запуска программы на экране появится приветствие в виде логотипа проекта. После появится окно выбора параметров.

Для выбора параметров необходимо указать (рисунок 26):

1. В поле «Показатели» отметить интересующие Вас показатели (один или несколько). Отмеченные показатели отображаются в поле «Выбранные показатели»;

2. Установить переключатель «Параметры» в нужное положение (если выбран уровень «Казахстан», то данные будут представлены в разрезе областей, если уровень «Область», то в разрезе районов выбранной области);
3. В поле «Страны» указать, нужную для просмотра данных область (одну или несколько) или район (один или несколько).
4. В поле «Годы» выбрать год (один или несколько).

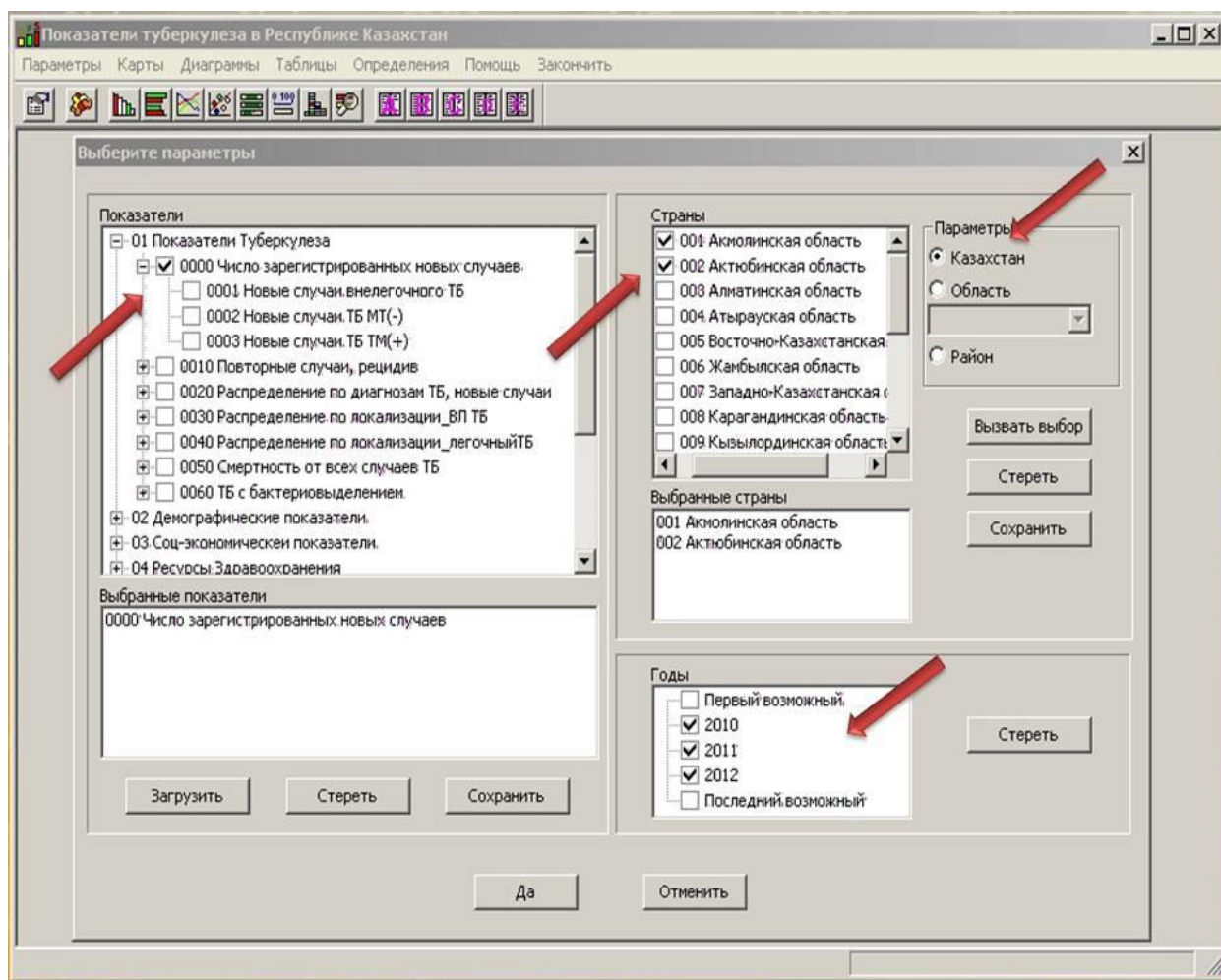


Рисунок 26 – Образец составления запроса в НИСТ

После запроса можно выбрать результаты в виде:



- КАРТЫ – представляет выбранные показатели в форме карты
- ДИАГРАММЫ – представляет выбранные показатели в форме 12-ти различных графических форм.
- ТАБЛИЦЫ – представляет выбранные показатели в форме 4-х разных таблиц.

*Примеры представления данных:*

*Карты:*

Цель: Представить выбранные показатели в виде карты. Области/районы (рисунки 27 ) окрашены соответственно значению показателя.

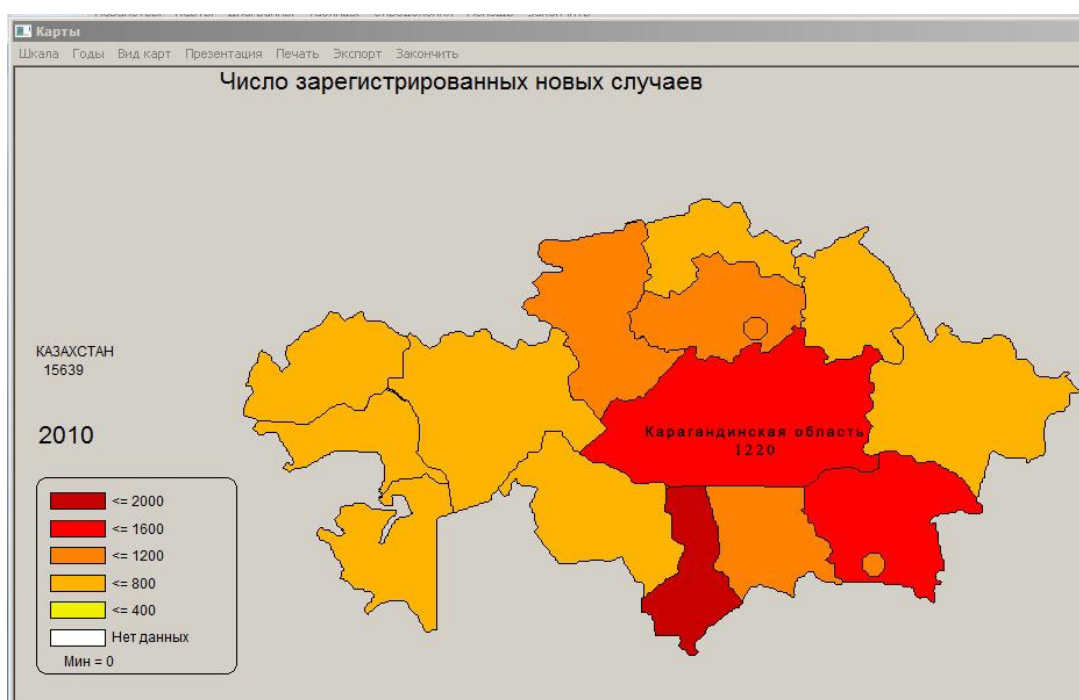


Рисунок 27– Картографическое представление данных по ТБ на уровне областей в системе НИСТ

При наведении указателя на интересующую область выводится значение показателя.

Для просмотра карты в разрезе районов, необходимо кликнуть по нужной области, например: Алматинская обл ( рисунок 28 ).

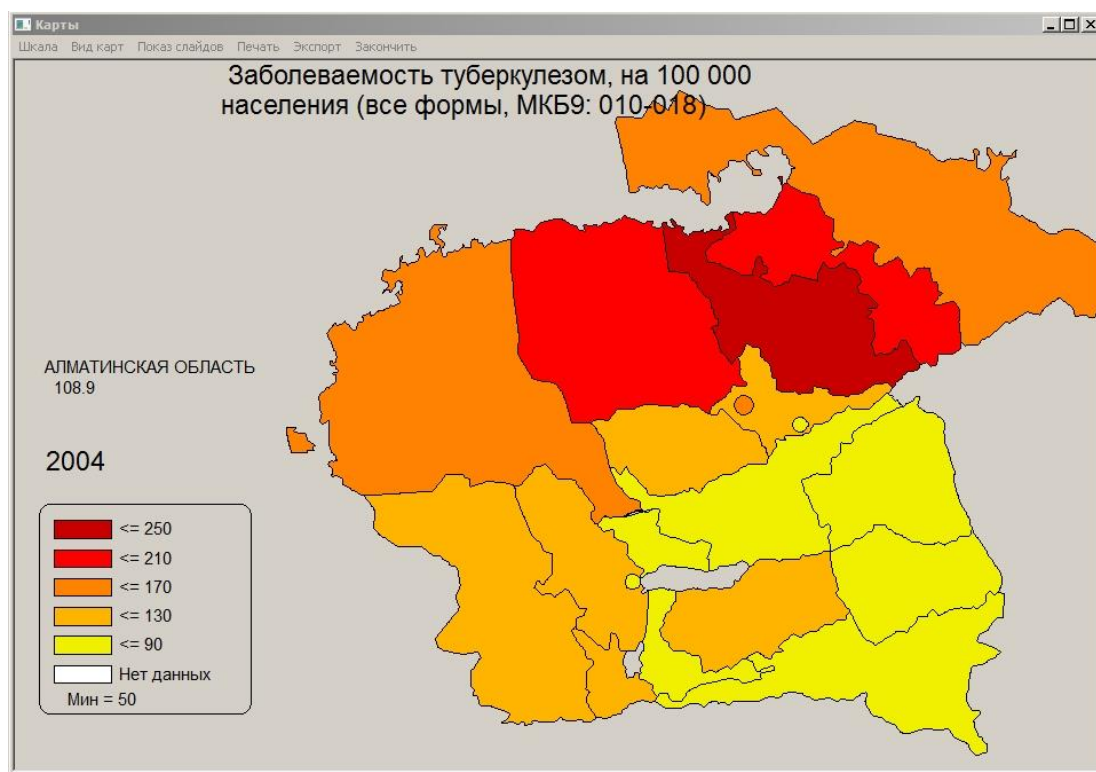


Рисунок 28 - Картографическое представление данных по ТБ на уровне районов в системе НИСТ

Функция «ЭКСПОРТ» позволяет копировать график для работы с другими приложениями. Пункт меню «ПЕЧАТЬ» выводит график на печать.

### *Диаграммы*

В разработанной информационной системе НИСТ данные могут быть представлены, в виде 12 различных видов диаграмм.

