

Национальный центр проблем туберкулеза
Министерства здравоохранения Республики Казахстан

ФТИЗИОПУЛЬМОЛОГИЯ

Научно-практический журнал

Основан в 2002 году, выходит 2 раза в год

№ 1 (22) 2013

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

Главный редактор

Абилдаев Т.Ш.

Заместитель главного редактора – Бекембаева Г.С.

Члены редакционной коллегии:

Исмаилов Ш.Ш.

Ракишев Г.Б.

Редакционный совет:

Ахметов В.И. (Казахстан, Астана)

Аканов А.А. (Казахстан, Алматы)

Байгенжин А.К. (Казахстан, Астана)

Беркинбаев С.Ф. (Казахстан, Алматы)

Ерохин В.В. (Россия, Москва)

Кадыров А.С. (Киргизия, Бишкек)

Козлова И.Ю. (Казахстан, Астана)

Нургазиев К.Ш. (Казахстан, Алматы)

Семенова Р.И. (Казахстан, Алматы)

Тиллашаихов М.Н. (Узбекистан, Ташкент)

Шайдаров М.Э. (Казахстан, Астана)

Яблонский П.К. (Россия, Санкт-Петербург)

Журнал зарегистрирован Министерством культуры,
информации и общественного согласия РК
Регистрационный номер 2535-Ж от 13.12.2001 г.

Адрес редакции:

050010, г.Алматы, ул.Бекхожина 5.

РГКП «Национальный центр проблем туберкулеза» МЗ РК

Тел: (727) 291 03 16, факс: (727) 291 86 58

E-mail info@ncpt.kz, a.ismailova@ncpt.kz

Верстка и печать: ИП «Даниленко»

Учредитель: Национальный центр проблем туберкулеза РК

Тираж 500 экз.

ISSN 2227-1937

ОГЛАВЛЕНИЕ

ЭПИДЕМИОЛОГИЯ И ПРОТИВОТУБЕРКУЛЕЗНЫЕ МЕРОПРИЯТИЯ

Абилдаев Т.Ш., Бекембаева Г.С., Берикова Э. А., Мусабекова Г.А., Бесстрашнова Я.В., Белинская Г.Д., Баймуханова К.Х., Утепкалиева Г.Т. Приоритетные направления фтизиатрической службы Республики Казахстан и задачи на 2013 г.	4
Абилдаев Т.Ш., Бекембаева Г.С, Аманжолова Л.К., Баймуханова К.Х. Анализ эпидемиологической ситуации по ТБ/ВИЧ в Республике Казахстан	7
Бердалиев П.К. Организация диагностики и выявления туберкулеза и лекарственно-устойчивого туберкулеза у больных с ВИЧ-инфекцией	9
Копеева Ж.А., Мукажанова А.К., Ахметова Ф.Д., Мелымко Е.И., Байбосынова Г.М. Клинико-социальная характеристика туберкулеза у подростков по г. Жезказган Карагандинской области.	12
Кубышова А.К. Анализ случаев неблагоприятных исходов лечения больных туберкулезом населения г. Усть-Каменогорск за период 2010-2012 гг.	14
Кубышова А.К. Анализ смертности больных туберкулезом в г. Усть-Каменогорск за период 2010-2012 гг.	17
Маймаков Т.А. Эпидемиологическая ситуация по туберкулезу с множественной лекарственной устойчивостью в Южно-Казахстанской области	19
Мусабекова Г.А. Влияние результатов лабораторных исследований на прогноз случаев МЛУ ТБ в Республике Казахстан.	22
Смаилова Г.А., Берикова Э.А., Сагинтаева Г.Л., Бесстрашнова Я.В., Мясникова Г.А. Полирезистентность у больных туберкулезом легких, пролеченных препаратами резервного ряда	26
Токтогонова А.А. Распространенность МЛУ ТБ случаев в Кыргызской Республике.	29
Токтогонова А.А. Характеристика лекарственной резистентности возбудителя в Кыргызской Республике	32
Усербаева К.М. Эффективность химиотерапии туберкулеза органов дыхания на современном этапе.	35
Маретбаева Ш.М., Мусабекова Г.А., Жатканбаева Б.М. Совершенствование менеджмента противотуберкулезных препаратов в РК.	37

