

Результаты применения метода MTBDRPlus и генотипирования ДНК *M. tuberculosis* в различных регионах Казахстана

А.Х. АЛЕНОВА¹, В.Л. БИСМИЛДА¹, А.Р. ИБРАЕВА², А.Ж. АХМЕТОВА³, У.А. КОЖАМКУЛОВ³,
Т.Ш. АБИЛДАЕВ¹, Ш.К. ИГЛИКОВА¹, Л.Т. ЧИНГИСОВА¹, Е.М. РАМАНКУЛОВ³

¹Национальный центр проблем туберкулеза МЗ РК, ²Евразийский Национальный университет им. Л.Н. Гумилева, ³Национальный центр биотехнологии КН МОН РК.

В Республике Казахстан внедряется экспресс-метод диагностики мультирезистентного туберкулеза (МЛУТБ) MTBDR Plus (Hain LifeScience, GmbH) позволяющий выявить мутации, ответственные за резистентность к изониазиду (H) и рифампицину (R) в течение 2 дней и установить быстро и точно ряд генов (*rpoB*, *katG*, *inhA*), детерминирующих МЛУТБ. Однако, установить детально нуклеотидные последовательности локусов генома, принимающих участие в формировании устойчивости к H и R, можно только с помощью более сложных молекулярно-генетических методов, что важно для выяснения особенностей генотипа *M. tuberculosis* (МБТ), циркулирующих в стране.

Целью исследования явилось выявление мутаций, ответственных за резистентность к H и R в различных регионах Казахстана.

Задачи исследования:

- изучить результаты генотипирования ДНК МБТ методом MTBDR Plus (Hain LifeScience, GmbH, Германия) в различных регионах Казахстана
- провести ДНК секвенирование клинических изолятов от больных туберкулезом из различных регионов Казахстана.

Материалы и методы. Материалом исследования для MTBDR Plus служила культура МБТ от 812 больных с МЛУТБ из Северо-Казахстанской, Карагандинской, Акмолинской, Алматинской и Актюбинской областей. Для секвенирования были собраны 80 клинических изолятов *M. tuberculosis*, выделенных от больных с МЛУТБ из этих же областей. Определение нуклеотидных последовательностей локусов генома МБТ проводилось с использованием ABI Prism BigDye Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit и прибора ABI 3730 (Applied Biosystems, США) Genetic Analyzer. Выравнивание и сравнительный анализ полученных генов *rpoB*, *katG* проводили с референсной последовательностью штамма *M. tuberculosis* H37RW ([NC 000962](#)) с помощью программы SeqScape (Applied Biosystems).

Результаты исследования

По данным MTBDRPlus наиболее частые мутации наблюдались в гене *rpoB* MUT3 S531L независимо от региона, но все же чаще они имели место у больных Карагандинской области (99,1%), Алматинской (96,3%). Что касается резистентности к H, то результаты генотипирования методом MTBDRPlus

свидетельствовали о доминировании во всех регионах сильных мутаций в гене *katG* MUT1 S315T1. В разных соотношениях определялись мутации в гене *inh A* MUT1C15T, наибольший процент установлен в Карагандинской (7,5%) и Северо-Казахстанской (7,0%) областях. По данным секвенирования наиболее частые мутации в гене *groV* определены в 531 кодоне (81,25 %), с преобладанием замены серина на лейцин (77,5%). Вторыми по значимости обнаружены мутации в 526 кодоне (11,25%): замена гистидина на лейцин (5%), на треонин (3,75%) и на аргинин (2,5%). При секвенировании гена *katG*, мутации обнаружены в 97,5%, все они были в 315 кодоне с заменой серина на треонин, в двух изолятах мутаций не обнаружено, что возможно связано с ошибкой либо наличием мутаций в другом гене.

Выводы

Результаты генотипирования методом MTBDRPlus и секвенирования генов *groV* и *katG* ДНК МБТ в различных регионах Казахстана свидетельствуют о доминировании мутации в гене *groV* в 531 (81,25 %) и 526 (11,25%) кодонах; при секвенировании гена *katG* доминирующие мутации затрагивали 315 (97,5%) кодон.

Аленова А.Х. 8-727-291-63-28, arika.alenova@mail.ru, shigliкова@mail.ru