

ГЕНОТИПИРОВАНИЕ ИЗОЛЯТОВ *M. TUBERCULOSIS* С ШИРОКОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТЬЮ, ЦИРКУЛИРУЮЩИХ В ЮЖНЫХ РЕГИОНАХ КАЗАХСТАНА

П. В. ТАРЛЫКОВ¹, Д. Р. РАЙЫМБЕК¹, А. Х. АЛЕНОВА², Т. Ш. АБИЛДАЕВ², Е. М. РАМАНКУЛОВ¹

GENO-TYPING OF *M. TUBERCULOSIS* ISOLATES WITH MULTIPLE DRUG RESISTANCE CIRCULATING IN THE SOUTHERN REGIONS OF KAZAKHSTAN

P. V. TARLYKOV¹, D. R. RAIYMBEK¹, A. KH. ALENOMA², T. SH. ABILDAEV², E. M. RAMANKULOV¹

¹Национальный центр биотехнологии КН МОН РК, г. Астана, Казахстан

²Национальный центр проблем туберкулеза МЗ РК, г. Астана, Казахстан

¹Biotechnology National Center, Astana, Kazakhstan

²National Tuberculosis Control Center, Astana, Kazakhstan

Казахстан занимает одно из ведущих мест в мире по заболеваемости туберкулезом с лекарственной устойчивостью возбудителя. Цель – охарактеризовать изоляты *M. tuberculosis*, циркулирующие на юге Казахстана, на основе MIRU-VNTR-профиля и спектра мутаций генов, ответственных за появление лекарственной устойчивости к препаратам первого и второго рядов. Отобрано 58 клинических изолятов *M. tuberculosis* с широкой лекарственной устойчивостью. Генетический анализ проводили с помощью секвенирования генов *rpoB*, *katG*, *embB* и *inhA-fabG* оперона, а также генов *gyrA*, *gyrB* и *rrs*. Обнаружена ранее не описанная в научной литературе замена аспарагиновой кислоты цистеином в 94-м кодоне гена *gyrA*. Наблюдалось доминирование мутаций в 315-м кодоне гена *katG* ($n = 53; 91,4\%$), в 531-м кодоне гена *rpoB* ($n = 45; 77,6\%$), в положении 1 401 A/G гена *rrs* ($n = 33; 56,9\%$) и в 94-м кодоне гена *gyrA*. MIRU-VNTR-типирование показало, что большинство изолятов относится к семейству *W-Beijing* ($n = 53; 94,4\%$). Для семейства *W-Beijing* характерно появление устойчивости, что может объяснить рост показателей заболеваемости туберкулезом с лекарственной устойчивостью возбудителя в республике.

Ключевые слова: туберкулез, диагностика, лекарственная чувствительность, лекарственная устойчивость возбудителя.

Kazakhstan has one of the highest incidence of multiple drug resistant tuberculosis in the world. The goal is to describe isolated of *M. tuberculosis* circulating in the Southern regions of Kazakhstan basing on MIRU-VNTR-profile and spectrum of gene mutations responsible for resistance to the first and second line drugs. 58 clinical isolates of *M. tuberculosis* with extensive drug resistance were collected. Genetic analysis was conducted by sequencing of genes of *rpoB*, *katG*, *embB* and *inhA-fabG* of operon and genes of *gyrA*, *gyrB* and *rrs*. The replacement of asparagine acid with cysteine in the 94th codon of *gyrA* gene was found out, which has not been described in literature before. Mutations dominated in the 315th codon of *katG* ($n = 53; 91,4\%$), in the 531th codon of *rpoB* ($n = 45; 77,6\%$), in position 1 401 of A/G gene *rrs* ($n = 33; 56,9\%$) and in the 94th codon of *gyrA*. MIRU-VNTR typing showed that the majority of isolates belonged to *W-Beijing* family ($n = 53, 94,4\%$). *W-Beijing* family often manifests resistance which can explain the increase of drug resistant tuberculosis incidence in the Republic.

Key words: tuberculosis, diagnostics, drug sensitivity, drug resistance of mycobacteria.