Цель: Представить и сравнить выбранный показатель в разрезе областей



(например рисунок 29)

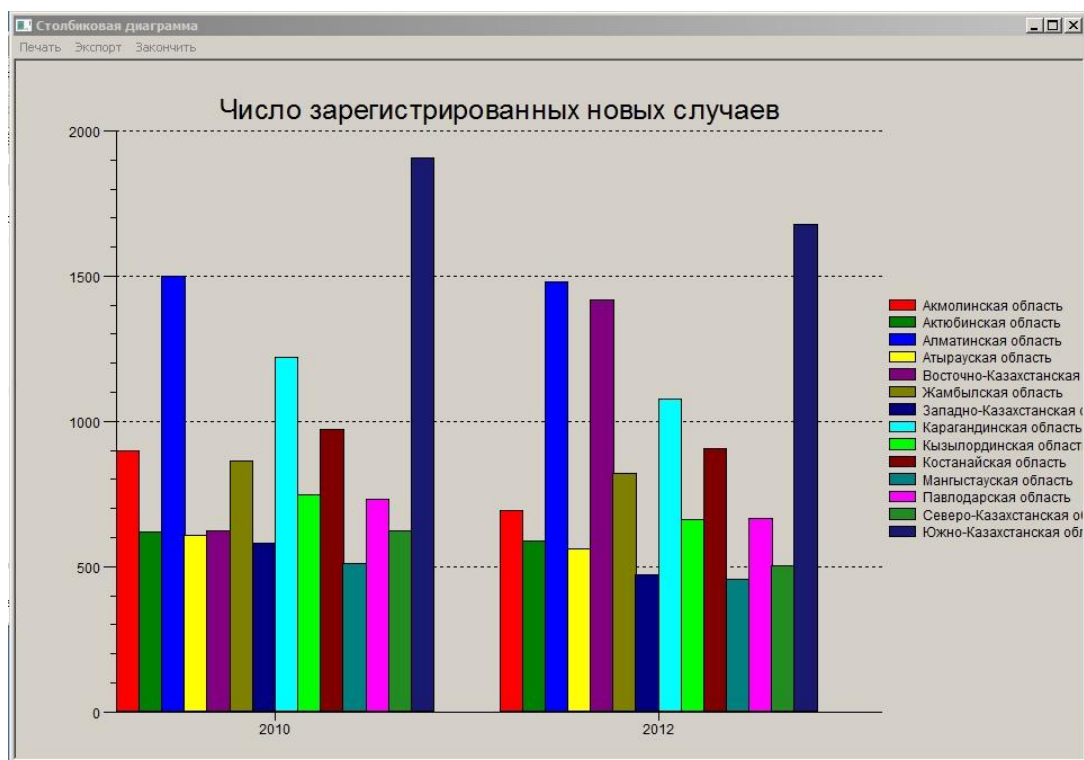


Рисунок 29 – Графическое представление данных по ТБ в разрезе областей в системе НИСТ

Ранжировать и сравнить все области по значению выбранного показателя в соответствующем году. Этот график позволяет представить название областей и два года (рисунок 30).



Рисунок 30- Образец выполнения запроса в виде ранжированной столбиковой диаграммы

### Линейная диаграмма.

Цель: Представить и сравнить динамику показателей для выбранных областей (рисунок 31).

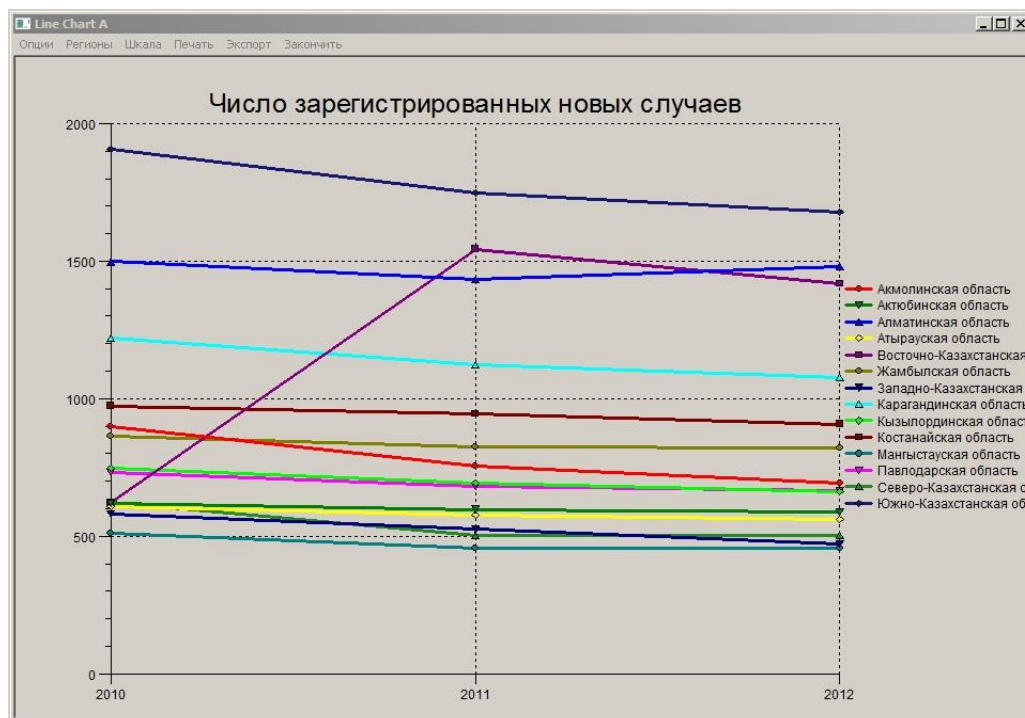


Рисунок 31 - Образец выполнения запроса в виде линейной диаграммы.

### Рассеянная диаграмма

Цель: Визуализировать взаимосвязь между двумя показателями (рисунок 32 ).

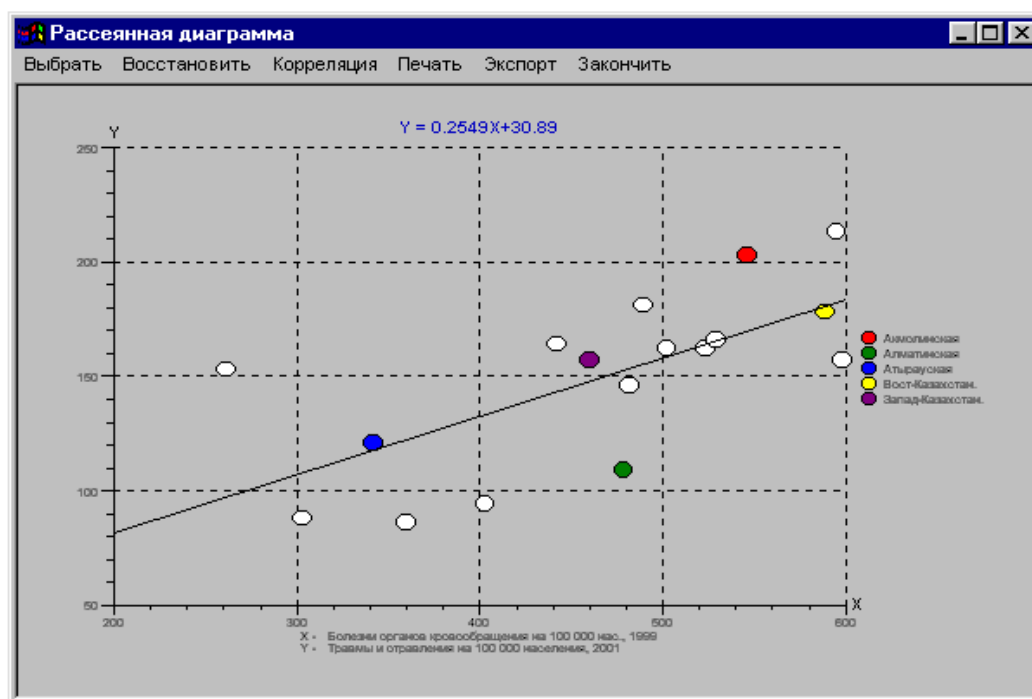


Рисунок 32 - Образец выполнения запроса в виде рассеянной диаграммы

### *Обзор страны*

Цель: Позволяет быстро просмотреть все показатели для выбранной страны и определить те из них, по которым данная страна имеет очень низкие или высокие значения, указывая на возможную проблему или другие специфические характеристики страны (рисунок 33). Представляются конкретные значения показателей и соответствующая перцентиль.

| Акмолинская область                              |           |           |           |  |
|--------------------------------------------------|-----------|-----------|-----------|--|
| Индикаторы                                       | 2010      | 2011      | 2012      |  |
| 0000 Число зарегистрированных новых случаев      | 898 - 53% | 754 - 41% | 694 - 41% |  |
| 0001 Новые случаи внелегочного ТБ                | 82 - 29%  | 66 - 24%  | 39 - 6%   |  |
| 0002 Новые случаи ТБ МТ(-)                       | 551 - 53% | 424 - 35% | 384 - 41% |  |
| 0003 Новые случаи ТБ ТМ(+)                       | 265 - 35% | 264 - 47% | 270 - 59% |  |
| 0010 Повторные случаи, рецидив                   | 177 - 12% | 152 - 12% | 183 - 24% |  |
| 0011 Рецидив ТБ легких МТ(-)                     | 114 - 24% | 126 - 12% | 114 - 12% |  |
| 0012 Рецидив внелегочного ТБ                     | 15 - 18%  | 12 - 12%  | 12 - 0%   |  |
| 0013 Неудача лечения                             | 41 - 47%  | 50 - 71%  | 27 - 53%  |  |
| 0014 Неудача лечения легких МТ(-)                | 7 - 59%   | 20 - 82%  | 2 - 35%   |  |
| 0015 Неудача лечения внелегочного ТБ             | 2 - 71%   | 1 - 65%   | ...       |  |
| 0016 Лечение после перерыва                      | 56 - 59%  | 31 - 47%  | 10 - 29%  |  |
| 0017 Лечение после перерыва ТБ легких МТ(-)      | 8 - 47%   | 4 - 47%   | 3 - 24%   |  |
| 0018 Лечение после перерыва ВЛ ТБ                | ...       | ...       | ...       |  |
| 0020 Распределение по диагнозам ТБ, новые случаи | ...       | ...       | ...       |  |
| 0021 Внелегочной ТБ других органов               | ...       | 20 - 29%  | 13 - 35%  |  |
| 0022 Другие формы легочного ТБ                   | 810 - 47% | 683 - 41% | 649 - 41% |  |
| 0023 Костей и суставов                           | 11 - 35%  | 7 - 12%   | 6 - 12%   |  |
| 0024 Милиарный ТБ легких                         | ...       | ...       | 1 - 35%   |  |
| 0025 Мозговых оболочек и ЦНС                     | ...       | ...       | ...       |  |
| 0026 Мочеполовых органов                         | 2 - 35%   | 6 - 71%   | 2 - 29%   |  |
| 0027 Плевриты                                    | 41 - 35%  | 32 - 24%  | 17 - 6%   |  |
| 0028 Фиброзно-кавернозный ТБ легких              | 1 - 59%   | 1 - 71%   | ...       |  |
| 0030 Распределение по локализации ВЛ ТБ          | ...       | ...       | ...       |  |
| 0031 Лечение после перерыва ВЛ ТБ                | ...       | ...       | ...       |  |
| 0032 Неудача лечения внелегочного ТБ             | 2 - 71%   | 1 - 65%   | ...       |  |
| 0033 Новый случай внелегочного ТБ                | 82 - 29%  | 66 - 24%  | 39 - 6%   |  |
| 0034 Рецидив внелегочного ТБ                     | 15 - 12%  | 12 - 12%  | 12 - 0%   |  |
| 0040 Распределение по локализации легочный ТБ    | ...       | ...       | ...       |  |
| 0041 Лечение после перерыва ТБ легких МТ(-)      | 8 - 47%   | 4 - 47%   | 2 - 24%   |  |
| 0042 Лечение после перерыва                      | 56 - 59%  | 31 - 47%  | 10 - 29%  |  |
| 0043 Неудача лечения ТБ легких МТ(-)             | 7 - 59%   | 20 - 82%  | 2 - 35%   |  |
| 0044 Неудача лечения                             | 41 - 47%  | 50 - 71%  | 27 - 53%  |  |
| 0045 Новый случай ТБ легких МТ(-)                | 551 - 53% | 424 - 35% | 384 - 41% |  |
| 0046 Новый случай ТБ легки- МТ(+)                | 265 - 35% | 264 - 47% | 270 - 59% |  |
| 0047 Рецидив ТБ легких МТ(-)                     | 114 - 24% | 126 - 12% | 114 - 12% |  |
| 0048 Рецидив                                     | 177 - 12% | 152 - 12% | 183 - 24% |  |
| 0050 Смертность от всех случаев ТБ               | ...       | ...       | ...       |  |
| 0051 От активных форм ТБ                         | 65 - 18%  | 51 - 18%  | 41 - 12%  |  |
| 0060 ТБ с бактериовыделением                     | ...       | ...       | ...       |  |
| 0061 Лечение после перерыва                      | 56 - 59%  | ...       | 10 - 29%  |  |
| 0062 Неудача лечения                             | 41 - 47%  | 50 - 71%  | 27 - 53%  |  |
| 0063 Рецидив                                     | 177 - 12% | 152 - 12% | 183 - 24% |  |