КЛИНИКА И ДИАГНОСТИКА

Абилдаев Т.Ш., Бекембаева Г.С., Кастыкпаева Л.В., Утепкалиева Г.Т. Результаты клинического исследования Диаскинтеста у детей и подростков в Республике Казахстан	39
Аленова А.Х., Абилдаев Т.Ш., Рахимова С.Б. Современные методы молекулярной биологии и генетическое разнообразие микобактерий туберкулеза.	43
Аленова А.Х., Бисмилда В.Л., Игликова Ш.К., Чингисова Л.Т., Ибраева А.Р. Частота мутаций и структура семейства <i>Mycobacterium tuberculosis</i> , циркулирующих в Казахстане	47

Современные методы молекулярной биологии и генетическое разнообразие микобактерий туберкулеза (Обзор)

Аленова А.Х.¹, Абилдаев Т.Ш.¹, Рахимова С.Б.²
Национальный центр проблем туберкулеза МЗРК, Алматы¹
ЦНЖ, Астана²

Ключевые слова: микобактерии туберкулеза, молекулярная биология, генетика, штаммы МБТ, метод MIRU-VNTR, VNTR типирование

Молекулярная биология считается относительно молодой наукой, так, всего лишь 50 лет назад были опубликованы данные о строении ДНК, а для исследования штаммов микобактерий туберкулеза молекулярно-генетические методы были применены на практике только в начале 90-х годов XX века [1,2]. В этот период были выявлены 9 штаммов микобактерий туберкулеза (МБТ) с идентичными RFLP (restriction fragment length polymorphism) паттернами, а именно, повторяющимися последовательностями IS986 в геноме МБТ. В последующем был предложен золотой стандарт IS6110, для изучения трансмиссии МБТ, обладающий наибольшей дискриминирующей способностью штаммов МБТ [3].

С помощью IS6110 RFLP было установлено, что активная передача, трансмиссия МБТ в условиях низкой распространенности микобактериальной инфекции происходит среди определенной группы населения: наркоманов, бездомных и некоторых групп иммигрантов. В условиях скученности населения, трансмиссия одного и того же штамма МБТ может длиться годами. Такая ситуация наблюдалась в США, Сан-Франциско, когда несколько случаев заболевания туберкулезом имели один и тот же источник [4]. Генетические исследования показали, что в условиях широкого распространения туберкулезной инфекции более чем в половине случаев (54%) пациенты заражались вне дома, в общественных местах: общественном транспорте, барах, дискотеках и т.д. [5, 6, 7].

Благодаря внедрению современных методов молекулярной биологии во фтизиатрию, установлен ряд интересных фактов по эволюции МБТ, в частности, то, что бактерия - прародитель рода *Mycobacterium* ранее была свободноживущей в окружающей среде бактерий, а микобактерии сапрофиты, которые живут в настоящее время в окружающей среде, являются консервативной ветвью ее эволюции. Другим важным открытием является то, что *M. bovis* является более молодым микроорганизмом по сравнению с *M. tuberculosis*, так как геном *M. bovis* меньше по размерам, чем геном *Mycobacterium tuberculosis* [8].

Важная роль в патогенезе туберкулеза отводится взаимодействию макро и микроорганизма. На базе ин-

ститута геномных исследований, штата Мэриленд, США изучены аспекты вирулентности МБТ и иммунитета «хозяина» у различных штаммов [9] на основе сравнительного секвенирования всего генома клинического штамма CD C1551 *Mycobacterium tuberculosis* и лабораторного штамма H 37Rv. Был установлен полиморфизм в ряде генов МБТ, в частности это касалось фофолипазы С, мембраны липопотеинов, аденилатциклазы, PE/PPE, некоторые из этих генов играют важную роль в вирулентности микобактерий и в иммунном ответе. Эти данные свидетельствуют о продолжающейся эволюции и селекции клинических штаммов МБТ, а также о том, что полиморфизм у штаммов *Mycobacterium tuberculosis* является более обширным, чем предполагалось ранее, а генетические изменения могут иметь важную роль в патогенезе туберкулеза и иммунном ответе.

