

УДК 577.21:579.25

*А.Р. Ибраева<sup>1,2</sup>, А.Ж. Ахметова<sup>1,2</sup>, У.А. Кожамкулов<sup>2</sup>, Е.М. Раманкулов<sup>2</sup>  
А.Ш. Абилдаев<sup>3</sup>, А.Х. Аленова<sup>3</sup>, В.Л. Бисмилда<sup>3</sup>, Л.Т. Чингисова.*

<sup>1</sup> РГП «Национальный центр биотехнологии РК» КН МОН РК, г.Астана

<sup>2</sup> Евразийский Национальный Университет им. Л.Н. Гумилева, г.Астана

<sup>3</sup> РГП «Национальный центр проблем туберкулеза РК» МЗ РК, г.Алматы

## **ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ КЛИНИЧЕСКИХ ИЗОЛЯТОВ *M.TUBERCULOSIS* ИЗ РАЗЛИЧНЫХ ОБЛАСТЕЙ КАЗАХСТАНА НА ОСНОВЕ ДНК – СЕКВЕНИРОВАНИЯ**

В данной работе представлены данные по определению нуклеотидных последовательностей генов, обуславливающих лекарственную устойчивость к основным противотуберкулезным препаратам - изониазиду и рифампицину 151 клинических изолятов *M.tuberculosis*, циркулирующих на территории четырех областей Казахстана (Алматинская, Актюбинская, Северо–Казахстанская, Карагандинская области). В работе использовались современные молекулярно-генетические методы ДНК-секвенирование.

Ключевые слова: ДНК, туберкулез, резистентность, секвенирование

### **Введение**

Туберкулез относится к группе социально значимых заболеваний и является важной медико-социальной проблемой, наносящий значительный материальный урон из-за потери трудоспособности и преждевременной смерти наиболее продуктивного населения [1].

В соответствии с информацией ВОЗ, около 2 миллиардов людей, треть общего населения Земли, инфицировано. В настоящее время туберкулезом ежегодно заболевает 9 миллионов человек во всём мире, из них 3 миллиона умирают от его осложнений. Наибольшее число случаев заболевания туберкулезом регистрируется в Индии и Китае. В 2008 г. они составляли более 40% из всех новых случаев туберкулеза и рецидивов, зарегистрированных в

мире. 2 млн. и 1,3 млн. случаев заболеваний соответственно. Но даже в этих, вроде бы неблагополучных странах, количество случаев заболеваний на 100 000 человек ниже, чем в Казахстане – 170 случаев в Индии и всего 97 в Китае. Даже в соседнем Кыргызстане 160 случаев заболеваний на 100 000 человек. В среднеазиатском регионе по этому показателю Казахстан опережает только Таджикистан и Афганистан – 200 и 190 случаев заболеваний на 100 000 человек. Итак, согласно оценке ВОЗ, наибольшая заболеваемость туберкулезом в Евразийском регионе (более 120 на 100 тыс. населения) имеет место в Таджикистане (200), в Афганистане (190), Казахстане (180), Республике Молдова (170), Кыргызстане (160), Румынии (130) и Узбекистане (130). Близка к этому критическому показателю Российская Федерация и Грузия, имеющих 110 случаев заболевания на 100 000 человек [2].

По статистическим данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) эпидемией заболевания туберкулезом считается 50 случаев на 100 тысяч населения. В Республике Казахстан количество зарегистрированных случаев туберкулеза в последние годы превышает эпидемиологический показатель в 2-3 раза [2,3]. По уровню заболеваемости туберкулезом Республика Казахстан занимает лидирующее положение среди стран СНГ и Европы. Тем не менее показатель заболеваемости в 2010 году составил 95,5 на 100 тысяч человек, что на 10% меньше, чем в 2009 году. Одним из объективных и важных критериев, отражающих состояние эпидемиологической обстановки в республике, является показатель смертности от туберкулеза. За период с 2000 по 2004 годы показатель смертности снизился на 22 %, с 26,4 до 20,6 случаев соответственно. В период с 2004 по 2006 годы показатель смертности от туберкулеза сохранялся на уровне 20,5 случаев на 100 тыс. населения. За последние три года динамика показателя смертности от туберкулеза показывает постепенную тенденцию к снижению, с 18,1 случаев в 2007 году до 12,5 в 2009 году [3].

