

Artykuł nadesłany 28 lipca 2018 r.,  
zaakceptowany 18 sierpnia 2018 r.

DOI 10.2883/amp.2018.2

# Nowe oblicze gruźlicy

## The new face of tuberculosis

Ewa Augustynowicz-Kopec<sup>1</sup>

Warszawa

**Streszczenie:** Artykuł przedstawia historię gruźlicy lekoopornej oraz sytuację epidemiologiczną gruźlicy na świecie, a szczególnie w Polsce. Wyjaśniony został mechanizm powstawania oporności prątków gruźlicy na leki oraz przyczyny wzrostu zapadalności na gruźlicę w ostatnich latach. Scharakteryzowano programy i instytucje monitorujące występowanie gruźlicy na poziomie globalnym oraz znacznie zalecanych przez Międzynarodowy Komitet ds. Standaryzacji Badań Molekularnych w Gruźlicy technik molekularnych dla identyfikacji *Mycobacterium tuberculosis* Beijing. Polska przez pięć ostatnich lat była partnerem w europejskim projekcie badawczym TB-PANET, który był realizowany przez 28 krajów i dotyczył badań molekularnych nad prątkami gruźlicy.

**Abstract:** The article presents the history of drug-resistant tuberculosis and epidemiological situation of tuberculosis in the world, especially in Poland. A mechanism of acquired drug resistance in *M. tuberculosis* is clarified and the increasing incidence of tuberculosis is explained. The most important global programmes and efforts to end tuberculosis and identify *Mycobacterium tuberculosis* Beijing are characterized. Molecular methods are recognized as an international standard in the world-wide fight against tuberculosis. During last five years, Poland was one of twenty eight countries which participated in the European research project TB-PLANET.

**Słowa kluczowe:** gruźlica, walka z gruźlicą, gruźlica wielolekooporna

**Keywords:** tuberculosis, fight against tuberculosis, multi-drug-resistant tuberculosis

### Wprowadzenie

Gruźlica pojawiła się wśród ludzi kilka tysięcy lat temu. Wiele interesujących danych dotyczących gruźlicy z czasów prehistorycznych przyniosła nowa dyscyplina nauki – paleomikrobiologia, która dzięki postępom w genetyce bakterii rozwinęła się w latach 90. XX w. Badania bakterii sprzed tysięcy lat metodą bezpośredniego wykrywania ich DNA przyniosły szereg informacji obrazujących zmiany patogenów na przestrzeni wieków, w tym również rodzaju *Mycobacterium*.

---

<sup>1</sup> Kierownik Zakładu Mikrobiologii Instytutu Gruźlicy i Chorób Płuc, Krajowe Referencyjne Laboratorium Prątka. Warszawa, ul. Płocka 26. Artykuł stanowi recenzowaną wersję wykładu wygłoszonego 19 maja 2018 r. w Wolsztynie podczas konferencji pt. „Gruźlica – dawne doświadczenia, obecne osiągnięcia i zagrożenia”.

Nowoczesne techniki genetyki molekularnej oraz sekwencjonowanie genomu szczepów prątków gruźlicy *Mycobacterium tuberculosis* pozwoliły na ocenę czasu pochodzenia prątków. Na podstawie tych badań stwierdzono, że rodzaj *Mycobacterium* powstał ponad 150 milionów lat temu, a potomek *M. tuberculosis* był obecny w Afryce już 3 miliony lat temu i mógł zakażać ówczesne hominidy<sup>2</sup>.

Dzisiejsze szczepy kompleksu *M. tuberculosis* pojawiły się najprawdopodobniej około 20.000-15.000 lat temu<sup>3</sup>. Jednym z najstarszych świadectw obecności gruźlicy u ludzi i zwierząt są skamieliny kości datowane na 8000 r. p.n.e., szczątki człowieka z neolitu znalezione niedaleko Heidelbergu pochodzące z ok. 5000 r. p.n.e. z typowymi zmianami w kręgosłupie piersiowym, a najbardziej znanym przykładem jest mumia kapłana Amona z grobowca Beni-Hassan z XII/XI dynastii, datowana na ok. 2000 r. p.n.e., z widocznym garbem gruźliczym. Pomimo, że kliniczne objawy gruźlicy znane są światu medycznemu od wielu wieków, czynnik etiologiczny zidentyfikowano około 150 lat temu, a leki przeciwgruźlicze wprowadzono po II wojnie światowej, to gruźlica nie stała się chorobą przeszłości, a problem chorób wywołanych u ludzi przez *Mycobacterium* jest stale aktualny. Wynika to z nadal szerokiego rozprzestrzeniania się choroby i narastania częstości jej występowania w niektórych regionach świata. Powszechność występowania gruźlicy, jej zakaźny charakter, przewlekły przebieg i ogromne straty ekonomiczne, które powoduje, wciąż jeszcze wysuwają tę chorobę w bardzo wielu krajach na czoło problemów zdrowotnych i społecznych.

W wielu artykułach medycznych oraz w codziennej prasie światowej często powtarza się hasło: gruźlica jest chorobą społeczną, o której nie wolno zapomnieć. Nie jest to tylko pusty slogan wynikający z wielowiekowej obecności prątków gruźlicy w otoczeniu człowieka, ale prawdziwe zagrożenie świata o charakterze pandemicznym.

Czy możemy spodziewać się eradykacji gruźlicy na świecie w związku z prowadzonymi przez Światową Organizację Zdrowia (WHO) programami walki z TB? Odpowiedź na to pytanie została przedstawiona w artykule, który ukazał się w „Biuletynie Międzynarodowej Unii Przeciwgruźliczej” w lutym 2018 r.<sup>4</sup>.