По состоянию на 2014 г. эпидемическая ситуация по туберкулезу в Республике Казахстан оставалась напряженной. Одной из основных причин является увеличение случаев туберкулеза с множественной и широкой лекарственной устойчивостью возбудителя (МЛУ и ШЛУ МБТ). Согласно статистическим данным, заболеваемость туберкулезом с МЛУ МБТ увеличилась с 1,7 до 12,1 случая на 100 тыс. человек с 2003 по 2013 г. [5]. Необходимо отметить, что лечение данных форм туберкулеза является длительной и дорогостоящей процедурой.

Рост МЛУ МБТ в Казахстане обусловлен целым рядом объективных причин. Среди них необходимо отметить бедность, безработицу, высокий процент людей, страдающих алкогольной и наркотической зависимостью, а также проблемы, связанные с питанием и окружающей средой, сложной ситуацией в исправительных учреждениях, значительным «резервуаром» туберкулезной инфек-

ции, в том числе лекарственной устойчивостью к основным противотуберкулезным препаратам [1, 2, 4, 10]. Помимо этого, в 1990-х годах имело место назначение неадекватных схем лечения, связанное с перерывами в поставках препаратов, отсутствием полного перечня необходимых противотуберкулезных препаратов, единого стандарта лечения, а также низкий социально-экономический статус больного. Все это благоприятствовало значительному увеличению «резервуара» больных туберкулезом с МЛУ возбудителя и последовательно ухудшало эпидемическую ситуацию в республике. Немаловажным являются и организационные недочеты в обеспечении принципа контролируемого лечения со стороны медицинских работников, одного из основополагающих элементов стратегии Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ). Доказано, что строгое соблюдение принципов стратегии ВОЗ позволяет предотвратить

развитие лекарственной устойчивости у больных с установленной чувствительностью к основным противотуберкулезным препаратам перед началом лечения [10].

Уровень первичной МЛУ в 2012 г. составил 20,8%, а приобретенной – 53,6%, в 2013 г. – 25,2 и 48,6% соответственно. Ситуация с ранней диагностикой туберкулеза в связи с внедрением новых инновационных лабораторных методов диагностики туберкулеза и МЛУ МБТ в стране начинает постепенно улучшаться.

Важно отметить, что МЛУ МБТ повышает риск сохранения бактериовыделения более чем в 7 раз, деструктивных изменений в легочной ткани – в 3,7 раза и риск увеличения летальности – в 3,9 раза по сравнению с больными без МЛУ возбудителя [3]. По данным Национального центра проблем туберкулеза МЗ РК (НЦПТ), наибольшую долю умерших за 2013 г. составили больные туберкулезом с лекарственной устойчивостью МБТ. Накопление в популяции неэффективно леченных больных с МЛУ возбудителя среди населения способствует общему ухудшению эпидемической ситуации по туберкулезу.

Постоянно растущая заболеваемость туберкулезом с МЛУ и ШЛУ возбудителя усиливает необходимость внедрения новых эффективных методов диагностики этого заболевания.

Цель исследования – изучение изолятов *M. tuberculosis* с ШЛУ, циркулирующих в городах Алматы, Тараз, Талдыкурган, Талгар и Шымкент, для выявления филогенетической вариабельности на основе MIRU-VNTR-типовирования и определения спектра мутаций генов, ответственных за появление лекарственной устойчивости к препаратам первого и второго рядов.

Материалы и методы

Исследованы клинические изоляты с ШЛУ МБТ, выделенные референс-лабораторией НЦПТ (г. Алматы) из образцов мокроты больных туберкулезом легких. Всего было собрано 58 изолятов, причем выборка была представлена 27 образцами из г. Алматы, 20 – из г. Талгар, 8 – из г. Талдыкурган и 3 – из г. Тараз. Выделение ДНК *M. tuberculosis* осуществляли на базе референс-лаборатории НЦПТ согласно руководству по MIRU-VNTR-типовированию [13]. Экспресс-диагностику лекарственной устойчивости (МЛУ и ШЛУ) проводили с помощью методов: MTBDR Plus, MTBDR sl (Hain LifeScience) и Вастес MGIT 960 с обязательным параллельным определением лекарственной устойчивости *M. tuberculosis* к противотуберкулезным препаратам методом пропорций к четырем антибактериальным препаратам первого ряда (изониазид, рифампицин, стрептомицин и этамбутол) и пяти препаратам второго ряда (капреомицин, этионамид, циклосерин, офлоксацин, канамицин или амикацин). Далее выполняли генетический анализ образцов, включающий секвенирование с целью обнаружения мутаций в генах, ответственных за появление лекарственной устойчивости к препаратам первого и второго рядов, и MIRU-VNTR-анализ.