Молекулярное генотипирование внесло важный вклад в дифференциацию рецидивов туберкулеза, так, при экзогенной реинфекции генотипические характеристики возбудителя туберкулеза при первом и при повторном заболевании будут различными, а при эндогенной экзacerbации - идентичными [10].

Результаты генотипирования подтвердили, что экзогенное инфицирование происходит значительно чаще, чем считалось ранее. Можно предположить, что именно данный механизм имеет место при заболеваниях у лиц, инфицированных туберкулезом в отдаленном прошлом и преодолевших инфекцию без видимых клинических проявлений.

У данной категории пациентов не удается определить штаммы микобактерий, явившихся причинами обоих эпизодов заболевания. Единственный способ оценить роль реинфекции у них состоит в генетической характеристике возбудителей, вызвавших несколько случаев туберкулеза в течение непродолжительного времени (так называемые «пучки инфекции»). Для этого необходимо наблюдение за когортой ранее уже инфицированного населения [11].

В контексте современного представления генотипически идентичные пучки заболеваний интерпретируются как результат недавней трансмиссии инфекции. В противоположность этому уникальные генотипы микобактерий туберкулеза характерны для эндогенной экзacerbации. В этой связи, считается общепризнанным, что эндогенную реактивацию вызывают микобактерии различных геноти-

пов, и представляется маловероятным, что один и тот же генетический штамм микобактерий способен вызвать эндогенную реактивацию сразу у нескольких больных. В то же время, важно отметить, что трансмиссия туберкулезной инфекции и последующее развитие процесса связаны не только с контактом внутри семьи.

В частности, методы молекулярной биологии позволили уточнить роль окружающей обстановки в процессе трансмиссии туберкулезной инфекции. Наиболее демонстративным было исследование структур ДНК МБТ при 538 парных случаях заболевания туберкулезом, преимущественно внутри семейных контактов. Генотипирование показало, что идентичная геномная структура имеет место у 70% пациентов, а различная у остальных 30%. Эти данные подтверждают, что трансмиссия туберкулезной инфекции и последующее развитие туберкулезного процесса связаны не только с контактом в домашних условиях [12].

Проведенные фундаментальные молекулярно-генетические исследования позволили установить неоднородность популяции штаммов *Mycobacterium tuberculosis*, циркулирующих в различных частях света [13]. Распространению - трансмиссии штаммов МБТ в окружающей среде - способствуют ряд причин, такие как миграция населения, запоздалая диагностика туберкулеза, отсутствие «культуры» кашля и, вероятно, определенные микробиологические характеристики микобактерий туберкулеза.

Наиболее изученным на сегодняшний день является генотип Beijing. Ряд исследователей из Института Пастера и США отмечают, что штаммы W-Beijing широко распространены по всей Азии и странах бывшего Советского Союза и они также были зарегистрированы в ряде других географических регионах, включая Северную Америку. По некоторым данным, эти штаммы более чем другие склонны к трансмиссии и последующему развитию активного туберкулеза. Штамм W стал причиной 500 случаев заболевания туберкулезом в Нью-Йорке [14].

В Российской Федерации и Казахстане генотип Beijing МБТ является также преобладающим, в том числе в системе исполнения наказаний [15, 16, 17].