W 2015 r. Światowa Organizacja Zdrowia ogłosiła strategię „End TB” której ambitnym celem było zmniejszenie do 2035 r. liczby zgonów na gruźlicę o 95%, oraz spadek liczby zachorowań o 90%. Aby osiągnąć te cele, WHO przewidywała roczny spadek zachorowalności na gruźlicę 10% rocznie do 2025 r. i 17% rocznie od 2025 do 2035 r. Jednak według najnowszych raportów WHO liczba szacowanych przypadków gruźlicy wzrosła o 20%, z 8,6 mln w 2012 r. do 10,4 mln w 2016 r. a roczny spadek zachorowań na gruźlicę utrzymuje się na poziomie 2%. W podsumowaniu

---

<sup>2</sup> M. C. Gutierrez, S. Brisse, R. Brosch, M. Fabre, B. Omais, M. Marmiesse, i wsp., *Ancient origin and gene mosaicism of the progenitor of Mycobacterium tuberculosis*, „PloS Pathog, PLoS” 2005, 1(1), s. 5-19.

<sup>3</sup> S. Sreevatsan, X. Pan, K. E. Stockbauer, N. D. Connell, B. N. Kreiswirth, T. S. Whittam, i wsp., *Restricted structural gene polymorphism in the Mycobacterium tuberculosis complex indicates evolutionarily recent global dissemination*, „Proc Natl Acad Sci USA”, 1997, 94, s. 9869-9874.

<sup>4</sup> H. Herzog, *History of tuberculosis*, „Respiration” 1998, 65(1), s. 5-15.

autorzy stwierdzili, że cele strategii „End TB” były zdecydowanie nierealne, a pogląd, że gruźlica zostanie wyeliminowana w najbliższej przyszłości zbyt optymistyczny<sup>5</sup>.

### Aktualne dane dotyczące sytuacji epidemiologicznej gruźlicy na świecie

W 2016 r., wg szacunków Światowej Organizacji Zdrowia na gruźlicę zachorowało około 10,4 mln dorosłych i dzieci na świecie, w tym 3,2 mln kobiet, 6,2 mln mężczyzn i milion dzieci. Z powodu gruźlicy zmarło około 1,7 mln ludzi, w tym 0,5 mln kobiet, 1,1 mln mężczyzn i 0,21 mln dzieci. Wśród chorych na gruźlicę około 27% stanowili chorzy zakażeni wirusem HIV<sup>6</sup>.

Co dziesiąty chory na gruźlicę na świecie jest zakażony HIV, a 74% chorych to mieszkańcy Afryki. Gruźlica jest jedną z najczęstszych przyczyn zgonów z powodu chorób zakaźnych. W roku 2016 z jej powodu zmarło 1,3 mln osób niezakażonych HIV oraz 374 000 chorych zakażonych HIV. Mieszkańcy pięciu krajów, Indii, Indonezji, Chin, Filipin i Pakistanu, stanowią populację ponad 50% chorych na gruźlicę na świecie. Kraje, w których szacowana zapadalność na TB wynosi powyżej 500 przypadków na 100 000 ludności – to między innymi Korea Północna, Mozambik oraz Republika Południowej Afryki<sup>7</sup>.

W Polsce w 2016 r. zarejestrowano 6444 przypadków chorych na gruźlicę, średnia zapadalność na gruźlicę wszystkich postaci wynosiła 16,8/100 000, co plasuje nas w grupie o niskiej zapadalności (< 20/100 000), jednak nadal wskaźnik ten jest około 2-3 razy wyższy niż w krajach EEA (Europejskiego Obszaru Gospodarczego). W 18 krajach UE i EEA odnotowano mniej niż 10 zachorowań na 100 000.

Największą zapadalność na gruźlicę odnotowano wśród Polaków powyżej 44 roku życia – około 27 przypadków na 100 000. Chorują zwłaszcza mężczyźni (69,2 proc. zachorowań). Na gruźlicę umiera w Polsce 3 razy więcej mężczyzn niż kobiet. W 2015 r. z powodu gruźlicy w Polsce zmarło 420 mężczyzn i 117 kobiet.

W Polsce, podobnie jak w wielu innych krajach najczęstszą postacią gruźlicy jest gruźlica płuc, która w 2016 r. stanowiła 94,9% wszystkich zachorowań. Zarejestrowano 6116 przypadków gruźlicy płuc (15,9 na 100 000). Chorzy na gruźlicę pozapłucną, 328 przypadków, stanowili 5,1% ogółu chorych. Podobnie jak w latach wcześniejszych, najczęstszą postacią gruźlicy pozapłucnej było gruźlicze zapalenie opłucnej, które stanowiło 32% wszystkich przypadków lokalizacji pozapłucnej.

W 2016 r. zgłoszono 103 przypadki gruźlicy u dzieci do 14 roku życia, które stanowiły 1,6% ogółu zachorowań, w tym 76 przypadków gruźlicy płuc i 27 przypadków gruźlicy pozapłucnej. Najczęstszą postacią gruźlicy pozapłucnej u dzieci była gruźlica węzłów chłonnych klatki piersiowej – 11 przypadków.

---

<sup>5</sup> A. Dudnyk, D. Chesov, C. Lange, *Mission impossible: the End TB strategy*, "Int J Tuberc Lung Dis." 2018, 22(2), s. 121-122.

<sup>6</sup> WHO *Global TB Report 2016*, Geneva, Switzerland 2017.

<sup>7</sup> Tamże.

W 2016 r. po raz kolejny zapadalność na gruźlicę wśród mieszkańców miast była wyższa w porównaniu z ludnością wiejską. Zarejestrowano 4008 zachorowań w miastach i 2436 przypadków gruźlicy na wsi. Współczynnik zapadalności u mieszkańców miast wynosił 17,3 na 100 000, u mieszkańców wsi to 15,9 na 100 000. W 2016 r. z powodu gruźlicy zmarło 543 osób, ze współczynnikiem umieralności 3,3 razy wyższym u mężczyzn w porównaniu z kobietami. W 2016 r. zarejestrowano w Polsce 46 chorych wydalających prątki typu MDR-TB. Przypadki te stanowiły 1% wszystkich zachorowań na gruźlicę potwierdzoną metodami mikrobiologicznymi<sup>8</sup>.

Wśród chorób zakaźnych gruźlica jest drugą w kolejności najczęstszą, pojedynczą przyczyną zgonów. Obecnie wiadomo, że główną przyczyną niepowodzeń w walce z gruźlicą stało się zlekceważenie na świecie problemu oraz zła realizacja znanych i sprawdzonych metod zwalczania choroby. Zaniedbania w tej dziedzinie doprowadziły do dramatycznej sytuacji pojawienia się gruźlicy lekoopornej, którą rozpoczęto badać systematycznie dopiero w latach 1985-1990.