Рисунок 33 - Образец выполнения запроса на уровне страны

Значение показателя в зеленом, если оно находится в пределах 80-ти средних перцентилей. Значение показателя в желтом, если оно находится в пределах 6-10 или 91-95 перцентилей. Значение показателя в красном, если оно ниже 5-той или выше 95-той перцентилей.

*Табличные виды представления данных:*

Цель: Представить значения выбранных показателей для всех стран и выбранных годов в виде обычной таблицы (рисунок 34).

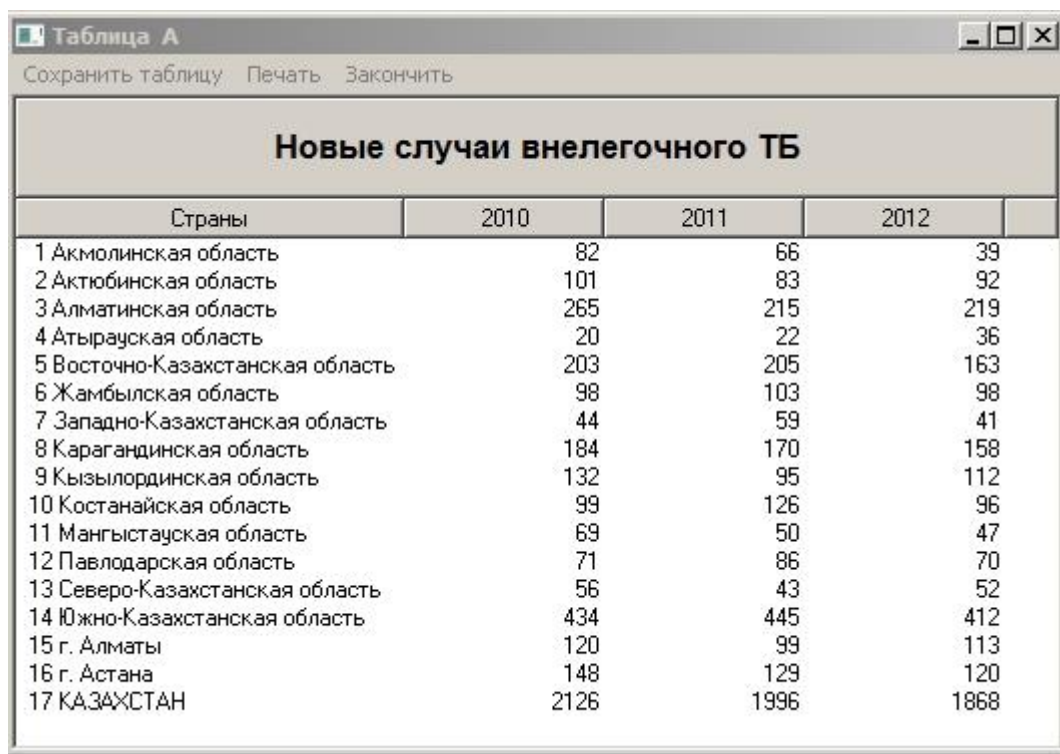


Таблица А

Сохранить таблицу Печать Закончить

| Новые случаи внелегочного ТБ     |      |      |      |  |
|----------------------------------|------|------|------|--|
| Страны                           | 2010 | 2011 | 2012 |  |
| 1 Акмолинская область            | 82   | 66   | 39   |  |
| 2 Актюбинская область            | 101  | 83   | 92   |  |
| 3 Алматинская область            | 265  | 215  | 219  |  |
| 4 Атырауская область             | 20   | 22   | 36   |  |
| 5 Восточно-Казахстанская область | 203  | 205  | 163  |  |
| 6 Жамбылская область             | 98   | 103  | 98   |  |
| 7 Западно-Казахстанская область  | 44   | 59   | 41   |  |
| 8 Карагандинская область         | 184  | 170  | 158  |  |
| 9 Кызылординская область         | 132  | 95   | 112  |  |
| 10 Костанайская область          | 99   | 126  | 96   |  |
| 11 Мангыстауская область         | 69   | 50   | 47   |  |
| 12 Павлодарская область          | 71   | 86   | 70   |  |
| 13 Северо-Казахстанская область  | 56   | 43   | 52   |  |
| 14 Южно-Казахстанская область    | 434  | 445  | 412  |  |
| 15 г. Алматы                     | 120  | 99   | 113  |  |
| 16 г. Астана                     | 148  | 129  | 120  |  |
| 17 КАЗАХСТАН                     | 2126 | 1996 | 1868 |  |

Рисунок 34 – Представление данных в табличном виде в системе НИСТ

Можно также использовать «СОЗДАНИЕ ВРЕМЕННЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ» располагающийся в пункте меню «Параметры», что позволяет вычислять новые показатели, используя показатели, имеющиеся в базе данных, например (рисунок 35).

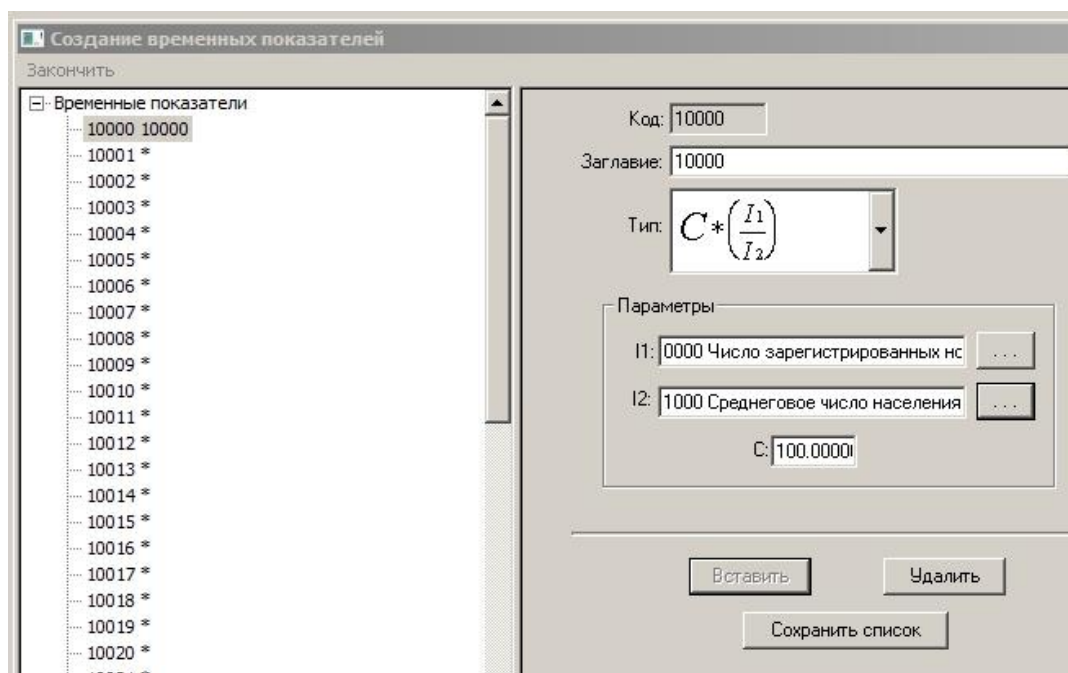


Рисунок 35 – Вычисление дополнительных показателей в системе НИСТ

#### *Практическая значимость НИСТ:*

НИСТ является системой сбора, анализа и распространения агрегированных данных, включает все географические области страны и позволяет анализировать показатели на уровне административных районов. Система содержит как данные по туберкулезу, так и комплексу других показателей необходимых для отслеживания эпидемиологии туберкулезной инфекции. НИСТ позволяет оценить геопространственное распределение и распространение ТБ инфекции, визуализировать эпидемиологический процесс, а также основные факторы, влияющие на него. Использование интерактивной системы сбора и распространения информации в работе противотуберкулезной службы позволит определить приоритетные направления эпидемиологического надзора и контроля, предложить меры по оптимизации профилактики.

Система имеет неоспоримое преимущество перед другими информационными системами, а именно:

- Бесплатность

- Легкость во внедрении
- Достаточны минимальные технические характеристики компьютера

Система НИСТ рекомендовано для МЗ, НЦПТ, а также для всех учреждений здравоохранения, занимающихся проблемами туберкулеза.

Одним из возможных недостатков системы может являться оперативность подачи данных, т.е. насколько быстро будут собираться, и загружаться актуальные данные по тем или иным показателям, входящих с систему.

## 11 Накопление и управление данными проекта

Сбор данных для проекта осуществляется по индивидуальному и популяционному принципу. На индивидуальном уровне данные собираются в базы, построенные в MS Access и Excel, а также в персональные анкеты, разработанные и хранящиеся в среде системы DatStat.

На популяционном уровне собираются агрегированные данные, относящиеся к районам, областям и республике в целом. Программным средой для этих данных является система НИСТ, описанная в предыдущем разделе. Эти данные можно подразделить на следующие группы:

- социально-демографические
- эпидемиологические
- социально-экономические
- экологические

### *Индивидуальный уровень.*

Для проекта разработаны базы данных по первичным случаям ТБ (рисунки 36). Данная база предназначена для сбора и первичной обработки данных из регистра ТВ, предоставляемого НЦПТ. Данные представлены по областям и районам страны за период с 2007 по 2012 год.