Интерес представляют результаты, свидетельствующие о том, что при полиорганным и генерализованном туберкулезе возбудителями чаще являются полирезистентные культуры МБТ, а у 17 (65,4%) из 26 больных с множественными очагами поражения выделены штаммы семейства Beijing. То есть эти данные отражают доминирование генотипа W- Beijing. Культуры МБТ из различных очагов поражения при генерализованном туберкулезе у одного и того же больного имели идентичные сполитипы (за исключением одного случая). Наблюдение показало, что при персистенции в организме больного возбудитель туберкулеза может претерпевать незначительные изменения генома, касающиеся, как правило, профилей IS6110 [18].

Некоторые исследователи предполагают у штаммов МБТ, принадлежащих к генотипу Beijing наличие повышенной вирулентности и возможность обойти иммунологическую защиту, сформированную вакциной БЦЖ [19]. В то же время, хотя массивное распространение W-Beijing штаммов в различных популяциях хорошо документировано, ключевые причины патогенного его влияния на организм «хозяина» полностью до сих пор не изучены [14].

Ниже приводятся результаты генотипирования микобактерий туберкулеза, проведенные в последние годы в различных частях света.

В частности, в 14 провинциях Кубы проведено изучение генетического разнообразия *Mycobacterium tuberculosis* от больных туберкулезом.

Методом сполитипирования исследованы 312 изолятов *Mycobacterium tuberculosis*, собранные за период 2009-2010 годы, данные сопоставлены с международной базой SPOLDB4. Результаты показали, что доминирующими являются штаммы Beijing (28,4%); в меньшем проценте случаев встречались штаммы LAM (19,8%), Haarlem (18,0%) и S (14,4%). В отдаленных регионах доминировали штаммы Beijing и LAM, в столице Гаване в 30% изоляты относились к семейству S. Кроме того, было обнаружено большое количество (22,5%) новых «сполитипических» образцов [20].

В восточном Китае (Z. M. Liu, H. Lu,) проведено молекулярно-генетическое исследование 448 изолятов *Mycobacterium tuberculosis*, 393 из них принадлежали к семейству Beijing (87,72%). Методом мультиплексной ПЦР изучены делеции RD 105, методом MIRU из общего числа изолятов определен 431 генотип, включая 417 уникальных паттернов и 14 кластеров. Все штаммы принадлежали к семейству Beijing. Авторы считают, что метод MIRU-VNTR может быть использован как надежный для эпидемиологических исследований трансмиссии микобактерий туберкулеза, так является достаточно простым, быстрым и обладающий высокой дискриминирующей способностью [21].

Совместная работа гвинейских и немецких исследователей в Папуа Новой Гвинее позволила обнаружить у больных туберкулезом следующий спектр мутаций: устойчивые к рифампицину штаммы имели мутации в *groB* D516F, D516Y или S531L; изониазид устойчивые штаммы имели мутации в *katG* MUT1 S315T1. Был проведен кластерный молекулярный анализ для выявления трансмиссии штаммов. В то же время, в стране первичная лекарственная устойчивость к одному препарату составляет 15,7%, а мультирезистентность - 5,2%. Авторы это связывают с тем, что обычное тестирование лекарственной устойчивости МБТ к противотуберкулезным препаратам в этой стране пока недоступно [22].

Интересное генетическое разнообразие МБТ обнаружено при анализе 244 изолятов в Эфиопии. В популяции доминировали: Delhi/CAS (38,9%), Haarlem

(8,6%), Ural (3,3%), Lam (3,3%), TUR (2,0%), Xtype (1,2%), Stype(0,8%), W-Beijing (0,4%), Uganda (0,4%). Данных о результатах устойчивости не приводится. Таким образом, установлено, что на северо-западе Эфиопии имеет место доминирование штаммов Dehli|CAS, что чрезвычайно важно для инфекционного контроля, выяснения путей распространения МБТ [23].