Rosnące wskaźniki gruźlicy lekoopornej na świecie świadczą o tym, że gruźlica stanowi nadal poważne zagrożenie dla zdrowia publicznego. Lekooporność prątków gruźlicy nie jest zjawiskiem nowym, bo kiedy w 1945 r. wprowadzono do leczenia TB pierwszy lek anty-TB, streptomycynę to już dwa lata później odnotowano pierwsze szczepy *Mycobacterium tuberculosis* z opornością na ten lek.

Wprowadzenie do terapii gruźlicy w końcu lat 1960. ryfampicyny spowodowało polepszenie się sytuacji epidemiologicznej na świecie, co uspiło czujność rządów i służb medycznych. Stopniowo zmniejszał się nadzór nad szeroko rozumiana walką z gruźlicą poprzez redukcję funduszy, zamykanie przychodni i sanatoriów oraz oddziałów szpitalnych. Równocześnie zaprzestano monitorowania oporności prątków gruźlicy na leki. Badania w USA przeprowadzone w latach 1980. wykazały, że sytuacja jest stabilna, a nawet wykazuje tendencje spadkowe. Sytuacja wydawała się tak dobra, że w 1989 r. WHO posiadało tylko dwa profesjonalne zespoły zajmujące się tym zagadnieniem. Zainteresowania WHO zostały skierowane na programy dotyczące innych niż gruźlica infekcji dróg oddechowych. Pojawienie się wirusa HIV i chorych na AIDS spowodowało pogorszenie się sytuacji epidemiologicznej gruźlicy. Nastąpił nagły wzrost zachorowań wywołanych prątkami lekoopornymi w niektórych szpitalach i więzieniach. Wtedy gruźlica znowu znalazła się w centrum zainteresowania świata. Rządy wielu krajów uruchomiły fundusze na badania epidemiologiczne nad gruźlicą nadając im najwyższą rangę. Okazało się bowiem, że nie prowadzi się na świecie badań na gruźlicą lekooporną z przekonaniem, że prątki zachowują swoją naturalną wrażliwość na leki tak jak w początkowych latach chemioterapii.

W 1994 r. WHO oraz Międzynarodowa Unia Przeciwgruźlicza i Chorób Płuc (IUATLD – International Union Against Tuberculosis and Lung Disease) przy pomocy wielu organizacji międzynarodowych zapoczątkowały światowy program badania

---

<sup>8</sup> Gruźlica i choroby układu oddechowego w Polsce w 2016 r., red. Maria Korzeniewska-Koseła, Instytut Gruźlicy i Chorób Płuc, Warszawa 2017.

gruźlicy lekoopornej (Global Project on Drug-Resistance Surveillance – DRS). Międzynarodowe robocze grupy ekspertów, epidemiologów, mikrobiologów, statystyków i menadżerów, w nadzorze nad gruźlicą opracowały szczegółowe wytyczne dotyczące prowadzenia badań. Zwracały one uwagę na 3 główne metodologiczne zasady wymagane w badaniach:

1. przestrzeganie epidemiologicznych pryncypiów w szacowaniu próby badanej, metod zbierania danych i częstości ich wykonywania,
2. stosowanie standardowych metod mikrobiologicznych, walidowanie metod w międzynarodowych (wyznaczonych przez WHO) laboratoriach mikrobiologicznych,
3. staranne rozróżnienie dwóch grup chorych na gruźlicę: chorych nowo wykrytych i chorych wcześniej leczonych, w celu dokładnego określenia i odróżnienia lekooporności pierwotnej (primary resistance) i nabytej (acquired resistance).

Kolejno, organizowano międzynarodowe konferencje, stworzono grupy robocze, przygotowano szczegółowe protokoły zalecając krajom na wszystkich kontynentach prowadzenie badań nad częstością występowania lekooporności w gruźlicy.

W okresie 1996-2016 ponad 100 krajów z różnych kontynentów włączyło się do programu pod nazwą „Global Project on Anti-Tuberculosis Drug Resistance Surveillance” i dostarczyło danych o badanym zjawisku dotyczącym około 70% wszystkich przypadków choroby na świecie. Badania wykazały, że gruźlica lekooporna jest realnym problemem i przybiera coraz większe rozmiary. WHO szacuje, że co najmniej 50 mln ludzi jest zakażonych prątkami gruźlicy opornymi na leki.

Prątki gruźlicy charakteryzują się naturalną wrażliwością na wszystkie leki przeciwprątkowe za wyjątkiem *M. bovis*, który jest naturalnie oporny na pyrazinamid (PZA). Oporność na leki jest wynikiem błędnych działań w leczeniu chorych. Działania te mogą przybierać różne formy. Najczęściej dotyczą niedostatecznego nadzoru nad przyjmowaniem leków przez chorych, przepisywaniem złych zestawów leków lub w niedostatecznych dawkach, zbyt krótkiego czasu trwania terapii, dysponowania niepełnowartościowymi lekami z osłabioną biodostępnością. Prowadzi to do powstania oporności nabytej w trakcie leczenia (*acquired resistance*). Klasycznym mechanizmem oporności nabytej jest nabywanie mutacji przez szczepy prątków pod wpływem nieodpowiedniej terapii farmakologicznej. Nabycie tych mutacji jest korzystne dla komórki bakteryjnej poprzez zmianę lub nadprodukcję docelowego białka dla leku w wyniku czego bakterie są niedostępne dla leków anty-TB lub osłabiają jego działanie<sup>9</sup>.

Chorzy wydalający prątki lekooporne mogą zakażać nimi ludzi zdrowych, a zjawisko to nosi nazwę lekooporności pierwotnej (*primary resistance*)<sup>10</sup>. Gruźlica lekooporna,

---

<sup>9</sup> A. Rattan, A. Kalia, N. Ahmad, *Multidrug-resistant mycobacterium tuberculosis: molecular perspectives*, "Emerg. Infect. Dis." 1998, 4(2), s. 195-210.