режимы буфер обмена Сортировка и фильтр Записи Найти

Все объекты Access

- Бак-выд Костанайская
- Бак-выд Кызылординская
- Бак-выделители
- Диспансерная группа
- Диспансерная группа Алматинская область
- Диспансерная группа г Алматы
- Диспансерная группа Костанайская область
- Диспансерная группа Кызылординская обла...
- По возрастным группам
- По диагнозам
- По диагнозам Алматинская область
- По диагнозам Алматы
- По диагнозам Костанайская область
- По диагнозам Кызылординская обл
- По локализации ТБ
- По локализации ТБ Алматинская область
- По локализации ТБ г Алматы
- По локализации ТБ Костанайская область
- По локализации ТБ Кызылординская область
- Случаи ТБ
- Случаи ТБ по Алматинская область
- Случаи ТБ по всем районам
- Случаи ТБ по г Алматы
- Случаи ТБ по Костанайская область

## Ввод данных: 2007-2012

Ввод данных в общую базу

Код: 1

DataAge: 28452

Age: 33

DispGr: IA

Case: новый

DataReg: 40732

localTB: легочный ТБ

Diagnos:

Address:

Oblast:

Rayon:

City:

Street:

Эта форма предназначена для ввода новых, и редактирования уже введенных данных

Рисунок 36 – База данных по случаям ТБ

Аналогичная база собрана по МЛТУ ТБ за 2007-2011 гг.

Для сбора клинической и лабораторной информации об участниках исследования была разработана пилотная база, которая является дополнением к проведению компьютеризированного опроса в DatStat.

Данные вводятся и анализируются по 4 видам анкет на казахском и русском языках (рисунок 37,38,39).

 **Data Manager**

PROJECTS

🔍 >  **TB Study**

**TB Study**

Published Surveys (5)

Test Surveys (3)

Cross Survey Views (0)

Reports (0)

**Name**

TB 12MO FU

TB 6MO FU

TB BASELINE FINAL

TB ClientRegForm

TB UNI SCREENER FINAL

Рисунок 37 – Список анкет в Datstat для проекта



**Исследование распространённости туберкулёза  
и проблем, связанных с этим заболеванием**  
Чтобы начать заполнение анкеты, нажмите на кнопку внизу:

**НАЧИНАЕМ НАШ ОПРОС**

Рисунок 38– Пример входа в анкету Datstat online

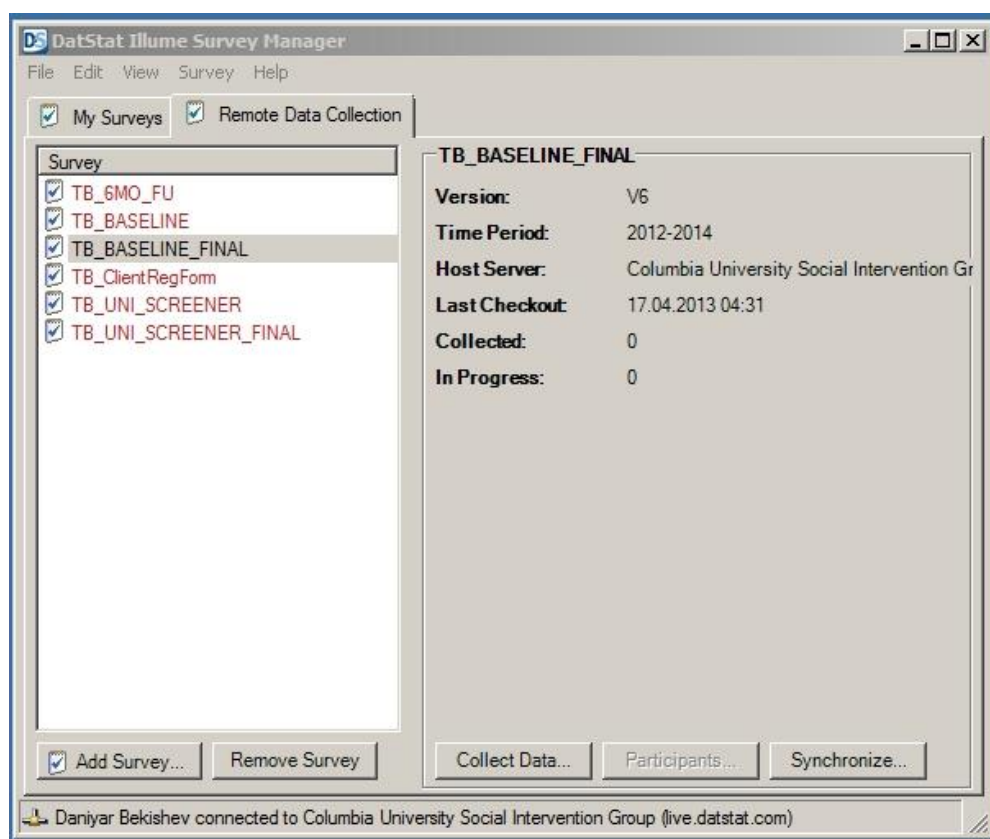


Рисунок 39 – Пример входа в анкету Datstat offline (локально)

База данных «Индивидуальной регистрационной карты» (ИРК) ( разработанная в формате MS Access), используется для сбора книнической и лабораторной информации (рисунки 40,41,42,43).

**Индивидуальная регистрационная карта участника**

История болезни | Мокрота | Генетика мокроты | Генетика человека

Сведения о лице, заполнившем карту: \_\_\_\_\_

ФИО: \_\_\_\_\_ Код: (№) \_\_\_\_\_

Должность в проекте: \_\_\_\_\_ Дата заполнения: \_\_\_\_\_

**РАЗДЕЛ 1. Данные из истории болезни (заполняются врачом)** Группа: \_\_\_\_\_

**Сведения об участнике проекта**

ФИО: \_\_\_\_\_

Пол: \_\_\_\_\_ Дата рождения: \_\_\_\_\_ Национальность: \_\_\_\_\_

Дата регистрации: \_\_\_\_\_ Регистрационный номер Datstat: \_\_\_\_\_ ID субкомпонента: \_\_\_\_\_

Адрес фактического места проживания:

Область: \_\_\_\_\_ Город: \_\_\_\_\_ Район: \_\_\_\_\_

улица-дом: \_\_\_\_\_ место проживания: \_\_\_\_\_ гражданство: \_\_\_\_\_

рост: \_\_\_\_\_ вес: \_\_\_\_\_ Индекс массы тела (кг/м2): \_\_\_\_\_

Выявление ТБ: \_\_\_\_\_ Профосмотр: \_\_\_\_\_

Социально-профессиональный статус: \_\_\_\_\_

Факторы риска (возможны несколько вариантов): \_\_\_\_\_

Клиническая форма: \_\_\_\_\_ Диагноз по МКБ: \_\_\_\_\_

Бактериовыделение: \_\_\_\_\_ Распространенность ТБ процесса: \_\_\_\_\_ сегментов: \_\_\_\_\_

Наличие полости распада: \_\_\_\_\_ Если Да, - ее размер \_\_\_\_\_ см -- на \_\_\_\_\_ см

Рисунок 40 – Электронная форма индивидуальной регистрационной карты

**Индивидуальная регистрационная карта участника**

История болезни | Мокрота | Генетика мокроты | Генетика человека

Заполняется врачом. Сведения о лице, заполнившем карту: \_\_\_\_\_

ФИО: \_\_\_\_\_

Должность в проекте: \_\_\_\_\_ Дата заполнения: \_\_\_\_\_

регистрационный номер больного: \_\_\_\_\_ номер субкомпонента: \_\_\_\_\_

**РАЗДЕЛ 2. Исследования мокроты на МБТ и НКХ на плотных средах (Л-Й) и на жидких средах (БАКТЕК)**

| Микроскопия<br>мазка<br>мокроты | Результат посева           |                                 | ТЛЧ МБТ на устойчивость |                      |                      |                      |                           |                      |                      |                      |                      |
|---------------------------------|----------------------------|---------------------------------|-------------------------|----------------------|----------------------|----------------------|---------------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
|                                 | на плотных<br>средах (Л-Й) | на жидких<br>средах<br>(БАКТЕК) | на плотных средах (Л-Й) |                      |                      |                      | на жидких средах (БАКТЕК) |                      |                      |                      |                      |
|                                 |                            |                                 | Н                       | R                    | S                    | E                    | Н                         | R                    | S                    | E                    |                      |
| при<br>поступлении              | <input type="text"/>       | <input type="text"/>            | <input type="text"/>    | <input type="text"/> | <input type="text"/> | <input type="text"/> | <input type="text"/>      | <input type="text"/> | <input type="text"/> | <input type="text"/> | <input type="text"/> |
| Через 2<br>месяца               | <input type="text"/>       | <input type="text"/>            | <input type="text"/>    | <input type="text"/> | <input type="text"/> | <input type="text"/> | <input type="text"/>      | <input type="text"/> | <input type="text"/> | <input type="text"/> | <input type="text"/> |
| через 3<br>месяца               | <input type="text"/>       | <input type="text"/>            | <input type="text"/>    | <input type="text"/> | <input type="text"/> | <input type="text"/> | <input type="text"/>      | <input type="text"/> | <input type="text"/> | <input type="text"/> | <input type="text"/> |
| через _____<br>месяцев          | <input type="text"/>       | <input type="text"/>            | <input type="text"/>    | <input type="text"/> | <input type="text"/> | <input type="text"/> | <input type="text"/>      | <input type="text"/> | <input type="text"/> | <input type="text"/> | <input type="text"/> |

Рисунок 41 – Раздел лабораторных исследований мокроты

Индивидуальная регистрационная карта участника

История болезни | Мокрота | Генетика мокроты | Генетика человека

Заполняется врачом. Сведения о лице, заполнившем карту

ФИО:

Должность в проекте:  Дата заполнения:

Номер из Datstat:  Субкомпонент:

**РАЗДЕЛ 3.1 ДНК-секвенирование**

Данные KatG - ген Ser315Thr:

Данные groB-Ser315Leu:

Данные groB-Asp516al:

Данные groB-His526Leu:

Данные groB-Leu533Pro:

Рисунок 42 – Раздел генетических исследований микобактерий

Индивидуальная регистрационная карта участника

История болезни | Мокрота | Генетика мокроты | Генетика человека

Заполняется врачом. Сведения о лице, заполнившем карту

ФИО:

Должность в проекте:  Дата заполнения:

Reg number:  ID:

**РАЗДЕЛ 4.1 Генетическое исследование крови (заполняется в ЦНЖ)**

Дата исследования:  Результаты анализа:

**РАЗДЕЛ 4.2. Результаты генетических исследований человека (заполняется в ЦНЖ)**

| №  | Гены –кандидаты | Полиморфизмы       |                      |
|----|-----------------|--------------------|----------------------|
| 1. | rs6265786       | TLR2 (Arg677Trp)-F | <input type="text"/> |
|    |                 | TLR2 (Arg677Trp)-R | <input type="text"/> |
| 2. | rs5743708       | TLR2 753Q-F        | <input type="text"/> |
|    |                 | TLR2 753Q-R        | <input type="text"/> |
| 3. | rs3764880       | TLR8 A/(-)_F       | <input type="text"/> |
|    |                 | TLR8 A/(-)_R       | <input type="text"/> |

Рисунок 43 – Раздел генетических исследований человека

Данная база позволяет делать запросы и экспортировать данные в Excel и пакет SPSS для статистической обработки данных

#### *Популяционный уровень*

Сбор статистических данных производится из различных проверенных источников, например Сводных отчетов Агентства по статистике Республики Казахстан, Министерства охраны окружающей среды РК.