В целом, эпидемиологическая ситуация по туберкулезу в Республике Казахстан сохраняется напряженной, несмотря на снижение основных эпидпоказателей, имеет место тенденция к росту туберкулеза с множественной лекарственной устойчивостью, как среди контингента противотуберкулезных диспансеров, так и среди впервые выявленных больных туберкулезом, что связано с расширенным охватом больных экспресс тестами на лекарственную чувствительность. В настоящее время в Казахстане насчитывается более 8000 больных, страдающих мультirezистентной формой заболевания [2,3,4].

Возникновение устойчивых к антибактериальным препаратам вариантов - закономерное явление, основной биологический закон, выражение приспособления видов к окружающей среде. В литературе [6,7] сформировались две теории сущности лекарственной устойчивости микобактерий туберкулеза:

- Теория адаптации предполагает изменение свойств микроорганизма, адекватные изменению окружающей среды.
- Развитие лекарственной устойчивости микобактерий расценивается как проявление одной из форм изменчивости бактериальной клетки под влиянием химиопрепаратов.

Лекарственная устойчивость микобактерий туберкулеза возникает ко всем химиотерапевтическим средствам и антибиотикам [8]. Сложность многообразия химической структуры существующих противотуберкулезных препаратов ни в коем случае не дают основания думать об одинаковом механизме их биологического действия. Изучение биологических особенностей, ферментативной активности, химического состава лекарственно - устойчивых вариантов в сравнении с чувствительными, генетически однородными микобактериями позволило выделить несколько основных механизмов, обуславливающих резистентность бактериальной клетки к данному антибактериальному агенту.

Обнаружение микобактерий туберкулезного комплекса в клинических образцах является одним из основных диагностических подходов во фтизиатрии [9]. Микробиологические исследования играют в современных условиях важнейшую роль в выявлении, диагностике и дифференциальной диагностике туберкулеза, выборе рациональных схем лечения, оценке его эффективности и коррекции химиотерапевтической тактики, контроле диспансерных контингентов, а также в выявлении туберкулезной инфекции. Мультирезистентный туберкулез (multi-drug resistant, MDR) – это наиболее опасная форма туберкулеза, при которой микобактерии туберкулеза становятся устойчивыми (невосприимчивыми) как минимум к двум наиболее важным противотуберкулезным препаратам: изониазиду (H) и рифампицину (R). Для борьбы с ним требуются особые, в большинстве случаев весьма токсичные препараты, вызывающие серьезные побочные эффекты. В дополнение к этому, туберкулез с широкой лекарственной устойчивостью (extensively drug resistant, XDR) это устойчивость МБТ не только к H и R, но и к одному из фторхинолонов и одному из инъекционных препаратов 2 ряда (капреомицину, канамицину или амикацину). Важной проблемой сегодня является сам возбудитель заболевания [8,9]. С каждым годом увеличивается количество устойчивых форм туберкулеза, особенно мультирезистентный туберкулез (ТБ-МЛУ), обуславливающий устойчивость к основным противотуберкулезным препаратам первого ряда.

К настоящему времени имеется информация о генах, вовлеченных в формирование устойчивости микобактерий к основным противотуберкулезным препаратам. Такая устойчивость обусловлена возникновением мутаций в генах, продукты которых являются мишенями для лекарств или участвуют в их активации [10]. Например, мутации в гене *rpoB* обуславливают резистентность к рифампицину в более 90% случаев. Мишенью действия рифамицинов является фермент ДНК-зависимая РНК-полимераза (ген *rpoB*). Устойчивость к рифамицинам (рифампицину, рифабутину и др.) в подавляющем большинстве

случаев (более 95% штаммов) связана с мутациями в сравнительно небольшом фрагменте  $\beta$ -субъединицы этого фермента. Размер указанного фрагмента составляет 81 пар оснований. Мутации в отдельных кодонах различаются по своему значению [4,5]. Так, при мутациях в кодонах 526 и 531, обнаруживают высокий уровень резистентности к рифампицину. В незначительной части случаев резистентность к рифампицину связана с мутациями в других участках гена *rpoB*.