<sup>10</sup> D. L. Cohn, F. Bustero, M. C. Raviglione, *Drug resistant in tuberculosis: review of the worldwide situation and WHO/IUATLD global surveillance project*, "Clin. Infect. Dis." 1997, 24 (Suppl. 1), s. S121-S130.

a szczególnie gruźlica MDR, stanowi jedno z najpoważniejszych zagrożeń dla zdrowia populacji ludzkiej i prawidłowo prowadzonych programów walki z gruźlicą. Odsetki występowania lekooporności pierwotnej i nabytej prątków gruźlicy oraz szczepów MDR są miernikiem jakości nadzoru nad gruźlicą w danym kraju. Wiedza o częstości występowania lekooporności prątków w grupach chorych nowo wykrytych i wcześniej leczonych stanowi informacje o leczeniu ludzi oraz wskazówkę, jakie wydatki należy ponieść w skali kraju, co pozwala zaprogramować kalendarz rutynowych badań chorych.

Gruźlica z prątkami wrażliwymi na leki jest chorobą wyleczalną w standardowym czasie sześciu miesięcy, leczenie gruźlicy o oporności MDR wymaga bardzo często dwóch i więcej lat, a wyleczenie uzyskuje się zaledwie u 50% chorych nowo wykrytych i około 30% u chorych wcześniej leczonych. Poza niepowodzeniami leczenia wskaźnik śmiertelności jest również wysoki. Śmiertelność u chorych na gruźlicę wynosi około 20%, u chorych zakażonych MDR-TB – 30%, u chorych z gruźlicą XDR-TB – 60%<sup>11</sup>.

Leczenie gruźlicy wywołanej prątkami MDR jest około 100 razy droższe i dużo bardziej toksyczne dla chorych niż leczenie gruźlicy lekowrażliwej. W przypadku chorych wydalających prątki z opornością typu MDR leczenie wymaga bowiem stosowania wielu leków dodatkowych, bardziej toksycznych, o słabszej aktywności przeciwprątkowej i dłuższym czasie terapii.

Wczesne zdiagnozowanie gruźlicy lekoopornej ma istotne znaczenie w zapobieganiu transmisji szczepów lekoopornych w środowisku człowieka. Jej leczenie stanowi dla wielu społeczności poważny problem ekonomiczny. Od czasu zainicjowania przez WHO programów ewidencji gruźlicy lekoopornej, w światowej literaturze medycznej ukazały się setki artykułów dotyczących różnych aspektów tego problemu.

### **Alarm – narastająca lekooporność *Mycobacterium tuberculosis***

W styczniu 2005 r. naukowcy i klinicyści wspólnie pracowali w szpitalu powiatowym w Tugela Ferry w KwaZulu Natal w RPA, aby wykazać skuteczność równoczesnego i skoordynowanego leczenia chorych z HIV / AIDS i TB. Wyniki prac były bardzo obiecujące, ponieważ u leczonych chorych spadało miano wirusa HIV, wzrastała liczba CD4 i w związku z tym osiągnano lepsze wyniki leczenia gruźlicy<sup>12</sup>.

Jednak w tym okresie badacze zarejestrowali także kilka nieoczekiwanych zgonów w obserwowanej grupie chorych, spowodowanych gruźlicą oporną na leki. Analiza wyników testów lekooporności szczepów prątków gruźlicy wydalanych przez chorych w tym regionie wykazała wysoki odsetek szczepów z opornością na sześć leków: izoniazyd, ryfampicynę, etambutol, streptomycynę, ciprofloksacynę i kanamycynę. Wśród 542 chorych z gruźlicą potwierdzoną metodą hodowli 221 chorych (39%) mia-

---

<sup>11</sup> P. Nunn, A. Wright, *WHO Task Force Meeting on XDR TB*, Geneva 2008.

<sup>12</sup> N. R. Gandhi, A. Moll, A. W. Sturm i wsp., *Extensively drug-resistant tuberculosis as a cause of death in patients coinfecting with tuberculosis and HIV in a rural area of South Africa*, "Lancet" 2006, 368, s. 1575-1580.

ło gruźlicę wielolekooporną MDR-TB, a 53 chorych (24%) wydalają prątki odporne na sześć badanych leków<sup>13</sup>.

Na podstawie wyników tych badań w 2006 r. grupa ekspertów WHO i Centers for Disease Control and Prevention (CDC) zdefiniowało gruźlicę XDR TB jako oporność na izoniazyd i ryfamicynę oraz oporność na fluorochinolon i jeden z leków podawanych inekcyjnie: amikacynę, kanamycynę lub kapreomycynę<sup>14</sup>. Zidentyfikowanie XDR TB ponownie zwróciło uwagę całego świata na problem gruźlicy lekoopornej.

Gruźlica wielolekooporna (*multidrug resistant tuberculosis-MDR-TB*) stanowi w obecnej chwili szczególne zagrożenie w realizacji programów zdrowotnych na całym świecie. Wywołują ją prątki odporne na dwa główne leki – izoniazd oraz ryfamicynę. Według WHO w r. 2016 zachorowań na MDR-TB było około 580 000. Część chorych ma gruźlicę wielolekooporną z rozszerzoną opornością (*extensively resistant tuberculosis-XDR-TB*). WHO szacuje, że w 2016 r. 3,9% nowych przypadków i 21% wcześniej leczonych stanowili chorzy z MDR-TB. Kraje z największą liczbą przypadków MDR-TB (45% ogółu) to Chiny, Indie i Federacja Rosyjska. Najwyższe odsetki osób z MDR-TB wśród ogółu chorych na gruźlicę stwierdza się w krajach byłego Związku Radzieckiego<sup>15</sup>.

### Jak przedstawia się problem gruźlicy lekoopornej u naszych wschodnich sąsiadów?

Chorzy z MDR-TB w populacji chorych na Białorusi stanowią aż 47,8% przy zapadalności 38 na 100 000, w Rosji 44,8% zakażonych MDR-TB przy zachorowaniach wynoszących 84,1 na 100 000, natomiast na Ukrainie przy wskaźniku zapadalności 76,7 na 100 000, 28,6% chorych wydalają prątki MDR-TB.