#### *Перечень собираемых данных.*

##### *Показатели Туберкулеза*

Число зарегистрированных новых случаев

- Новые случаи внелегочного ТБ
- Новые случаи ТБ МТ(-)
- Новые случаи ТБ ТМ(+)
- Повторные случаи, рецидив
  - Рецидив ТБ легких МТ(-)
  - Рецидив внелегочного ТБ
  - Неудача лечения
  - Неудача лечения легких МТ(-)
  - Неудача лечения внелегочного ТБ
  - Лечение после перерыва
  - Лечение после перерыва ТБ легких МТ(-)
  - Лечение после перерыва ВЛ ТБ
- Распределение по диагнозам ТБ, новые случаи
  - Внелегочной ТБ других органов
  - Другие формы легочного ТБ
  - Костей и суставов
  - Милиарный ТБ легких
  - Мозговых оболочек и ЦНС
  - Мочеполовых органов
  - Плевриты

- Фиброзно-кавернозный ТБ легких
- Распределение по локализации\_ВЛ ТБ
  - Лечение после перерыва ВЛ ТБ
  - Неудача лечения внелегочного ТБ
  - Новый случай внелегочного ТБ
  - Рецидив внелегочного ТБ
- Распределение по локализации\_легочныйТБ
  - Лечение после перерыва ТБ легких МТ(-)
  - Лечение после перерыва
  - Неудача лечения ТБ легких МТ(-)
  - Неудача лечения
  - Новый случай ТБ легких МТ(-)
  - Новый случай ТБ легки- МТ(+)
  - Рецидив ТБ легких МТ(-)
  - Рецидив
- Смертность от всех случаев ТБ
  - От активных форм ТБ
- ТБ с бактериовыделением
  - Лечение после перерыва
  - Неудача лечения
  - Рецидив

#### *Демографические показатели*

"Среднеговое число населения, всего тыс."

- "Мужчины, тыс"
- "Женщины, тыс"
- "Городское население"
- "Сельское население"
- "Естественный прирост населения"
  - "на 1000 человек"
  - "число родившихся на 1000 чел."
  - "число умерших на 1000 чел."

- "число браков на 1000 чел."
- "число разводов на 1000 чел."
- "Ожидаемая продолжительность жизни, лет"
  - "мужчины"
  - "женщины"
- "Миграция населения, всего чел."
  - "прибыло"
  - "убыло"
  - "сальдо миграции"

#### *Социально-экономические показатели*

- Индикаторы уровня жизни населения
- Основные макроэкономические показатели
- Занятость
- Характеристика домохозяйств

#### *Ресурсы здравоохранения*

- Количество врачей, эквивалент полных ставок, на 100 000 населения"
  - Количество врачей, физических лиц"
  - Количество врачей (без зубных) физических лиц на 10 000 населения"
- Врачи, ФЛ, фтизиатры"
  - Врачи, ФЛ, фтизиатры на 10000 чел.населения"
- Подготовленные врачи, на 100 000 населения"
- Общее кол-во ср.медперсонала со спец.ср.мед.образов., ФЛ (все ведомства)"
  - Общее кол-во ср.медперсонала со спец.ср.мед.образов.,ФЛ на 10000 нас."
  - Количество медсестер, ФЛ."
  - Количество медсестер, ФЛ на 10 000 населения"
- Количество учреждений, оказывающих стационарную помощь, все ведомства"
  - Общее количество больничных коек. Система Минздрава."
  - Общее количество больничных коек на 10000 человек населения. Система Минздрава."

#### *Экология*

- Радиозкологическая напряженность



## - Загрязнение воздушного бассейна

Также создана и поддерживается база данных по статистическим показателям, которая представляет собой симбиоз обычной базы и геобазы в системе ГИС (рисунок 44).

Все объекты Access

Запросы

Нац состав населения 99-11

предприятия 1 класса Алматы

Миграция, saldo

Плотность населения

По возрастным группам

Обlast

Rayon

koef\_estestven\_prirosta

migraciya\_s

migraciya\_p

migraciya\_v

chislennost

Алматинская область

Талдыкорган Г.А.

13,5 65

6211

42910

36699

1873374

Алматинская область

Капчагай Г.А.

11,2 468

6211

42910

36699

151074

Алматинская область

Текели Г.А.

-0,2 605

1225

620

28162

54956

Алматинская область

Аксуский район

14,8 -242

915

1157

39573

70216

Алматинская область

Алакольский рай

12,1 -593

1093

1686

70216

30319

Алматинская область

Балхашский рай

13,3 -314

287

601

30319

266616

Алматинская область

Енбекшиказахский район

10,8 1465

4479

3014

266616

2182

Алматинская область

Жамбылский рай

13,7 2856

5038

2182

126316

1203

Алматинская область

Кербулакский район

13,2 -297

906

1203

48790

1016

Алматинская область

Коксулский район

14,3 20

1036

1016

39388

915

Алматинская область

Каратайский район

9,4 -507

408

915

47819

4588

Алматинская область

Карасайский район

9,3 3602

8190

4588

261126

1536

Алматинская область

Панфиловский район

18 -636

900

1536

116178

1939

Алматинская область

Райымбекский район

10,8 -1505

434

1939

79936

1004

Алматинская область

Саркандский район

10,2 -469

535

1004

41295

4312

Алматинская область

Талгарский район

8 927

4312

3385

177650

991

Алматинская область

Ескальдинский район

13,6 -557

991

1548

50466

950

Алматинская область

Уйгурский район

15,6 -706

244

950

61754

5905

Алматинская область

Илийский район

13,7 2029

5905

3876

181740

19462

Костанайская область

Костанай Г.А.

4,906 -742

4834

5576

215575

1091

Костанайская область

Аркалык Г.А.

11,11 -698

1091

1789

40638

859

Костанайская область

Лисаковский Г.А.

-1,71505573931153

128

859

40875

3746

Костанайская область

Рудный Г.А.

-3,16779648721194

1761

3746

125436

275

Костанайская область

Алтынсаринский район

4,56005138086063

-227

275

502

15415

Костанайская область

Амангельдинский район

13,4664764621969

-333

258

591

17434

Костанайская область

Аулиекольский район

1,43924481977692

-413

789

1202

46900

Костанайская область

Денисовский район

2,72718868447814

-272

234

506

21420

Костанайская область

Павлодарский район

10,9818276988841

-484

176

613

14823

Рисунок 44 – База данных ГИС по статистическим показателям

Оборудование для проекта.

Офисное.

Для работы офиса используется стандартные компьютеры и базовое программное обеспечение.

Полевое оборудование.

Для сбора информации на местах закуплены портативные устройства (ноутбуки). Установлено все необходимое программное обеспечение, в том числе база данных для пилотного сбора данных, а также анкеты в формате DatStat. Для передачи собранных данных и связи используются 3G технология, предоставленная компанией Beeline.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящем отчете представлены промежуточные результаты за 2013 г.

Основные результаты за прошедший период включают в себя следующие виды выполненных работ и полученных результатов:

В 2013 г. проведено базовое компьютеризированное анкетирование среди 773 человек соответствующих критериям отбора, осуществлен сбор биоматериала (кровь, существующая культура МБТ). Все образцы венозной крови доставлены в лабораторию геномики ЦНЖ НУ. Выполнено 344 шестимесячных и 141 двенадцатимесячных интервью, с выездом к месту проживания участника. На текущий момент процент удержания участников составил 92% и 88% соответственно.

Всего с начала реализации полевой фазы исследования рекрутировано 955 участников исследования в 4-х регионах, проведен их компьютеризированный опрос в Датстат, заполнена форма ИРК, осуществлен сбор венозной крови (936 образцов) и существующая культура МБТ (55 образцов). На всех участников исследования получены формы информированного согласия.

За отчетный период осуществлен дополнительный сбор культуры МБТ для генетического типирования из изучаемых областей. Образцы культуры МБТ 281 больных новыми случаями ТБ транспортированы из региональных противотуберкулезных диспансеров в референс лабораторию НЦПТ МЗ РК (г.Алматы). Сотрудниками референс лаборатории НЦПТ выделено 281 ДНК МБТ, которые в дальнейшем были транспортированы в лабораторию геномики ЦНЖ (г.Астана).

Всего в рамках субкомпонента исследования осуществлен сбор клинико-лабораторной информации и культуры *M.tuberculosis* 325 больных новыми случаями ТБ в изучаемых регионах Казахстана, из них г.Алматы (68); Алматинской области (32); Костанайская область (111); Кызылординской область (114). Образцы ДНК *M.tuberculosis* доставлены в лабораторию геномики ЦНЖ НУ (г.Астана) с соблюдением правил техники безопасности и температурного режима.

В рамках генетического компонента исследования за отчетный период выделена и нормализована геномная ДНК из 840 образцов венозной крови; генотипирование 3 полиморфизмов гена VDR - FokI, ApaI и TaqI (rs731236) было проведено на 631 образце

геномной ДНК, проанализированы на современном этапе результаты по 525 образцам; проведена аллельная дискриминация у 182 образцов по SNP маркерам IL1(rs16944), TLR8(rs3764880) с целью исследования ассоциации полиморфизмов в генах-кандидатах с генетической восприимчивостью к туберкулезу и определения наиболее значимых полиморфизмов; амплифицированы и определены нуклеотидные последовательности генов *rpoB*, *katG*, промоторной области *fabG-inhA*, *oxyR-ahpC* оперона, обуславливающих устойчивость к основным противотуберкулезным препаратам - изониазиду и рифампицину; на текущий момент проводится анализ результатов типирования по MIRU-VNTR. По результатам выполнения работ были сделаны следующие **выводы**:

- Преобладающим генотипом по SNP маркеру –IL1(rs16944) был гетерозиготный вариант (49,5%), по SNP маркеру TLR8(rs3764880) – преобладали 2 варианта AA генотип (37,4%) и GG генотип (37,9%).

- Выявлена тенденция к ассоциации G/A генотипа с повышенным риском развития туберкулеза в ко-доминантной модели [OR=1.27; 95% CI: 0.86-1.88 P=0.28] для FokI полиморфизма, A/A генотипа [OR=1.21; 95% CI: 0.72-2.02 P=0.77] для TaqI полиморфизма. Менее значимая ассоциация выявлена между развитием туберкулеза и A/G генотипом ApaI, [OR=1.21; 95% CI: 0.72-2.02 P=0.46]

- Анализ результатов типирования в разрезе исследуемых областей выявил высокую ассоциацию генотипа G/A [OR=1.88; 95% CI:1.01-3.50] по FokI в Кызылординском регионе по сравнению с г.Алматы и Алматинской областью, по G/A генотипу [OR=1.78; 95% CI:1.0-3.18] полиморфизма ApaI в г. Алматы..

- в *katG* гене выявлена мутация в 315 кодоне гена с аминокислотной заменой Ser (серин)→Thr (треонин) и частота встречаемости мутации составила 80 (39,6%)

- в *rpoB* гене обнаружено 4 варианта мутаций в кодонах (531, 516, 533 и 526), где преобладающей мутацией в гене *rpoB* является мутация в 531 кодоне с заменой Ser (серин) → Leu (лейцин), что составляет 43 (21,5%) из них 47 (23,5%) случая характеризовались сочетанием мутаций в генах *rpoB* и *katG* . - Из 202 штаммов *M. tuberculosis* – в двух случаях (1%) выявлены сочетанные мутации в генах *rpoB*, *katG* и *fabG-inhA*.