Механизм действия изониазида на *M.tuberculosis* более сложен, чем у рифампицина. Изониазид является пролекарством, попадая внутрь микробной клетки, препарат под воздействием фермента каталазы – пероксидазы (*katG*) превращается в активные формы – свободнорадикальные производные изоникотиновой кислоты, с параллельным образованием свободнорадикальных форм кислорода [11]. Именно эти производные и оказывают повреждающее действие на многочисленные клеточные мишени. Основной мишенью действия считается NADH - зависимая – АСР - редуктаза (*InhA*) – ключевой фермент синтеза основного компонента клеточной стенки *M.tuberculosis* – миколевой кислоты. В формировании устойчивости штаммов к изониазиду вовлечены несколько генетических локусов. Наиболее часто для лекарственной устойчивости *katG* ген, промоторная область *fabG-inhA*, *oxyR-ahpC* оперона. По литературным данным, 60-98% всех устойчивых штаммов имеют мутацию в *katG* гене, 21-24% в промоторной области *fabG-inhA*, в промоторной области 10-15% *oxyR-ahpC*.

Расшифровка генома *M.tuberculosis* открыла неограниченные перспективы, в разработке генетико-молекулярных тестов, в том числе в изучении и выявлении *M.tuberculosis* и ее диагностике в организме человека [12].

Распространение лекарственно-устойчивых штаммов микобактерий туберкулеза (*M.tuberculosis*) является одной из наиболее серьезных проблем борьбы с туберкулезом во всем мире, в частности в Казахстане. Классические методы, применяемые для обнаружения наличия в организме и анализа

лекарственной чувствительности *M.tuberculosis*, такие как бактериоскопия, культуральные на жидких и твердых средах, весьма эффективны, но отличаются или недостаточной чувствительностью, или длительностью выявления *M.tuberculosis*. Развитие молекулярно-биологических методов открыло новые перспективы для быстрого определения чувствительности *M.tuberculosis* к противотуберкулезным препаратам основано на амплификации с использованием полимеразной цепной реакции (ПЦР) специфических участков генов, кодирующих мишени лекарственных веществ, с определением мутаций, связанных с возникновением устойчивости. На сегодняшний день существует множество различных методов определения мутаций в генах *M. Tuberculosis*, но основным и наиболее точным является метод секвенирования ампликонов с последующим анализом нуклеотидных последовательностей [13].

#### **Материалы и методы:**

Сбор клинических изолятов *M. tuberculosis* и выделение ДНК проводили сотрудники референс-лаборатории Национального центра проблем туберкулеза Республики Казахстан (НЦПТ РК) в г.Алматы. ДНК выделяли по стандартной методике согласно руководству, размещенному на сайте [www.miru-vntrplus.org](http://www.miru-vntrplus.org), инактивировали культуру прогреванием 45 минут при температуре 95°C в ТЕ-буфере [12].

#### *ДНК-секвенирование*

Для проведения секвенирования были собраны 151 клинических изолятов *M. tuberculosis*, выделенных у больных, проживающих на территории Казахстана (Алматинская, Актюбинская, Северо-Казахстанская, Карагандинская области).

Выделение ДНК проводилось по вышеописанному протоколу. Амплификацию фрагментов генома клинических штаммов *M. tuberculosis*, несущих в своем составе детерминанты генетической устойчивости к рифампицину – *rpoB*; изониазиду – *katG*, промоторной области *fabG-inhA*, *oxyR-ahpC* оперона *M.tuberculosis*, проводили в реакционной смеси, содержащей:

10xdNTP, 10xbuffer, 2,5 mM MgCl<sub>2</sub>, 1ед Taq-полимеразы (Fermentus, ЕС) и 10 pmol каждого праймера в объеме 0,5 мкл. Реакцию проводили в амплификаторе DNA Engine Tetrad BioRad 2 (MJ Research, USA). Был использован универсальный профиль амплификации, адаптированный для максимального выхода ПЦР – продукта всех исследуемых локусов генома. Визуализацию продуктов амплификации осуществляли путем электрофореза в 1,5 % агарозном геле с последующей окраской бромистым этидием. Реакцию проводили в амплификаторе (Tetrad 2 BioRad, США).