Одним из классических подходов молекулярно-генетического исследования является фингерпринтинг, основанный на изучении IS6110 инсерционного элемента. Доказано, что существуют штаммы *Mycobacterium tuberculosis*, имеющие очень мало (5-10%) IS6110 либо он совсем отсутствует. [24]. Исследование проводилось несколькими методами: сполиготипированием, IS6110 ДНК фингерпринтингом и VNTR анализом. Наличие либо отсутствие инсерционного элемента подтверждалось ПЦР диагностикой. Оно показало, что среди 2664 больных туберкулезом пациентов сельской местности Вьетнама у 109 (4,1%) вообще не было инсерционного элемента IS6110 и у 983 (36,9%) лиц имело место очень малое его количество. Первый вариант ситуации чаще наблюдался у больных туберкулезом старше 65 лет и с сохраненной чувствительностью к стрептомицину, второй вариант достоверно чаще выявлялся у больных туберкулезом мужского пола, старше 35 лет и с сохраненной чувствительностью к стрептомицину. Необходимо отметить, что в данном исследовании больные, выделявшие штаммы W-Beijing, были исключены из исследования.

Исследователи из Санкт-Петербурга [25] предложили минимальную схему для скринингового анализа штаммов МБТ генотипа W-Beijing. Сочетанное применение методов VNTR и IS6110-RFLP позволило провести высококоразрешающее типирование этих штаммов. В результате анализа генетически гетерогенной коллекции штаммов показано, что группа близкородственных штаммов Beijing (кластер BO/W148) представляет «успешный» клон МБТ, широко и недавно распространившийся в России.

Согласно результатам VNTR типирования по 6 локусам (MIRU 10, MIRU26, MIRU31, MIRU39, MIRU40, ETR-A) среди изолятов семейства Beijing преобладали такие кластеры, как 355335, 355344, 355345, 356335, 356344, 375334, 375344, 385345, 385334. Среди изолятов группы non-Beijing наиболее распространенным был кластер 452242. Все изоляты семейства Beijing (кластеры 355335, 375334, 385334) и группы non-Beijing (кластеры 562242, 712234) отличались высоким уровнем мультирезистентности. Комбинированное определение всех шести локусов для генотипирования как среди изолятов группы Beijing так и среди образцов non-Beijing было высокоэффективным [26].

Известно, что в настоящее время в тюрьмах имеет место высокий уровень МЛУ ТБ и в этом контексте представляют интерес данные RFLP и сполиготипирования, полученные в России на 114 штаммах МБТ [17]. Согласно этим результатам генотипирования, 87 (76,3%)

штаммов принадлежали к W-Beijing семье. Почти все (96,6%) W-Beijing изоляты были частью кластера, тогда как другие изоляты отнесены к кластеру только в 25,9% случаев ($P < 0.01$). В крупнейший кластер вошли 43 пациента. Множественная лекарственная устойчивость была высока среди новых (34,0%) и ранее получавших лечение (55,0%) случаях. Лекарственная устойчивость к этамбутолу и стрептомицину была в значительной степени связана с инфицированием больных W-Beijing изолятами [24].

Наряду с классическими генетическими исследованиями во всех странах, включая Казахстан, активно внедряются экспресс методы диагностики МЛУ ТБ, такие как MTBDR Plus (Hain LifeScience, GmbH, Германия). В работе Doris Hillemann и соавт. (2005) [27] при исследовании методом MTBDR Plus 103 штаммов от больных с МЛУ ТБ в 102 случаях установлены мутации на H и R. Наиболее частые мутации наблюдались в гене groV (99%) и в гене katG (88,4). Сопоставимость между MTBDR Plus и секвенированием составила 100%. Чувствительность и специфичность соответственно 99% и 100% к рифампицину и 88,4% и 100% к изониазиду.

Высокую чувствительность и специфичность этого метода подтверждают также другие исследователи [28]. В то же время, они отмечают наблюдавшийся ими феномен гетерорезистентности при постановке метода MTBDR Plus, так как наблюдали двойные полосы в 25,8% случаев, что можно объяснить одновременным присутствием различных типов: устойчивых и чувствительных микобактерий в клинических образцах. Феномен гетерорезистентности усложняет интерпретацию результатов и может быть причиной расхождения между данными фенотипических и молекулярно-генетических методов. На практике наблюдаются двойные полосы (положительная гибридизация с пробами дикого и мутантного типов) в тест системе MTBDR Plus. Гетерорезистентность встречается чаще в регионах с высокой заболеваемостью туберкулезом, а также в образцах пациентов, получавших лечение в прошлом.