Для изучения возможности оформления заявки на патент проведен анализ отечественной и зарубежной патентной информации на способ прогнозирования риска развития туберкулеза и лекарственно-устойчивого туберкулеза.

Проведена работа по картографированию индивидуальных и популяционных данных, собранных в ходе исследования для визуализации эпидемиологического процесса и факторов, влияющих на него. Создана и функционирует интерактивная карта по представлению сбора данных в пилотных областях по «Индивидуальной регистрационной карте участника». Осуществлены ежемесячные обновления баз данных и веб-сайта проекта <http://tbkzproject.org>, с выделенным доступом зарубежных и местных партнеров для анализа. Проведена работа по созданию Национальной информационной системы данных по туберкулезу (НИСТ). Цель программы состоит в представлении статистических данных, сопряженных с географической областью в удобной для пользователя, графической и табличной форме. Программа содержит набор данных по эпидемиологическим, демографическим, социально-экономическим, экологическим показателям, а также данным по ресурсам здравоохранения. В настоящее время ведется работа по разработке сетевой версии.

Выполнен обзор существующих методов прогнозирования случаев ТБ и их исходов. Каждая из построенных моделей проверена на существующих данных из Национального регистра по ТБ. После их сравнения разработана и утверждена модель для прогнозирования заболеваемости туберкулезом и развития эпидемиологического процесса с учетом влияния наиболее значимых факторов риска для определения потребности в противотуберкулезном лечении и приоритетных направлений профилактики туберкулеза. Применение моделей ARIMA и ARIMAX показало, что заболеваемость туберкулезом имеет ярко выраженную сезонность с общим трендом к снижению. В некоторых регионах фактор сезонности является менее значимым, что выражается в уменьшении сезонного разброса показателя заболеваемости. Включение региональных данных позволило повысить общую точность прогнозирования заболеваемости по Казахстану. Прогнозирование новых случаев ТБ на 2013-2014 годы свидетельствует о сохранении тренда к снижению и как следствие стабилизации эпидемиологической ситуации в стране.

Осуществлен анализ социально-экономических, экологических факторов индивидуального и популяционного риска заражения и развития туберкулеза на основании комплекса данных полученных в результате базового компьютеризированного опроса в Алматинской области. Также выполнено картирование случаев ТБ и МЛУ ТБ в районах выборки Алматинской области, что позволило определить районы наибольшей

концентрации и изучить пространственное распределение инфекции. Данное «случай-контроль» исследование впервые в Казахстане подтвердило роль основных факторов риска развития туберкулеза: молодой возраст, холостое семейное положение, проживание в арендованной квартире, курение, сахарный диабет и миграция. Картирование и скрининговые исследования ключевых групп населения с более высоким риском заболевания ТБ и проведение профилактической химиотерапии изониазидом для отдельных групп высокого риска прогрессирования латентной инфекции в активную форму болезни, включая пациентов с диабетом и мигрантов, могут быть рекомендованы для включения в Национальную противотуберкулезную программу.

Подготовлено 2 доклада для участия в международных конференциях.

Разработаны и утверждены методические рекомендации «Структура и алгоритмы новейших молекулярно-генетических технологий экспресс диагностики туберкулеза и лекарственной устойчивости в Казахстане».

Опубликованы 3 статьи в республиканских научных периодических изданиях.

Подготовлена статья и подана в международный журнал с импакт-фактором *Pulmonary tuberculosis risk factors in Almaty, Kazakhstan* B. Zhussupov, S. Hermosilla, A. Terlikbayeva, A. Aifah, X. Ma, Z. Zhumadilov, T. Abildayev, M. Darisheva, K. Berikhanova, S. Galea, N. Schluger, N. El-Bassel. (under review)

Проведены текущие рабочие совещания с партнерами по обсуждению программных и организационных вопросов.

Таким образом, в целом объем исследований согласно календарному плану 2013 года выполнен в полном объеме. Отчет утвержден решением Ученого совета ЧУ «Центр наук о жизни» от 04 ноября 2013 года, № 6 (приложение Г).

## СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

- 1 Global Tuberculosis Report 2013 // [http://www.who.int/tb/publications/global\\_report/en/index.html](http://www.who.int/tb/publications/global_report/en/index.html)
- 2 WHO. World health statistics// <http://www.who.int/whosis/whostat/2012/en/index.html>; 2012.
- 3 Министерство Здравоохранения Республики Казахстан / Национальный Центр Проблем Туберкулеза. Руководство по контролю туберкулеза в Республике Казахстан. - Алматы, 2008.
- 4 Ministry of Health Republic of Kazakhstan. Statistic TB review / National TB Center. - Almaty, 2011,2012 (in Russian).
- 5 Lönnroth, K., Jaramillo, E., Williams, B. G., Dye, C., & Raviglione, M. (2009). Drivers of tuberculosis epidemics: The role of risk factors and social determinants. *Social Science & Medicine*, 68(12), 2240-2246. doi: 10.1016/j.socscimed.2009.03.041
- 6 Kozhamkulov U., Akhmetova A., Rakhimova S., Belova E., Alenova A., Bismilda V., Chingissova L., Ismailov Sh., Ramanculov E., Momynaliev K. Molecular characterization of rifampicin- and isoniazid-resistant *Mycobacterium tuberculosis* strains isolated in Kazakhstan // *Japanese Journal of Infectious Disease*. – 2011. - Vol.64. - P.253-255.
- 7 Национальный Центр Проблем Туберкулеза. Анализ эпидемиологической ситуации в РК за 3 квартал 2013 г.
- 8 Lienhardt, C., Bennett, S., Del Prete, G., Bah-Sow, O., Newport, M., Gustafson, P., Manneh, K., Gomes, V., Hill, A., McAdam, K. Investigation of Environmental and Host-related Risk Factors for Tuberculosis in Africa. I. Methodological Aspects of a Combined Design// *American Journal of Epidemiology*. - 2002. - Vol.155, N.11
- 9 Atre SR, D'Souza DT, Vira TS, Chatterjee A, Mistry NF. Risk factors associated with MDR-TB at the onset of therapy among new cases registered with the RNTCP in Mumbai, India // *Indian J Public Health*. 2011 Jan-Mar;55(1):14-21. doi: 10.4103/0019-557X.82536.
- 10 Marahatta SB, Kaewkungwal J, Ramasoota P, Singhasivanon P. Risk factors of multidrug resistant tuberculosis in central Nepal: a pilot study // *Kathmandu Univ Med J (KUMJ)*. - 2010 Oct-Dec;8(32):392-7.

- 11 Podewils LJ, Holtz T, Riekstina V, Skripconoka V, Zarovska E, Kirvelaite G, Kreigere E, Leimane V. Impact of malnutrition on clinical presentation, clinical course, and mortality in MDR-TB patients // *Epidemiol Infect.* 2011 Jan;139(1):113-20. doi: 10.1017/S0950268810000907.
- 12 van den Hof S, Tursynbayeva A, Abildaev T, Adenov M, Pak S, Bekembayeva G, Ismailov S. Converging risk factors but no association between HIV infection and multidrug-resistant tuberculosis in Kazakhstan. // *Int J Tuberc Lung Dis.* 2013 Apr;17(4):526-31. doi: 10.5588/ijtld.12.0703.
- 13 Akksilp S, Wattanaamornkiat W, Kittikraisak W, Nateniyom S, Rienthong S, Sirinak C, Ngamlert K, Mankatittham W, Sattayawuthipong W, Sumnapun S, Yamada N, Monkongdee P, Anuwatnonthakate A, Burapat C, Wells CD, Tappero JW, Varma JK. Multi-drug resistant TB and HIV in Thailand: overlapping, but not independently associated risk factors // *Southeast Asian J Trop Med Public Health.* - 2009 Nov;40(6) . – P. 1264-78.
- 14 Satti H, McLaughlin MM, Seung KJ, Becerra MC, Keshavjee S. High risk of drug-resistant tuberculosis when first-line therapy fails in a high HIV prevalence setting. // *Int J Tuberc Lung Dis.* 2013 Jan;17(1):100-6. doi: 10.5588/ijtld.12.0344.
- 15 Podewils LJ, Holtz T, Riekstina V, Skripconoka V, Zarovska E, Kirvelaite G, Kreigere E, Leimane V. Impact of malnutrition on clinical presentation, clinical course, and mortality in MDR-TB patients // *Epidemiol Infect.* - 2011 Jan;139(1):113-20. doi: 10.1017/S0950268810000907.
- 16 Jenkins HE, Ciobanu A, Plesca V, Crudu V, Galusca I, Soltan V, Cohen T. Risk factors and timing of default from treatment for non-multidrug-resistant tuberculosis in Moldova // *Int J Tuberc Lung Dis.* 2013 Mar;17(3):373-80. doi: 10.5588/ijtld.12.0464.
- 17 Zhao P, Li XJ, Zhang SF, Wang XS, Liu CY. Social behaviour risk factors for drug resistant tuberculosis in mainland China: a meta-analysis // *J Int Med Res.* - 2012;40(2):436-45.
- 18 Zetola NM, Modongo C, Kip EC, Gross R, Bisson GP, Collman RG. Alcohol use and abuse among patients with multidrug-resistant tuberculosis in Botswana // *Int J Tuberc Lung Dis.* 2012 Nov;16(11):1529-34. doi: 10.5588/ijtld.12.0026.

- 19 Miller AC, Gelmanova IY, Keshavjee S, Atwood S, Yanova G, Mishustin S, Furin JJ, Shin SS Alcohol use and the management of multidrug-resistant tuberculosis in Tomsk, Russian Federation // *Int J Tuberc Lung Dis*. 2012 Jul;16(7):891-6. doi: 10.5588/ijtld.11.0795.
- 20 Khan M. The Dual Burden of Overweight and Underweight in Developing Countries. Washington DC: Population Reference Bureau; 2006 // <http://www.prb.org/Publications/Articles/2006/TheDualBurdenofOverweightandUnderweightinDevelopingCountries.aspx>
- 21 Hsu AH, Lee JJ, Chiang CY, Li YH, Chen LK, Lin CB. Diabetes is associated with drug-resistant tuberculosis in Eastern Taiwan // *Int J Tuberc Lung Dis*. - 2013 Mar;17(3):354-6. doi: 10.5588/ijtld.11.0670.
- 22 Lönnroth K, Williams BG, Cegielski P, Dye C. A consistent log-linear relationship between tuberculosis incidence and body mass index // *Int J Epidemiol*.- 2010 Feb;39(1):149-55. doi: 10.1093/ije/dyp308.
- 23 Dye C, Bourdin Trunz B, Lonnroth K, Roglic G, Williams BG. Nutrition, diabetes and tuberculosis in the epidemiological transition // *PLoS One*. - 2011;6(6):e21161.
- 24 Lonnroth K, Castro KG, Chakaya JM, et al. Tuberculosis control and elimination 2010-50: cure, care, and social development // *Lancet*. - 2010 May 22;375(9728):1814–1829.
- 25 Huffman, S. A., Veen, J., Hennink, M. M., & McFarland, D. A. (2011). Exploitation, vulnerability to tuberculosis and access to treatment among Uzbek labor migrants in Kazakhstan. *Social Science & Medicine*. doi: 10.1016/j.socscimed.- 2011.07.019
- 26 Investigation of the risk factors for tuberculosis: a case-control study in three countries in West Africa. Lienhardt C, Fielding K, Sillah JS, Bah B, Gustafson P, Warndorff D, Palayew M, Lisse I, Donkor S, Diallo S, Manneh K, Adegbola R, Aaby P, Bah-Sow O, Bennett S, McAdam K // *Int J Epidemiol*. - 2005 Aug;34(4):914-23. Epub 2005 May 24.
- 27 I. Suárez-García, A. Rodríguez-Blanco, J. L. Vidal-Pérez, M. A. García-Viejo, M. J. Jaras-Hernández, O. López, A. Noguerado-Asensio. Risk factors for multidrug-resistant tuberculosis in a tuberculosis unit in Madrid, Spain. // *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*. - April 2009, Volume 28, Issue 4, pp 325-330
- 28 Chen S, Huai P, Wang X, Zhong J, Wang X, Wang K, Wang L, Jiang S, Li J, Peng Y, Ma W. Risk factors for multidrug resistance among previously treated patients with



tuberculosis in eastern China: a case-control study. // Int J Infect Dis. 2013 Aug 2. pii: S1201-9712(13)00218-X. doi:10.1016/j.ijid.2013.06.006.