Дефосфорилирование дНТФ и элиминацию оставшихся праймеров в пост-амплификационной смеси проводили, инкубируя образцы с щелочной фосфотазой и экзонуклеазой при 37<sup>0</sup>С в течении 30 минут с последующей инактивацией ферментов при 85<sup>0</sup>С в течении 10 минут.

Определение нуклеотидных последовательностей локусов генома, принимающих участие в формирование устойчивости, проводилось с использованием ABI Prism BigDye Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit и прибора ABI 3730 (Applied Biosystems, США) Genetic Analyzer в соответствии с прилагаемыми инструкциями компании-производителя. В реакции секвенирования использовались те же праймеры, что и в реакции амплификации.

Выравнивание и сравнительный анализ полученных последовательностей генов *rpoB*, *katG*, промоторной области *fabG-inhA*, *oxyR-ahpC* оперона, проводили с референсной последовательностью штамма *M. tuberculosis* H37Rv ([NC\\_000962](#)) с помощью программы SeqScape (Applied Biosystems).

## **Результаты и обсуждение**

Всего было изучено 151 клинических изолятов *M. tuberculosis*, выделенных у больных, проживающих на территории Казахстана (Алматинская, Актюбинская, Северо–Казахстанская, Карагандинская области).

По результатам теста на лекарственную чувствительность из числа исследованных нами изолятов из 4-х областей Казахстана (Алматинская, Актюбинская, Северо–Казахстанская, Карагандинская) были обнаружены: 2 -

монорезистентных, 28 - полирезистентных и 121 – мультирезистентных образцов.

Выявление мутаций в *rpoB* гене *M.tuberculosis* методом ДНК-секвенирования позволяет определить устойчивость изолятов к рифампицину, одному из основных противотуберкулезных препаратов первого ряда. Из нашей выборки были определены 129(85%) изолятов, обладающих устойчивостью к рифампицину, 22(15%) изолята являлись, чувствительны к данному препарату. Из них 122 образца имеют мутации в высоко консервативной области *rpoB* гена с 511 по 533 кодон, обуславливающую резистентность *M.tuberculosis* к рифампицину. Наиболее часто встречающаяся мутация в данной выборке наблюдалась в 531 кодоне гена *rpoB* с аминокислотной заменой Ser-Leu (109 изолятов – 90%), так же встречались мутации в других кодонах гена *rpoB* таких как: 526 кодон с заменой His-Leu (5 изолятов – 4%) и с заменой His-Arg (2 изолята – 1%), 533 кодон с заменой Leu-Pro (3 изолята – 2%), 516 кодон с заменой Asp-Tyr (1 изолят – 1%) и с заменой Asp-Phe (1 изолят – 1%), 512 кодон с заменой Ser-Asn (1 изолят – 1%) У 7 рифампицин-резистентных штаммов *M.tuberculosis*, не имеющие мутаций в указанном районе, вероятно, затрагивают другие области *rpoB* гена. В частности, недавно были охарактеризованы мутации, локализованные в 381, 481, 505, 508 и 509 кодонах [41, 43, 45]. В то же время, нельзя исключать и наличие других, неисследованных механизмов резистентности.