Аналогичную ситуацию при анализе результатов, полученных методом Хайн-MTBDR Plus отмечали И.Елисеев, Е.И.Никишова, Г.П.Горина и соавт. (2012г.). При интерпретации результатов они наблюдали в 5 случаях присутствие как «диких проб», свидетельствующих о чувствительности МБТ к препарату, так и мутантных проб, доказывающих устойчивость к препарату. То есть имела место гетерорезистентность, результат оценили как устойчивость к препарату, так как это было подтверждено в последствии фенотипическими методами [29].

Казахстанские исследователи [30] по данным генотипирования ДНК МБТ от больных с МЛУ ТБ методом MTBDR Plus установили, что наиболее частые мутации наблюдались в гене groV MUT3 S531L независимо от региона, но все же чаще они имели место (в порядке убывания) у больных Карагандинской области (99,1%), Ал-

матинской (96,3%), Акмолинской (95,1%), Актюбинской (94,4%) и Северо-Казахстанской (93,5%). Что касается резистентности к изониазиду, то результаты генотипирования методом MTBDR Plus 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 данной выборке определены в 531 кодоне в 81,25 % случаев, 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.

Учитывая то, что эволюция микобактерий не стоит на месте, продолжается поиск новых биомаркеров для экспресс-диагностики туберкулеза. Группой исследователей из ЮАР установлено, что mtr gene присутствует в 100% случаев в 32 изученных клинических изолятах *Mycobacterium tuberculosis*, которые включали 13 штаммов F15/LAM4/KZN семейства, 3 из семейства Beijing и 14 из других семейств. В то же время, нетуберкулезные микобактерии и бактерии респираторного тракта не имели этого гена. Рассматривается возможность использования этого гена как приемлемого маркера для диагностики туберкулеза [31].

Заключение

Таким образом, анализ исследовательских работ по генетике МБТ свидетельствует, во-первых, о постоянной изменчивости и эволюции штаммов *Mycobacterium tuberculosis* и, во-вторых, о большом разнообразии семейств микобактерий и методов идентификации мутаций ДНК МБТ.

На основе генетических маркеров штаммы МБТ со сходными генетическими паттернами были классифицированы в ряд семейств: Beijing, Latin American Mediterranean, Family, the Central asian clade, Haarlem, East African Indian clade и т.д.

Применение новых методов молекулярной биологии для исследования МБТ предоставляет широкие возможности для их прикладного использования во фтизиатрической практике: экспресс-диагностике различных типов резистентности, дифференциации генеза заболевания, эпидемиологического надзора и т.д.

Литература

1. Watson J.D., Crick F.N. // *Nature*. -1953.-Vol.248, № 5451.-P.765.
2. Hermans P.W., Van Soolingen D., Dale J.W. et al. // *J. Clin. Microbiology* -1990. -Vol.9, № 2051.-P.2051-2058.