29 Royce S, Falzon D, van Weezenbeek C, Dara M, Hyder K, Hopewell P, Richardson MD, Zignol M. Multidrug resistance in new tuberculosis patients: burden and implications.// Int J Tuberc Lung Dis. 2013 Apr;17(4):511-3. doi: 10.5588/ijtld.12.0286.

30 Skrahina A, Hurevich H, Zalutskaya A, Sahalchyk E, Astrauko A, Hoffner S, Rusovich V, Dadu A, de Colombani P, Dara M, van Gemert W, Zignol M. Bull Multidrug-resistant tuberculosis in Belarus: the size of the problem and associated risk factors. //World Health Organ. 2013 Jan 1;91(1):36-45. doi: 10.2471/BLT.12.104588.

31 Porwal C, Kaushik A, Makkar N, Banavaliker JN, Hanif M, Singla R, Bhatnagar AK, Behera D, Pande JN, Singh UB. Incidence and risk factors for extensively drug-resistant tuberculosis in Delhi region. // PLoS One. 2013;8(2):e55299. doi: 10.1371/journal.pone.0055299.

32 Minion J, Gallant V, Wolfe J, Jamieson F, Long R. Multidrug and extensively drug-resistant tuberculosis in Canada 1997-2008: demographic and disease characteristics.// PLoS One. 2013; 8(1):e53466. doi: 10.1371/journal.pone.0053466.

33 Ricks PM, Mavhunga F, Modi S, Indongo R, Zezai A, Lambert LA, DeLuca N, Krashin JS, Nakashima AK, Holtz TH. Characteristics of multidrug-resistant tuberculosis in Namibia. // BMC Infect Dis. 2012 Dec 29;12:385. doi: 10.1186/1471-2334-12-385.

34 Monteserin J, Camacho M, Barrera L, Palomino JC, Ritacco V, Martin A. Genotypes of *Mycobacterium tuberculosis* in patients at risk of drug resistance in Bolivia.// Infect Genet Evol. 2013 Jul;17:195-201. doi: 10.1016/j.meegid.2013.04.010.

35 Buu TN, van Soolingen D, Huyen MN, Lan NT, Quy HT, Tiemersma EW, Kremer K, Borgdorff MW, Cobelens FG. Increased transmission of *Mycobacterium tuberculosis* Beijing genotype strains associated with resistance to streptomycin: a population-based study.// PLoS One. 2012;7(8):e42323. doi: 10.1371/journal.pone.0042323.

36 Kozhamkulov U., Akhmetova A., Rakhimova S., Belova E., Alenova A., Bismilda V., Chingissova L., Ismailov Sh., Ramanculov E, Momynaliev K. Molecular characterization of rifampicin- and isoniazid-resistant *Mycobacterium tuberculosis* strains isolated in Kazakhstan // Japanese Journal of Infectious Disease, 2011, V.64, P.253-255.

- 37 Glynn J.R, Vynnycky E., Fine P.E. Influence of sampling on estimates of clustering and recent transmission of *Mycobacterium tuberculosis* derived from DNA fingerprinting techniques //Amer. J. Epidemiol. – 1999. – Vol. 149. – P. 366-371.
- 38 Telenti A., Imboden P., Marchesi F. et al. Antimicrob Agents Chemother. – 1993. – Vol. 341. – P.647-650.
- 39 Bodmer N., Zurcher G., Imboden I. et al // J Antimicrob Chemother. – 1995. – Vol. 35. – P. 345-348.
- 40 Rossau, R., Traore, H., Beenhouwer, H., Mijs, W., Jannes, G., de Rijk, P. et al.(1997). Evaluation of the INNO-LiPA Rif.TB assay, a reverse hybridization assay for the simultaneous detection of *Mycobacterium tuberculosis* complex and its resistance to rifampin // *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 41, 2093–8.
- 41 Cambau E., Sougakoff W., Jarlier V. FEMS Microbiol Lett 1994; 116: 49-54.
- 42 Heym B., Alzari P.M., Honore N. et al. Mol Microbiol 1995; 15: 235-245.
- 43 Wilson T.M., Collins D.M. Ibid 1996; 19: 1025-1034.
- 44 Heym B., Zhang Y., Poulet S. et al // J Bacterio. – 1993. – Vol. 175. – P. 4255-4259.
- 45 Rouse D., Morris S.L. Infect Immun 1995; 63: 1427-1433.
- 46 Pym AS, Saint-Joanis B, Cole ST. Effect of *katG* mutations on the virulence of *Mycobacterium tuberculosis* and the implication for transmission in humans // Infect Immun. 2002 Sep;70(9):4955-60
- 47 Zaker Bostanabad S, Titov LP, Slizen VV, Taghikhani M, Bahrmand A. *katG* mutations in isoniazid-resistant strains of *Mycobacterium tuberculosis* isolates from Belarusian patients // Tuberk Toraks. 2007;55(3):231-7.
- 48 Indra L. Bergval\*, Anja R. J. Schuitema, Paul R. Klatser and Richard M. Anthony. Resistant mutants of *Mycobacterium tuberculosis* selected in vitro do not reflect the in vivo mechanism of isoniazid resistance // Journal of Antimicrobial Chemotherapy. Volume 64, Issue 3. Pp. 515-523.
- 49 Hiroki Ando, Tomoe Kitao, Tohru Miyoshi-Akiyama, Seiya Kato, Toru Mori, Teruo Kirikae Downregulation of *katG* expression is associated with isoniazid resistance in *Mycobacterium tuberculosis* // Molecular Microbiology. 2011. Volume 79, Issue 6, pages 1615–1628.

- 50 Chih-Jen Wei, Benfang Lei, James M. Musser, and Shiao-Chun Tu. Isoniazid Activation Defects in Recombinant *Mycobacterium tuberculosis* Catalase-Peroxidase (KatG) Mutants Evident in InhA Inhibitor Production
- 51 A. Banerjee, E Dubnau, A Quemard, V Balasubramanian, KS Um, T Wilson, D Collins, G de Lisle, WR Jacobs Jr. inhA, a gene encoding a target for isoniazid and ethionamide in *Mycobacterium tuberculosis* // Science 14 January 1994: Vol. 263 no. 5144 pp. 227-230.
- 52 Park, H., E. J. Song, E. S. Song, E. Y. Lee, C. M. Kim, S. H. Jeong, J. H. Shin, J. Jeong, S. Kim, Y. K. Park, G. H. Bai, and C. L. Chang. 2006. Comparison of a conventional antimicrobial susceptibility assay to an oligonucleotide chip system for detection of drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis* isolates // J. Clin. Microbiol. 44:1619-1624.
- 53 Dorman SE, Holland SM: Mutation in the signal-transducing chain of the interferon-gamma receptor and susceptibility to mycobacterial infection // J Clin Invest 101;2364-2369, 1998.
- 54 Altare F, Durandy A, Lammas D, Emile JF, Lamhamedi S, Le Deist F, Drysdale P, Jouanguy E, Döffinger R, Bernaudin F, Jeppsson O, Gollob JA, Meinel E, Segal AW, Fischer A, Kumararatne D, Casanova JL: Impairment of mycobacterial immunity in human interleukin-12 receptor deficiency. Science 280;1432-1435, 1998.
- 55 Uitterlinden AG, Fang Y, van Meurs JB, Pols HA, van Leeuwen JP. Genetics and biology of vitamin D receptor polymorphisms.- Gene 2004; 338: 143-156.
- 56 Leandro A.C.C.S., Rocha M.A., Cardoso C.S.A. and Bonecini-Almeida M.G. Genetic polymorphisms in vitamin D receptor, vitamin D-binding protein, Toll-like receptor 2, nitric oxide synthase 2, and interferon- $\gamma$  genes and its association with susceptibility to tuberculosis. Brazilian Journal of Medical and Biological Research (2009) 42. -P.312-322.
- 57 Uitterlinden AG, Fang Y, van Meurs JB, Pols HA, van Leeuwen JP. Genetics and biology of vitamin D receptor polymorphisms. Gene 2004; 338: 143-156.
- 58 Bellamy R, Ruwende C, Corrah T, McAdam KP, Thursz M, Whittle HC, et al. Tuberculosis and chronic hepatitis B virus infection in Africans and variation in the vitamin D receptor gene. J Infect Dis 1999; 179: 721-724.
- 59 Selvaraj P, Narayanan PR, Reetha AM. Association of vitamin D receptor genotypes with the susceptibility to pulmonary tuberculosis in female patients & resistance in female contacts. Indian J Med Res 2000; 111: 172-179.