Выявление мутаций в *katG* гене, промоторной области *fabG-inhA*, *oxyR-ahpC* оперона *M.tuberculosis* методом секвенирования позволяет определить устойчивость штаммов к изониазиду, одному из основных противотуберкулезных препаратов первого ряда. Нами были выделены 135(89%) изониазид - устойчивых изолятов, 16(11%) в нашей выборки оказались чувствительны к данному противотуберкулезному препарату. Из них 133(98,5%) образца имеют мутации в 315 кодоне гена *katG* замена серина на треонин AGC→ACC, обуславливающих устойчивость к изониазиду. При этом в двух изониазид-устойчивых образцах (1,5%) мутации в изучаемых генах не

были обнаружены, хотя фенотипически у них определена лекарственная устойчивость это может быть связано с мутациями в других редких генах, которые нами не были изучены. В промоторной области *fabG-inhA* оперона нами были обнаружены мутации в позициях 15(С-Т) – 10 образцов, 8 (Т-С) – 2 образца. Это говорит о наличии двойных мутаций в этих генетических локусах у 12 изолятов, обладающих устойчивостью к изониазиду. Так же нами исследована промоторная область *oxyR-ahpC* оперона в разных позициях, но мутаций обнаружено не было.

Специфику исследуемых нами областей: Алматинская, Актюбинская, Северо–Казахстанская, Карагандинская наглядно можно увидеть в таблице 1.

Таблица 1

Ген	Кодон	Аминокислотная замена	Количество (%)
Алматинская область			
<i>rpoB</i>	531	Ser- Leu	40 изолятов – 76%
	533	Leu-Pro	3 изолята – 6%
	526	His-Arg	2 изолята – 4%
		His- Leu	1 изолят – 2%
	516	Asp-Phe	1 изолят – 2%
		Asp-Tyr	1 изолят – 2%
	512	Ser-Asn	1 изолят – 2%
	Нет мутаций		3 изолята – 6%
<i>katG</i>	315	Ser-Thr	45 изолятов – 83%
		Нет мутаций	2 изолятов – 4%
Двойные мутации			
<i>katG</i> <i>fabG-inhA</i>	315 -15	Ser-Thr С-Т	5 изолятов – 9%
	315 -8	Ser-Thr Т-С	2 изолята – 4%
Актюбинская область			
<i>rpoB</i>	531	Ser- Leu	52 изолятов – 87%
	526	His- Leu	4 изолята- 7%
		Нет мутаций	4 изолята- 7%
<i>katG</i>	315	Ser-Thr	59 изолятов – 92%
		Нет мутаций	-
Двойные мутации			
<i>katG</i> <i>fabG-inhA</i>	315 -15	Ser-Thr С-Т	5 изолятов – 8%
Северо-Казахстанская область			
<i>rpoB</i>	531	Ser- Leu	10 изолятов – 100%

	Нет мутаций		-
<i>katG</i>	315	Ser-Thr	14 изолятов – 100%
	Нет мутаций		-
Двойные мутации			-
Карагандинская область			
<i>rpoB</i>	531	Ser- Leu	6 изолятов – 100%
	Нет мутаций		-
<i>katG</i>	315	Ser-Thr	6 изолятов – 100%
	Нет мутаций		-
Двойные мутации			-

При изучении спектра мутаций среди изолятов, выделенных из четырех областей Казахстана мы наблюдаем, что в Алматинской области из 63 изолятов, устойчивы к рифампицину – 52 изолята, чувствительны – 11 изолятов. Наиболее часто встречающаяся мутация в 531 кодоне гена *rpoB* с аминокислотной заменой Ser-Leu (40 изолятов – 76%), так же мы заметили, что помимо данной мутации встречались мутации в других кодонах гена *rpoB* (512, 516, 526, 533), так же обуславливающие устойчивость к рифампицину. По Актыбинской области 64 изолята (9 новый случай и 55 рецидив), из них устойчивы к рифампицину – 60 изолятов, чувствительны – 4 изолята. Преобладающей мутацией является мутация в 531 кодоне гена *rpoB* с аминокислотной заменой Ser-Leu (52 изолятов – 87%), такого широкого диапазона мутации в гене *rpoB*, как в Алматинской области, в данной области обнаружено не было. В Алматинской области из 52 рифампицин-устойчивых изолятов в трех изолятах мутаций обнаружено не было, как и в четырех образцах из 60 изолятов в Актыбинской области, что может быть связано с лабораторной ошибкой или наличием мутации в другом гене.