Obecnie sytuacja wojenna na Ukrainie doprowadziła do nagłego wzrostu liczby chorych na gruźlicę w tym również na gruźlicę lekooporną<sup>16</sup>. Artykuł z 2015 r. przedstawia dramatyczne pogorszenie się sytuacji epidemiologicznej we Wschodniej Ukrainie w związku z prowadzonymi na tych terenach działaniami wojennymi. Liczba 3482 chorych z prątkami lekoopornymi MDR/XDR przed wojną wzrosła do liczby 10585. Koszty leczenia jednego chorego wydającego prątki gruźlicy o oporności MDR-TB są szacowane na 23 000 euro, a z opornością XDR-TB na 93 000 euro. Wymagane pieniądze nie są dostępne na Ukrainie i chorzy muszą pozostawać bez leczenia, co gwałtownie pogarsza ich stan zdrowia, a ich choroba stanowi źródło zakażenia dla otoczenia<sup>17</sup>.

<sup>13</sup> Tamże.

<sup>14</sup> Centers for Disease Control and Prevention. Revised definition of extensively drug-resistant tuberculosis, "MMWR", 2006, 55, s. 1176.

<sup>15</sup> WHO Percentage of previously treated TB cases with MDR-TB. WHO Global TB Report, Geneva 2016.

<sup>16</sup> A. Dudnik, O. Rzhepishevska, K. Rogach i wsp., Multidrug-resistant tuberculosis in Ukraine at a time of military conflict, "Int. J. Tuberc Lung Dis." 2015, 19(4), s. 492-496.

<sup>17</sup> Tamże.

W 2018 r. opublikowano wyniki pierwszych krajowych badań dotyczących występowania na terenie całej Ukrainy, nie tylko wschodniej części tego kraju, gruźlicy wielolekoopornej, z których wynika, że obciążenie MDR-TB na Ukrainie jest znacznie większe niż wcześniej zakładano. Odsetek MDR-TB wśród nowych i uprzednio leczonych przypadków wynosił odpowiednio 24,1% i 58,1%.

Wśród nowych przypadków MDR-TB wyższy odsetek rejestrowano wśród chorych młodszych, płci żeńskiej i żyjących w południowo-wschodnich prowincjach, a także wśród pacjentów, którzy należeli do grupy o niskim statusie społeczno-ekonomicznym<sup>18</sup>.

### Badania molekularne w epidemiologii gruźlicy

Epidemiologia gruźlicy korzysta w swych badaniach z szeregu dyscyplin medycyny, takich jak: medycyna kliniczna, patologia, mikrobiologia, statystyka medyczna, a także biochemia i genetyka. W programach walki z gruźlicą ważne jest nie tylko wczesne wykrywanie chorych prątkujących, ale również śledzenie dróg rozprzestrzeniania się prątków. Gruźlica jest transmitowana głównie drogą aerogenną, dlatego badanie poziomu indeksu transmisji jest bardzo ważne dla prawidłowo prowadzonego nadzoru nad chorobą. Poznanie zjawiska umożliwi odróżnienie w populacji chorych na gruźlicę, przypadków pochodzących z reaktywacji od przypadków z bieżącej transmisji. Umożliwia to identyfikację źródła zakażenia, co jest szczególnie przydatne w dobie powszechnej migracji ludzi w Europie. Prowadzone badania epidemiologiczne są podstawą strategii zapobiegania tej chorobie<sup>19</sup>.

Przez szereg lat w dochodzeniach epidemiologicznych do źródeł zakażenia stosowano jedynie wywiady kliniczne i ewentualnie posługiwano się wzorem lekooporności wyhodowanych prątków gruźlicy lub rzadziej w laboratoriach naukowych typowano szczepy prątków mykobakteriofagami. Wszystkie te metody były obciążone wieloma błędami. Wywiad kliniczny miał swoje ograniczenia ze względu na zapominanie wielu faktów i powiązań przez chorych. Posługiwanie się wzorem oporności szczepów prątków bywa zawodne, ponieważ jest to cecha zmienna w trakcie leczenia. Z kolei niewielka liczba opisanych mykobakteriofagów i ograniczona dostępność badania to czynniki limitujące typowanie fagowe. Również metody serologiczne, pomimo wieloletnich badań, nie spełniły pokładanych w nich oczekiwań<sup>20</sup>. Dopiero wprowadzenie typowania molekularnego przynio-

---

<sup>18</sup> E. Pavlenko i wsp., *Alarming levels of multidrug-resistant tuberculosis in Ukraine: results from the first national survey*, "Int J Tuberc Lung Dis.", 2018, 22(2), s. 197-205.

<sup>19</sup> E. Augustynowicz-Kopeć, Z. Zwolska, *Zastosowanie badań molekularnych w diagnostyce gruźlicy*, [w:] *Choroby wewnętrzne. Stan wiedzy na 2017*. Red. A. Szczeklik, Kraków 2017.

<sup>20</sup> J. M. Grange, A. Laszlo, *Serodiagnostic tests for tuberculosis: a need for assessment of their operational predictive accuracy and susceptibility*, "Bull. World Health Organ." 1990, 68, s. 571-576; H. Gruft, R. Johnson, R. Clafin i wsp., *Phage-typing and drug-resistance patterns as tools in mycobacterial epidemiology*, "Am. Rev. Respir. Dis." 1984, 130, s. 96-97.



sło rozwiązanie wielu problemów w dochodzeniach do źródła zakażenia prątkami gruźlicy.

Zdolność rozpoznawania relacji klonalnych między szczepami wydalnymi przez chorych pozwala rozwiązać kluczowe problemy w postępowaniu epidemiologicznym takie jak: ustalenie źródeł i dróg transmisji zakażeń; rozróżnienie czy gruźlica jest wynikiem reaktywacji zakażenia latentnego, czy pochodzi z bieżącej transmisji, a także czy nawrót choroby jest skutkiem wznowy wcześniejszego zakażenia lub niepowodzenia leczenia, czy też jego źródłem jest zakażenie nowym szczepem (reinfekcja). Ponadto, różnicowanie genetyczne szczepów pozwala wykryć laboratoryjne zakażenia krzyżowe, monitorować rozprzestrzenianie się szczepów o ważnym znaczeniu epidemiologicznym, jak również prowadzić badania nad ewolucją prątków gruźlicy<sup>21</sup>.