3. Van Soolingen D // *J. Intern. Med.* -2001. -Vol.249, № 1.-P.1-26.
4. Small P.M., Hopewell P.C., Singh S.P. et al. // *N. Engl. Med.* - 1994. -Vol.330 № 24. -P.1703-1709.
5. Sebek M. // *Intern. J. Tuberc. Lung. Dis.* -2000. -Vol. 4.- № 2.- Suppl. 1.-P. S.45- 48.
6. Lambergts-van Weezenbeek C.S., Sebek M. et al. // *Intern. J. Tuberc. Lung. Dis.* -2003. -Vol. 7, № 12.- Suppl. 3.-P. S463- S470.
7. Verver T.C., Warren R.M., Munch Z. et al. // *Lancet*. -2004.-Vol.363.- № 9404.-P.212-214.
8. Brosch R., Gordon S.V., Marmiesse M.P. et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* -2002. -Vol. 99, № 6.- P. 3684- 3689.
9. Fleischmann R.D., Alland D., Eisen J.A. et al. // *J. Bacteriol.* -2002.-Vol.184.-P.5479-549
10. Suply P., Mazars E. et al. // *Microbiol.* -2000. -Vol.36. -P.762-771.
11. Карачунский М.А, Черноусова Л.Н. // *Пробл. туб. и болезней легких* .- 2007.-№4.-С.3- 7.
12. Beggs M., Eisenach K.D., Cave M.D. // *J. Clin. Microbiology.* - 2000. -Vol.38. -P.2923-2928.
13. Brudey K., Driscoll., Rigouts L. et al. // *BMS Microbiol.* -2006. -Vol.6.-P.23-40.
14. Bifani P.J, Mathema B, Kurepina N.E et al. // *Trend Microbiol.* -2002.-Vol.10.-P.45-50.
15. Баранов А.А. и др. // *Экол. человека* .- 2007.-№8.- С.9-12.
16. Ахметова А.Ж., Ибраева А.Р., Кожамкулов У.А. и др. // *VIII Междунар. Науч.-практич. конф. Экология, радиация, здоровье.- Семей, август 28-29 2012.- С.- 214.*
17. Toungousova O.S., Mariandyshev A., Bjune G. // *Clin. Infect. Dis.* -2003 Sep 1;37(5):665-72.
18. Оттен Т.Ф., Нарвская О.В., Олейник В.В. и др. // *Пробл. туб. и болезней легких* .- 2003.-№10.- С.44-47.
19. Abebe F., Bjune G. // *Clin. Exp. Immunol.* -2006. -Vol.145. .-№3. -P.389- 39.
20. Herrera Y. Avila, R. Diaz // *43RD World Conference on Lung Health, 13-17 November 2012, Malasia.*
21. M. Liu, H. Lu, X. Wang, X. Dong et al. // *43RD World Conference on Lung Health, 13-17 November 2012, Malasia.*
22. M. Ballif, P. Harino, S. Nieman et al. // *BMS Microbiology. Drug resistance – conferring mutation in Mycobacterium tuberculosis from Madang, Papua New Guinea*
23. B. Tessema, J. Beer, M. Merker et al. PC-231-17 // *43RD World Conference on Lung Health, 13-17 November 2012, Malasia*
24. H. Mai, E. Tiemersma, K. Kremer et al. // *43RD World Conference on Lung Health, 13-17 November 2012, Malasia*

25. Мокроусов. И.В., Вязовская А.А., Старкова Д.А. и др. //Пробл. туб. и болезней легких .- 2012.-№7.- С.46-53.
26. Антоненко П.В.и др. // Пробл. туб. и болезней легких .- 2011.-№12.-С.47-52.
27. D. Hillemann et and. // J. of clinical Microbiology, Aug. 2005, Vol. 43, №. 8.-Р. 3699–3703.
28. Николаевский В.В., Балабанова Я.М., Миронова С.А. и др. //Пробл. туб. и болезней легких .- 2007.- №4.-С.3-7.
29. Елисеев П.И., Никишова Е.И., Горина Г.П. и др. // Пробл. туб. и болезней легких .- 2012.-№6.-С.31- 34.
30. Аленова А.Х , Бисмилда В.Л., Ибраева А.Р. и др. // Материалы Всерос. съезда фтизиатров.- СПб, 2012.-С.5.
31. N.Pillay, N.Chotun,N Mhlongo et and. //43rd World Conference on Lung Health,13-17 November 2012, Malasia

Тұжырым

Мақалада соңғы жылдары әлемнің әртүрлі елдерінде өткізілген *Mycobacterium tuberculosis* молекулярлық-генетикалық зерттеу нәтижелерінің талдауы келтірілген. Ұсынылған шолу молекулярлық генетика мен эпидемиология саласындағы жетекші ғалымдардың 30-ға жуық баспасының толық талдауында негізделген. Туберкулез микобактериясы

тұқымдасының жиынтығы баяндалған, тағы да классикалық және теңестірілген маркерлер мен мутациялардың көмегімен әртүрлі әдістер құрылған, олардың жетістіктері мен жеткіліксіз жағдайлары келтірілген.