При анализе образцов на устойчивость к изониазиду нами были обнаружены в Алматинской области 54 устойчивых и 9 чувствительных образцов, а в Актыбинской области 64 устойчивых и чувствительных к данному препарату обнаружено не было. Основная мутация преобладающая

двух областях была обнаружена в 315 кодоне гена *katG* замена серина на треонин в Алматинской области (45 изолятов – 83%) и в Актюбинской области (59 изолятов – 92%) соответственно. Так же в этих двух областях мы обнаружили наличие двойных мутаций в гене *katG* и промоторной области *fabG-inhA* оперона в Алматинской области у 7 изолятов (13%), в Актюбинской области у 5 изолятов (8%).

В остальных двух исследуемых нами областях, Северо – Казахстанской из 14 изолятов (3 новый случай и 11 рецидив) устойчивы к рифампицину – 10 изолятов, чувствительны – 4 изолята и в Карагандинской из 9 изолятов (0 новый случай и 9 рецидив) устойчивы к рифампицину – 6 изолятов, чувствительны – 3 изолята преобладающей мутацией являлась мутация в 531 кодоне гена *groV* с аминокислотной заменой Ser-Leu у всех рифампицин – устойчивых изолятов в данных областях.

Изониазид – устойчивых изолятов в Северо – Казахстанской области обнаружено 14, чувствительных нет. По Карагандинской области устойчивы к изониазиду – 6 изолятов, чувствительны – 3 изолята. Так же мутация преобладающая двух областях была обнаружена в 315 кодоне гена *katG* замена серина на треонин у всех изониазид – устойчивых изолятов в данной области. Хотелось бы отметить, что двойных мутаций у изолятов в данных областях обнаружено не было.

### **Выводы**

Нами изучена молекулярно-биологическая характеристика клинических изолятов *M. tuberculosis*, выделенных из четырех различных областей Казахстана.

Определены нуклеотидные последовательности генов-мишеней, определяющих лекарственную устойчивость к двум базовым препаратам - изониазиду и рифампицину. Анализ спектра мутаций показал доминирование мутации в 531 кодоне гена *groV* с аминокислотной заменой Ser-Leu (109 изолятов – 90%), обуславливающий устойчивость к рифампицину. В 315

кодоне (133 изолята - 98,5%) гена *katG* (обуславливающих устойчивость к изониазиду), так же нами была изучена промоторная область *fabG-inhA* оперона, где преобладающими мутациями обнаружены в позициях 15(С-Т) – 10 образцов, 8 (Т-С) – 2 образца среди 151 клинических изолятов *M.tuberculosis*, выделенных у больных, проживающих на территории данных областей Казахстана(Алматинская, Актюбинская, Северо–Казахстанская, Карагандинская. Были обнаружены двойные мутации в этих генетических локусах у 12 изолятов, обладающих устойчивостью к изониазиду. Так же нами исследована промоторная область *oxyR-ahpC* оперона в разных позициях, но мутаций обнаружено не было.

Молекулярно – генетический метод прямой детекции (секвенирование) определения резистентности к химиопрепаратам позволит в дальнейшем проводить не только статистические мониторинговые эпидемиологические исследования, но и получать достоверные результаты в клинически значимом масштабе времени. Так как предлагаемые современные технологии определения лекарственной устойчивости *M.tuberculosis* рекомендуются для использования в медико-биологических исследованиях.

#### **Список использованной литературы:**

1. Аксенова В.А., Леви Д.Т., Фомина Е.В. Вакцинопрофилактика туберкулеза: значение и проблемы // Проблемы туберкулеза и болезней легких.- 2009.- №1, С.10-16
2. World Health Organization. Global tuberculosis control-surveillance, planning, financing WHO report 2011 // [www.who.int/tb/challenges](http://www.who.int/tb/challenges).
3. Рахматулин О.А. Анализ заболеваемости туберкулезом в Республике Казахстан //Пробл. Туберкулеза//, 2009, № 4, с. 38 – 44
4. Сетаре М., Титов Л. П., Суркова Л. К. Распространенность мутаций в кодоне 315 *katG*-гена в клинических изолятах лекарственно-устойчивых *M.tuberculosis* и возможности применения метода ПЦР в экспресс-диагностике туберкулеза // Медицинский журнал.- 2009.- №1, С.81-86.