Obecnie molekularne metody typowania są podstawowym narzędziem w śledzeniu zachorowań wywołanych *M. tuberculosis*. Typowanie molekularne stanowi jasną i obiektywną podstawę dla identyfikacji szczepów biorących udział w zakażeniu oraz wyklucza szczepy nie związane z transmisją choroby.

### Rodziny molekularne prątków gruźlicy. Genotyp Beijing

Rozwój technik molekularnych *fingerprinting* w typowaniu *Mycobacterium tuberculosis* spowodował ich szybką implementację w wielu laboratoriach naukowych na świecie, co zaowocowało szeregiem publikacji opisujących nowe odkrycia. Dotyczą one m.in. opisanie *Mycobacterium canettii* jako oddzielnego gatunku w kompleksie *tuberculosis*<sup>22</sup> lub infekcji wywołanych u ludzi przez *Mycobacterium microti*, uważany wcześniej za gatunek zdolny wywołać infekcję tylko u gryzoni<sup>23</sup>. Największe zasługi na tym polu należą do Holendrów, którzy jako jedni z pierwszych rozpoczęli na szeroką skalę stosowanie badań molekularnych w epidemiologii gruźlicy.

Wykazali między innymi, że prątki gruźlicy izolowane w większości krajów, o wysokich wskaźnikach zapadalności na gruźlicę z Afryki i Azji charakteryzują się wysokim stopniem podobieństwa w budowie genetycznej (wysoki indeks transmisji) w porównaniu do izolowanych od chorych zamieszkujących kraje o niskich wskaźnikach<sup>24</sup>.

---

<sup>21</sup> Mai DeJesus i wsp., *Comprehensive Essentiality Analysis of the Mycobacterium tuberculosis Genome via Saturating Transposon Mutagenesis*, "MBio." 2017, 8(1), s. 2133-16; R. Jajou i wsp., *Epidemiological links between tuberculosis cases identified twice as efficiently by whole genome sequencing than conventional molecular typing: A population-based study*, "PLoS One" 2018,13(4); A. Pitondo-Silva i wsp., *Comparison of three molecular typing methods to assess genetic diversity for Mycobacterium tuberculosis*, "J Microbiol Methods", 2013 Apr, 93(1), s. 42-8.

<sup>22</sup> D. van Soolingen, T. Hoogenboezem, E. W. de Haas i wsp., *A novel pathogenic taxon of Mycobacterium tuberculosis complex. Canetti: characterization of an exceptional isolate from Africa*, "Int.J. Syst. Bacterial." 1997, 47, s. 1236-1245.

<sup>23</sup> E. de Jong i wsp., *Two cases of Mycobacterium microti-induced culture-negative tuberculosis*, "J Clin Microbiol." 2009; 47(9), 3038-40; G. Panteix i wsp., *Pulmonary tuberculosis due to Mycobacterium microti: a study of six recent cases in France*, "J. Med. Microbiol.", 2010, 59, s. 984-989.

<sup>24</sup> HC. Liu i wsp., *Molecular Typing Characteristic and Drug Susceptibility Analysis of Mycobacterium tuberculosis Isolates from Zigong, China*, "Biomed Res Int." 2016; 2016: 6790985; R. Warren, J. Hauman, N. Beyers i wsp., *Unexpectedly high strain diversity of Mycobacterium tuberculosis in a high-incidence community*, "S. Afr. Med." 1996, 86, s. 45-49.



Szczepy charakteryzowały się jednakowym wzorem w technice spoligotypowania i zostały nazwane „genotyp Beijing”. Późniejsze, wnikliwe badania z dziedziny epidemiologii molekularnej wykazały, że genotyp Beijing jest spotykany w różnych częściach Azji, w Rosji i innych krajach<sup>26</sup>, a wkrótce, że szczepy te są obecne we wszystkich częściach świata, również w USA. Spowodowało to rozpoczęcie dokładnych badań nad cechami charakterystycznymi „family Beijing”.

Prątki gruźlicy Beijing wykazują szereg specyficznych cech, które ułatwiają im szybkie rozprzestrzenianie się w świecie. Sugeruje się, że indukowany szczepionką BCG system immunologiczny nie zabezpiecza przed zakażeniami niektórymi szczepami (*escape variants*), w tym szczególnie przed *M. tuberculosis* Beijing. Wieloośrodkowe badania prowadzone na zwierzętach wykazały wyższą wirulencję *M. tuberculosis* Beijing w porównaniu do wirulencji, którą wykazywały szczepy należące do innych rodzin molekularnych.

Do innych charakterystycznych cech szczepów Beijing należą: szczególną zdolność szczepów do przeżywania w makrofagach i monocytach i wywoływanie zróżnicowanej odpowiedzi immunologicznej, zdolność szczepów do szybkiej transmisji, powodowanie nietypowego obrazu radiologicznego, szczególna łatwość nabywania lekooporności i nieprzewidywalna reakcja na leczenie<sup>27</sup>. Ostatnio stwierdzono, że szczepy Beijing posiadają mutacje w zmodyfikowanych genach i wykazują większe zdolności adaptacyjne w warunkach stresu, takich jak: działanie leków przeciwprątkowych i reakcja układu immunologicznego gospodarza.

Obecnie zasięg występowania gruźlicy spowodowanej typem Beijing obejmuje wszystkie kontynenty i kraje na świecie a od 2000 r. opisujemy je także w polskich badaniach<sup>28</sup>. Ponieważ wśród szczepów Beijing oprócz form wrażliwych na leki często występują lekooporne, zadaniem referencyjnych laboratoriów, formy prątka,

---

<sup>26</sup> M. N. Huyen i wsp., *Tuberculosis relapse in Vietnam is significantly associated with Mycobacterium tuberculosis Beijing genotype infections*, "J Infect Dis" 2013, 15;207(10), s. 1516-24; HC. Liu i wsp., *Molecular Typing Characteristic and Drug Susceptibility Analysis of Mycobacterium tuberculosis Isolates from Zigong, China*, "Biomed Res Int." 2016; 2016: 6790985; H. Marttila, H. Soini, E. Eerola i wsp., *A Ser315Thr substitution in Kat G is predominant ingenetically heterogeneous multidrug-resistant Mycobacterium tuberculosis isolates originating from St.Petersburg area in Russia*, "Antimicrob. Agents Chemother." 1998, 42, s. 2443-2445.