Резюме

В статье приведен анализ результатов молекулярно-генетического исследования *Mycobacterium tuberculosis*, проведенных в различных странах мира за последние годы. Представленный обзор основан на детальном анализе более 30 публикаций ведущих ученых в области молекулярной генетики и эпидемиологии. Описан спектр семейств микобактерий туберкулеза, классические и вновь созданные различные методы, с помощью которых были идентифицированы маркеры и мутации, приводятся их достоинства и недостатки.

Summary

In this paper analysis of the results of molecular genetic investigation of *M. tuberculosis* conducted in the different countries of the World for the last is given The review presented was based on the detailed analysis of 30 publications of leading scientists in the field of genetics and epidemiology. The specter of species of tuberculosis mycobacteria and different methods, classic and newly elaborated, for identification of markers and mutations are described, their advantages and weaknesses are indicated.

УДК: 579.873.21:575.224.2(574)

Частота мутаций и структура семейства *Mycobacterium tuberculosis*, циркулирующих в Казахстане

Аленова А.Х.¹, Бисмилда В.Л.¹, Игликова Ш.К.¹, Чингисова Л.Т.¹, Ибраева А.Р.²
НЦПТ МЗ РК¹, НЦБ МОН²

Ключевые слова: микобактерии туберкулеза, *MTBDR plus*, *Hain-тест*, *BACTEC MGIT 960*, *VNTR* анализ

На сегодняшний день во всем мире, включая Казахстан, наблюдается рост числа мультирезистентных штаммов, обуславливающих резистентность к основным противотуберкулезным препаратам. Но в разных географических регионах распространены резистентные штаммы микобактерий, несущие разные мутации. Так на Кубе, Китае доминировали штаммы W-Beijing, соответственно в 28,4 и 87,7% случаев, а в Эфиопии преобладал штамм: Dehli/CAS(38,9%) [1, 2, 3]. Поэтому необходимо исследование природы резистентности местных штаммов микобактерий.

Цель исследования: изучение частоты мутаций в генах *groB*, *katG* и *inhA*, а также структуры семейств *M. tuberculosis*, выделенных от больных с впервые выявленными и хроническими лекарственно-устойчивыми формами туберкулеза легких в гражданском секторе здравоохранения.

На базе бактериологической референс-лаборатории НЦПТ были проведены исследования по определению

лекарственной чувствительности МБТ к ПТП первого ряда методом *MTBDR plus* и изучена частота мутаций в генах *groB*, *katG* и *inhA* ДНК микобактерий туберкулеза у 42 впервые выявленных и 38 больных с лекарственно-устойчивыми формами туберкулеза легких в гражданском секторе здравоохранения. Постановка метода *MTBDR plus* (*Hain-теста*) проводилось в соответствии с методическими рекомендациями [4]. Амплификация проводилась по 15 *VNTR* локусам *M. tuberculosis* в Национальном центре биотехнологий, Астана. В качестве положительного контроля использовался референтный штамм H37 Rv.

Из 42 больных, находящихся на стационарном лечении в отделении впервые выявленного туберкулеза НЦПТ МЗ РК, мужчин было 25 (59,5%), женщин – 17 (40,5%). Из обследованных больных преобладали больные 30-40 лет и 20-30 лет (17 (40,5%) и 15 (35,7%) больных соответственно), больных до 50 лет и до 60 лет было – 6 (14,3%) и 4 (9,5%) соответственно.

У больных с впервые выявленным туберкулезом встречались такие клинические формы, как: инфильтративный туберкулез у 34 (80,9%) больных; фиброзно-ка-