5. Ahmad S., Mokaddas E. Contribution of AGC to ACC and other mutations at codon 315 of the katG gene in isoniazid-resistant *M.tuberculosis* isolates from the Middle East // Int. J. Antimicrob. Agents.- 2010.- P. 1138-1152.
6. Мишин В.Ю., Чуканов В.И., Васильева И.А. «Эффективность лечения туберкулеза легких, вызванного микобактериями с множественной лекарственной устойчивостью» //Международный журнал «Туберкулез и легочные заболевания».-Том 2.-2011.-С.18-22;
7. Yoshida S., Suzuki K., Iwamoto T., Tsuyuguchi K., Tomita M., Okada M., Sakatani M. «Comparison of rifabutin susceptibility and rpoB mutations in multi-drug-resistant Mycobacterium tuberculosis strains by DNA sequencing and the line probe assay" // Infect Chemother .-2010.-P. 360-3.
8. Маничева О.А., Ласунская Е.Б., Журавлев В.Ю., Оттен Т.Ф., Мокроусов И.В., Вишневский Б.И., Нарвская О.В. Лекарственная чувствительность Mycobacterium tuberculosis в сопоставлении с их жизнеспособностью, цитотоксичностью, генотипом и течением процесса у больных туберкулезом органов дыхания // Пробл. Туберк. Болезн. Легк. - 2008. - №12. - С.18-22.
9. Баранов А.А., Марьяндышев А.О. Применение методов молекулярной биологии для исследования *M. tuberculosis* //Проблемы туберкулеза и болезней легких. – 2008. - №4. – С.3-7
- 10.Drobniewski F., Balabanova Y. Ruddy M. et al. Rifampin- and multidrug-resistant tuberculosis in Russian civilians and prison inmates: dominance of the Beijing strain family // Emerg. Infect. Dis.- 2002.- №8. -P.1320-1326.
- 11.Ahmad S., Mokaddas E. Contribution of AGC to ACC and other mutations at codon 315 of the katG gene in isoniazid-resistant *M.tuberculosis* isolates from the Middle East // Int. J. Antimicrob. Agents.- 2004.- P. 1138-1152.
- 12.Норкина О.В., Киншт В.Н., Мокроусов И.В., Курунов Ю.Н., Краснов В.А., Филиппенко М.Л. Генетическое разнообразие *M. tuberculosis* и оценка факторов риска распространения заболевания туберкулезом в

Сибирском регионе России методами молекулярной эпидемиологии // Мол. Генет. Микробиол. Вирусол. – 2003. - №3. – С. 9-18.

13.Оттен Т.Ф., Мокроусов И.В., Нарвская О.В., Вишневский Б.И. Возможности и перспективы микробиологической диагностики туберкулеза // Пробл. Туберк. Болезн. Легк. – 2004. - №5. – С. 32-35

## **Түйін**

Ғылыми мақалада Қазақстанның төрт облысында тараған (Алматы, Ақтөбе, Солтүстік Қазақстан, Қарағанды) 151 *M.tuberculosis* клиникалық изоляттарының туберкулезге қарсы қолданылатын негізгі препараттарға - изониазид пен рифампицинге дәрілік төзімділікті анықтайтын гендерінің нуклеотидтік тізбектерін анықтау бойынша мәліметтер көрсетілген. Жұмыста ДНҚ-секвенирлеу сияқты қазіргі заманға сай молекулалық генетикалық әдістер қолданылған.

## **Summary**

In this article presents results of DNA sequencing genes that lead to drug resistance to main anti-TB drugs - isoniazid and rifampicin. 151 clinical isolates of *M.tuberculosis* isolated from TB patients in four regions of Kazakhstan were analyzed by sequencing. We used modern genomic techniques of DNA sequencing method.

Ибраева Альбина Руслановна г.Астана проспект Абылай хана 2/5, 403 телефон: +77021071106, [albina\\_-92@mail.ru](mailto:albina_-92@mail.ru)