<sup>27</sup> R. Diaz, P. Kremer, E. de Hass i wsp., *Molecular epidemiology of tuberculosis in Cuba outside of Havana July 1994 – June 1995 utility of spoligotyping versus IS6110 restriction fragment length polymorphism*, "Int. J. Tuberc Lung Dis." 1998, 2, s. 743-750; J. Dormans, M. Burger, D. F. Aguilar i wsp., *Correlation of virulence, lung pathology, bacterial load and delayed type hypersensitivity responses after infection with different Mycobacterium tuberculosis genotypes in a BALB/c mouse model*, "Clin. Exp. Immunol." 2004, 137, s. 460-468; A. O'Garra i wsp., *The Immune Response in Tuberculosis*, "Annual Review of Immunology" 2013, 31, s. 475-527; G. Thwaites, M. Caws, T. Hong Chau, *Relationship between Mycobacterial tuberculosis genotype and the clinical phenotype of pulmonary and meningeal tuberculosis*, "J. Clin. Microbiol." 2008, 46, 4, s. 1363-1368.

<sup>28</sup> E. Augustynowicz-Kopec, Z. Zwolska, *Gruźlica w Europie i w Polsce – nowe rodziny molekularne i nowe wzory oporności*, „Przegl. Epidemiol.” 2008, 62, s. 113-121; N. Casali i wsp., *Microevolution of extensively drug-resistant tuberculosis in Russia*, "Genome Res." 2012, 22, s. 735-745; M. Rad, P. Bifani, C. Martin i wsp., *Mutation in putative mutator genes of mycobacterium tuberculosis strains of W-Beijing family*, "Emerg. Infect. Dis." 2003, 9, s. 828-845; Yi Liu i wsp., *The study on the association between Beijing genotype family and drug susceptibility phenotypes of Mycobacterium tuberculosis in Beijing*, "Scientific Reports" 2017, 7(1).

w każdym kraju celowe jest prowadzenie badań epidemiologicznych nad częstością ich występowania.

W Polsce do chwili obecnej zidentyfikowano około 120 chorych dorosłych i dzieci wydalających prątki Beijing, w tym 80% szczepów było opornych na co najmniej jeden lek. Wśród gruźlicy lekoopornej Beijing MDR-TB, 20% stanowiły szczepy pre-XDR-TB, a 8% XDR-TB. Ponadto stwierdzono transmisję szczepów pomiędzy chorymi. Rozprzestrzenianie się tych bardzo groźnych szczepów prątków gruźlicy w populacji naszego kraju wymaga prowadzenia aktywnych dochodzeń epidemiologicznych wśród chorych prątkujących, badania osób z otoczenia, a także stosowania wystandaryzowanych metod genotypowania umożliwiających identyfikację dróg transmisji gruźlicy.

Na szczególnie podkreślenie zasługuje istotny wpływ ruchów migracyjnych w Europie i na świecie na zagrożenie epidemiologiczne populacji polskiej szczepami MDR-TB, pre-XDR-TB i XDR-TB. Dzieje się tak, ponieważ przy weryfikacji skali zagrożenia każdego z migrantów dla bezpieczeństwa i porządku publicznego w kraju jednocześnie nie bada się w żaden sposób ich stanu zdrowia w kontekście potencjalnego niekorzystnego wpływu na sytuację epidemiologiczną kraju.

Metody, jakimi posługujemy się w Polsce do identyfikacji *M. tuberculosis* Beijing, należą do wystandaryzowanych i zalecanych przez Międzynarodowy Komitet ds. Standaryzacji Badań Molekularnych w Gruźlicy.

Polska przez pięć ostatnich lat była partnerem w europejskim projekcie badawczym TB-PANET, który był realizowany przez 28 krajów i dotyczył badań molekularnych nad prątkami gruźlicy. Wspólna praca i zdobyte doświadczenie zaowocowały wieloma publikacjami, w których opisano nie tylko prace eksperymentalne, ale również zaproponowano algorytmy działań i metody prewencji do niezwłocznego wdrożenia we wszystkich systemach światowej służby zdrowia. Na koniec warto wspomnieć, że w chwili obecnej przystępujemy do europejskiego programu organizowanego przez ECDC dotyczącego śledzenia dróg transmisji gruźlicy lekoopornej ze szczególnym uwzględnieniem gruźlicy Beijing TB.

#### Wykaz literatury:

1. Augustynowicz-Kopec E., Zwolska Z., *Gruźlica w Europie i w Polsce – nowe rodziny molekularne i nowe wzory oporności*, „Przegl. Epidemiol.” 2008, 62, s. 113-121.
2. Augustynowicz-Kopec E., Zwolska Z., *Zastosowanie badań molekularnych w diagnostyce gruźlicy*, [w:] *Choroby wewnętrzne. Stan wiedzy na 2017*, red. A. Szczeklik, Kraków 2017.
3. Casali N. i wsp., *Microevolution of extensively drug-resistant tuberculosis in Russia*, “Genome Res.” 2012, 22, s. 735-745.
4. Centers for Disease Control and Prevention. *Revised definition of extensively drug-resistant tuberculosis*, “MMWR”, 2006, 55, s. 1176.
5. Cohn D. L., Bustero F., Raviglione M. C., *Drug resistant in tuberculosis: review of the worldwide situation and WHO/IUATLD global surveillance project*, “Clin. Infect. Dis.” 1997, 24 (Suppl. 1), s. S121-S130.
6. DeJesus Mai i wsp., *Comprehensive Essentiality Analysis of the Mycobacterium tuberculosis Genome via Saturating Transposon Mutagenesis*, “MBio.” 2017, 8(1), s. 2133-16.