- 60 Roth DE, Soto G, Arenas F, Bautista CT, Ortiz J, Rodriguez R, et al. Association between vitamin D receptor gene poly polymorphisms and response to treatment of pulmonary tuberculosis. *J Infect Dis* 2004; 190: 920-927.
- 61 Liu W, Cao WC, Zhang CY, Tian L, Wu XM, Habbema JD, et al. VDR and NRAMP1 gene polymorphisms in susceptibility to pulmonary tuberculosis among the Chinese Han population: a case-control study. *Int J Tuberc Lung Dis* 2004; 8: 428-434.
- 62 Chen XR, Feng YL, Ma Y, Zhang ZD, Li CY, Wen FQ, et al. Study on the association of two polymorphisms of the vitamin D receptor (VDR) gene with the susceptibility to pulmonary tuberculosis (PTB) in Chinese Tibetans. *Sichuan Da XueXueBao Yi Xue Ban* 2006; 37: 847-851.
- 63 Babb C, van der Merwe L, Beyers N, Pheiffer C, Walzl G, Duncan K, et al. Vitamin D receptor gene polymorphisms and sputum conversion time in pulmonary tuberculosis patients. *Tuberculosis* 2007; 87: 295-302.
- 64 Yim JJ, Lee HW, Lee HS, Kim YW, Han SK, Shim YS, et al. The association between microsatellite polymorphisms in intron II of the human Toll-like receptor 2 gene and tuberculosis among Koreans. *Genes Immun* 2006; 7: 150-155.
- 65 Tae Jin Kang, Song Hou Jin, Chung-EunYeum, SeongBeom Lee, Chi Hong Kim, Sang Haak Lee, Kwan Hyoung Kim, Eun-Soon Shin, and Gue-Tae Cha. Vitamin D Receptor Gene *TaqI*, *BsmI* and *FokI* Polymorphisms in Korean Patients with Tuberculosis *Immune Netw.* 2011 October; 11(5): 253–257.
- 66 S.Qian, M.Xiangyu, L.Hui, L. Ying, H. Daiyu, X.Hongyan, X. Rufu, L.Yafei. Association between gene polymorphisms of vitamin D receptor and pulmonary tuberculosis susceptibility: a meta-analysis. // *Journal of Medical Colleges of PLA* 26 (2011) 63–75.
- 67 Gartner T, Baeten M, Otieno S, Revets H, De Baetselier P, Huygen K. Mucosal prime-boost vaccination for tuberculosis based on TLR triggering OprI lipoprotein from *Pseudomonas aeruginosa* fused to mycolyl-transferase Ag85A. *ImmunolLett* 2007; 111: 26-35.
- 68 Ben-Ali M, Barbouche MR, Bousnina S, Chabbou A, Dellagi K. Toll-like receptor 2 Arg677Trp polymorphism is associated with susceptibility to tuberculosis in Tunisian patients // *ClinDiagn Lab Immunol.* – 2004. - № 11. – P. 625-626.

- 69 Wang B, Henao-Tamayo M, Harton M, Ordway D, Shanley C, Basaraba RJ, et al. A Toll-like receptor-2-directed fusion protein vaccine against tuberculosis. *Clin Vaccine Immunol* 2007; 14: 902-906.
- 70 Thuong NT, Hawn TR, Thwaites GE, Chau TT, Lan NT, Quy HT, et al. A polymorphism in human TLR2 is associated with increased susceptibility to tuberculous meningitis // *Genes Immun.* - 2007. - № 8. – P. 422-428.
- 71 Yim JJ, Lee HW, Lee HS, Kim YW, Han SK, Shim YS, et al. The association between microsatellite polymorphisms in intron II of the human Toll-like receptor 2 gene and tuberculosis among Koreans // *Genes Immun.* – 2006. - № 7. – P. 150-155.
- 72 Йохан Гисеке Современная эпидемиология инфекционных болезней // Европа.- 2004.-с.37
- 73 Breslow NE, Day NE. *Statistical Methods in Cancer Research; Volume 1 – The Analysis of Case-Control Studies.* Lyon, France: International Agency for Research on Cancer; 1980.
- 74 V. N. Kuznetsov, K. V. Shelygin, A. M. Grjibovski, A. O. Mariandyshev, E. Johansson, and G. A. Bjune. Incidence of Tuberculosis and Associations with Indicators of Alcohol Consumption in Three Regions of Northwest Russia in 1975–2009: A Time-Series Analysis // *Journal of Environmental and Public Health*, vol. 2013, Article ID 693963, 5 pages, 2013. doi:10.1155/2013/693963
- 75 Time Series Staff of Census Bureau’s Statistical Research Division (2011) X-12-ARIMA Reference Manual (Version 0.3). Washington, D.C. Census Bureau website. Available: <http://www.census.gov/ts/x12a/v03/x12adocV03.pdf>.
- 76 Nagayama N, Ohmori M (2006) Seasonality in various forms of tuberculosis // *Int J Tuberc Lung Dis* 10: 1117–1122.
- 77 Parrinello CM, Crossa A, Harris TG (2012) Seasonality of tuberculosis in New York City, 1990–2007. *Int J Tuberc Lung Dis* 16: 32–37.
- 78 Willis MD, Winston CA, Heilig CM, Cain KP, Walter ND, et al. (2012) Seasonality of tuberculosis in the United States, 1993–2008. *Clin Infect Dis* 54: 1553–1560.
- 79 Mills, Terence C. (1990) *Time Series Techniques for Economists.* Cambridge University Press
- 80 X-13ARIMA-SEATS Seasonal Adjustment Program // <http://www.census.gov/srd/www/x12a/>

## Приложение А

**Выписка из протокола №6  
Ученого совета Национального центра проблем туберкулеза МЗ РК  
от 17.09.2013 года**

**Председатель:** директор НЦПТ Абилдаев Т.Ш.  
**Секретарь:** ученый секретарь НЦПТ Исмаилова А.Т.  
**Присутствовали:** члены ученого совета НЦПТ 13 из 14;  
**Приглашенные** - заведующие отделениями, врачи, научные сотрудники

**Третьим вопросом:** Утверждение методики кратко- и среднесрочного прогнозирования заболеваемости туберкулезом и развития эпидемиологического процесса с учетом влияния наиболее значимых факторов риска.

*Докладчик* - Заместитель Генерального менеджера Центра изучения глобального здоровья Центральной Азии Жусупов Бауржан Сабитович

В рамках исполнения НТП «Картирование эко-социальных и генетических факторов, определяющих восприимчивость к туберкулезу населения Республики Казахстан» в соответствии с технической спецификацией и календарным планом работ разработана методика кратко- и среднесрочного прогнозирования заболеваемости туберкулезом и развития эпидемиологического процесса с учетом влияния наиболее значимых факторов риска.

Заместитель Генерального менеджера Центра изучения глобального здоровья Центральной Азии Жусупов Бауржан Сабитович доложил о методах и моделях прогнозирования, основных результатах применения методики (презентация прилагается).

**Постановили** единогласным решением членов Ученого совета утвердить методику кратко- и среднесрочного прогнозирования заболеваемости туберкулезом и развития эпидемиологического процесса с учетом влияния наиболее значимых факторов риска.

Председатель ученого совета

Секретарь



Т.Ш.Абилдаев

А.Т.Исмаилова

## Приложение Б

### Выписка из протокола №6 Ученого совета Национального центра проблем туберкулеза МЗ РК от 17.09.2013 года

**Председатель:** директор НЦПТ Абилдаев Т.Ш.  
**Секретарь:** ученый секретарь НЦПТ Исмаилова А.Т.  
**Присутствовали:** члены ученого совета НЦПТ 13 из 14;  
**Приглашенные** - заведующие отделениями, врачи, научные сотрудники

**Вторым вопросом:** Утверждение методических рекомендаций «Структура и алгоритмы новейших молекулярно- генетических технологий экспресс диагностики туберкулеза и лекарственной устойчивости в Республике Казахстан»  
*Авторы:* Аленова А.Х., Абилдаев Т.Ш., Берикова Э.А., Бисмилда В.Л., Чингисова Л.Т.  
*Рецензенты:*

Ракишева А.С. - Зав. кафедрой фтизиопульмологии Каз. НМУ им. С.Д.Асфендиярова, д.м.н., профессор  
Исмаилов Ш.Ш. - Менеджер проекта Глобального фонда в РК для борьбы со СПИДом, туберкулезом и малярией по компоненту «Туберкулёз», д.м.н., профессор.  
Абдукаримов Х.Х. - Зав отделом анестезиологии и реанимации НЦПТ, д.м.н

Председателем зачитаны внутренние и внешние рецензии на методические рекомендации. Он отметил, что в целом рецензии положительные, а сами методические рекомендации имеют очень большое практическое значение для использования в своей практической деятельности врачей-бактериологов всех уровней – республиканском, областном, районном.

**Постановили** единогласным решением членов Ученого совета утвердить методические рекомендации «Структура и алгоритмы новейших молекулярно-генетических технологий экспресс диагностики туберкулеза и лекарственной устойчивости в Республике Казахстан» и направить на согласование и утверждение в Департамент науки и человеческих ресурсов МЗ РК.

Председатель ученого совета

Секретарь



Т.Ш.Абилдаев

А.Т.Исмаилова

## Приложение В

### Список опубликованных работ:

1. Аленова А.Х., Абилдаев Т.Ш., Рахимова С.Б. Современные методы молекулярной биологии и генетическое разнообразие микобактерий туберкулеза (Обзор) //Фтизиопульмонология.- 2013.- №1 (22).-С.45-47.
2. Муминов Т.А., Шопаева Г.А.,Жакипбаева Б.Т.,Бейсембаева Ш.А., Рахимова С.Е., Терликбаева А.М. Исследование генов-кандидатов предрасположенности к туберкулезу // Журнал доказательной медицины Consilium. – 2013.-№ 1 ( 43). – С.40-43
3. Т.А.Муминов, Б.Т.Жакипбаева, Ш.А.Бейсембаева, К.Е.Берикханова, А.Р.Акильжанова, А.М.Терликбаева, М.А.Даришева Молекулярно- генетический мониторинг для изучения популяционной вариабельности штаммов МБТ // Медицина.-2013 -№ 5 (131). – С.40-45
4. *Pulmonary tuberculosis risk factors in Almaty, Kazakhstan* B. Zhussupov, S. Hermosilla, A. Terlikbayeva, A. Aifah, X. Ma, Z. Zhumadilov, T.Abildayev, M. Darisheva, K. Berikhanova, S. Galea, N. Schluger, N. El-Bassel. (*under review*)
5. Аленова А.Х., Абилдаев Т.Ш., Берикова Э.А., Бисмилда В.Л., Чингисова Л.Т. Структура и алгоритмы новейших молекулярно- генетических технологий экспресс диагностики туберкулеза и лекарственной устойчивости в Республике Казахстан: метод. рекомендации.- Алматы, 2013. - 64с.
6. Бейсембаева Ш.А.,Муминов Т.А.,Жакипбаева Б.Т., Акильжанова А.Р. Преаналитический этап и вопросы биобезопасности при молекулярно-генетических исследованиях крови: метод.рекомендации. – Алматы, 2013

### Участие и выступление на международных конференциях:

- 1.N. Schluger, A. Terlikbayeva, N.El-Bassel, Zh. Zhumadilov, M. Darisheva, B. Amirov. Risk factors for tuberculosis in Kazakhstan: a case control study. // Poster presentation, Annual American Thoracic Society Conference, Philadelphia, USA, May, 2013
- 2.A. Terlikbayeva. Genetic, social, and behavioral risk factors for tuberculosis: Preliminary results from a matched case-control study in Kazakhstan. // Oral presentation, International Scientific Conference «PERSONALIZED MEDICINE AND GLOBAL HEALTH», Astana, Kazakhstan, October 17-18, 2013.



## Приложение Г

Отчет по НТП «Картирование эко-социальных и генетических факторов, определяющих восприимчивость к туберкулезу населения Республики Казахстан» заслушан, обсужден и утвержден на заседании Ученого совета ЧУ «Центр наук о жизни»,

Протокол № 6 от «04» ноября 2013 г.

Руководители проекта:

MSc, Терликбаева А.М.

д.м.н., профессор Нургожин Т.С.

Генеральный директор

ЧУ «Центр наук о жизни»

д.м.н., профессор

Ученый секретарь, к.м.н.,



Ж.Ш. Жумадилов



К.Е. Берикханова