7. Diaz R., Kremer P., de Hass E. i wsp., *Molecular epidemiology of tuberculosis in Cuba outside of Havana July 1994 – June 1995 utility of spoligotyping versus IS6110 restriction fragment length polymorphism*, "Int. J. Tuberc Lung Dis." 1998, 2, s. 743-750.
8. Dormans J., Burger M., Aguilar D. F. i wsp., *Correlation of virulence, lung pathology, bacterial load and delayed type hypersensitivity responses after infection with different Mycobacterium tuberculosis genotypes in a BALB/c mouse model*, "Clin. Exp. Immunol." 2004, 137, s. 460-468.
9. Dudnyk A., Chesov D., Lange C., *Mission impossible: the End TB strategy*, "Int J Tuberc Lung Dis." 2018, 22(2), s. 121-122.
10. Dudnik A., Rzhepishevskaya O., Rogach K. i wsp., *Multidrug-resistant tuberculosis in Ukraine at a time of military conflict*, "Int. J. Tuberc Lung Dis." 2015, 19(4), s. 492-496.
11. Gandhi N.R., Moll A., Sturm A. W. i wsp., *Extensively drug-resistant tuberculosis as a cause of death in patients coinfecting with tuberculosis and HIV in a rural area of South Africa*, "Lancet" 2006, 368, s. 1575-1580.
12. Grange J. M., Laszlo A., *Serodiagnostic tests for tuberculosis: a need for assessment of their operational predictive accuracy and susceptibility*, "Bull. World Health Organ." 1990, 68, s. 571-576.
13. Gruft H., Johnson R., Clafin R. i wsp., *Phage-typing and drug – resistance patterns as tools in mycobacterial epidemiology*, "Am. Rev. Respir. Dis." 1984, 130, s. 96-97.
14. *Gruźlica i choroby układu oddechowego w Polsce w 2016 r.*, red. Maria Korzeniewska-Koseła, Instytut Gruźlicy i Chorób Płuc, Warszawa 2017.
15. Gutierrez M. C., Brisse S., Brosch R., Fabre M., Omais B., Marmiesse M. i wsp., *Ancient origin and gene mosaicism of the progenitor of Mycobacterium tuberculosis*, "PLoS Pathog, PLoS", 2005, 1(1), s. 5-19.
16. Herzog H., *History of tuberculosis*, "Respiration" 1998, 65(1), s. 5-15.
17. Huyen M. N. i wsp., *Tuberculosis relapse in Vietnam is significantly associated with Mycobacterium tuberculosis Beijing genotype infections*, "J Infect Dis" 2013, 15;207(10), s. 1516-24.
18. Jajou R. i wsp., *Epidemiological links between tuberculosis cases identified twice as efficiently by whole genome sequencing than conventional molecular typing: A population-based study*, "PLoS One" 2018,13(4).
19. de Jong E. i wsp., *Two cases of Mycobacterium microti-induced culture-negative tuberculosis*, "J Clin Microbiol." 2009; 47(9), 3038-40.
20. Liu H.C. i wsp., *Molecular Typing Characteristic and Drug Susceptibility Analysis of Mycobacterium tuberculosis Isolates from Zigong, China*, "Biomed Res Int." 2016; 2016: 6790985.
21. Liu Yi i wsp., *The study on the association between Beijing genotype family and drug susceptibility phenotypes of Mycobacterium tuberculosis in Beijing*, "Scientific Reports" 2017, 7(1).
22. Marttila H., Soini H., Eerola E. i wsp., *A Ser315Thr substitution in Kat G is predominant in genetically heterogeneous multidrug-resistant Mycobacterium tuberculosis isolates originating from St. Petersburg area in Russia*, "Antimicrob. Agents Chemother." 1998, 42, s. 2443-2445.
23. Nunn P., Wright A., *WHO Task Force Meeting on XDR TB*, Geneva 2008.
24. O'Garra A. i wsp., *The Immune Response in Tuberculosis*, "Annual Review of Immunology" 2013, 31, s. 475-527.
25. Panteix G. i wsp., *Pulmonary tuberculosis due to Mycobacterium microti: a study of six recent cases in France*, "J. Med. Microbiol.", 2010, 59, s. 984-989.
26. Pavlenko E. i wsp., *Alarming levels of multidrug-resistant tuberculosis in Ukraine: results from the first national survey*, "Int J Tuberc Lung Dis.", 2018, 22(2), s. 197-205.
27. Pitondo-Silva A. i wsp., *Comparison of three molecular typing methods to assess genetic diversity for Mycobacterium tuberculosis*, "J Microbiol Methods", 2013 Apr, 93(1), s. 42-8.
28. Rad M., Bifani P., Martin C. i wsp., *Mutation in putative mutator genes of mycobacterium tuberculosis strains of W-Beijing family*, "Emerg. Infect. Dis." 2003, 9, s. 828-845.
29. Rattan A., Kalia A., Ahmad N., *Multidrug-resistant mycobacterium tuberculosis: molecular perspectives*, "Emerg. Infect. Dis." 1998, 4(2), s. 195-210.
30. Sreevatsan S., Pan X., Stockbauer K. E., Connell N. D., Kreiswirth B. N., Whittam T.S. i wsp., *Restricted structural gene polymorphism in the Mycobacterium tuberculosis complex indicates evolutionarily recent global dissemination*, "Proc Natl Acad Sci USA", 1997, 94, s. 9869-9874.
31. van Soolingen D., Hoogenboezem T., de Haas E. W. i wsp., *A novel pathogenic taxon of Mycobacterium tuberculosis complex. Canetti: characterization of an exceptional isolate from Africa*, "Int. J. Syst. Bacteriol." 1997, 47, s. 1236-1245.

32. Thwaites G., Caws M., Hong Chau T., *Relationship between Mycobacterial tuberculosis genotype and the clinical phenotype of pulmonary and meningeal tuberculosis*, "J. Clin. Microbiol." 2008, 46, 4, s. 1363-1368.
33. Warren R., Hauman J., Beyers N. i wsp., *Unexpectedly high strain diversity of Mycobacterium tuberculosis in a high-incidence community*, "S. Afr. Med." 1996, 86, s. 45-9.
34. *WHO Global TB Report 2016*, Geneva, Switzerland 2017.
35. *WHO Percentage of previously treated TB cases with MDR-TB. WHO Global TB Report*, Geneva 2016.