Секвенирование

Амплификацию фрагментов генов клинических изолятов *M. tuberculosis*, несущих в своем составе детерминанты генетической устойчивости к препаратам первого и второго рядов, проводили в реакционной смеси, содержащей 10x дНТФ, 10x буфер, 2,5 mM MgCl₂, 1 ед. Таq-полимеразы и 10 пмоль каждого праймера в объеме 0,5 мкл (табл. 1). Использовали универсальный профиль амплифи-

Таблица 1

Праймеры для амплификации фрагментов генов *M. tuberculosis*

Генетический локус	Название праймера	Последовательность (5' → 3')	Ожидаемый размер ПЦР-продукта (п.о.)
<i>iproB</i>	MtproBf MtproBr	gaggcgatcacacccgcagac ggtagccgttcgtatgaac	321
<i>katG</i>	MtkatGf MtkatGr	accggaggctgcctcgctgg cagctcccactcgtagccgt	168
<i>fabG-inhA</i>	MtfabGf MtfabGr	gcctcgctgcccagaaagg ctccggatccacgggtgggt	320
<i>embB</i>	MtEB406F MtEB406R	ccatggcttgctgacc cacacccagtgtaatgc	170
<i>gyrA</i>	gytAF gytAR	cagctacatcgactatgcga gggcttcggtgtacacctcat	852
<i>gyrB</i>	gytBF gytBR	ccaccggacatcggtggatt ctggccacltgagtttgtaca	429
<i>rps</i>	rpsF rpsR	caggtaagggttctcgcggt gttcggatcggggctgcata	305

кации, адаптированный для максимального выхода ПЦР-продукта на всех исследуемых локусах: 94°C – 5 мин; 30 циклов: 94°C – 30 с, 63°C – 30 с, 72°C – 30 с, 72°C – 10 мин и 4°C – хранение. Дефосфорилирование и очистку продуктов ПЦР проводили с помощью щелочной фосфатазы и экзонуклеазы I.

Анализ нуклеотидных последовательностей фрагментов генов

Определение нуклеотидных последовательностей фрагментов генов, принимающих участие в формировании устойчивости, проводили с использованием BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit и прибора ABI 3730 Genetic Analyzer (Applied Biosystems) в соответствии с инструкцией производителя. В реакции секвенирования использовали те же праймеры, что и в реакции амплификации. Выравнивание и сравнительный анализ полученных последовательностей генов *rpoB*, *katG*, промоторной области *fabG-inhA*, *embB*, *gyrA*, *gyrB* и *rps* проводили с помощью референтной последовательности штамма *M. tuberculosis* H37Rv (NC_000962) с использованием программы SeqScape 2.1 (Applied Biosystems).

MIRU-VNTR-генотипирование

Анализ числа тандемных повторов клинических изолятов *M. tuberculosis* проводили на двадцати четырех MIRU-VNTR-локусах. Для синтеза праймеров использовали известные последовательности MIRU-VNTR-локусов из базы данных [14]. Продукты амплификации анализировали с помощью метода электрофореза в 2% агарозном геле в 1 × TAE-буфере с последующей окраской бромистым этидием. Число тандемных повторов в соответствующем локусе вычисляли исходя из размера ПЦР-продукта, определяемого путем сравнения размера полученного фрагмента с маркером молекулярного веса ДНК – GeneRuler 100 bp DNA Ladder (Fermentas), с использованием программного пакета Quantity One v4.4.0 (BioRad). Таким

образом, для каждого изолята был получен цифровой код, в котором каждая цифра соответствовала числу тандемных повторов в том или ином локусе.

Построение филогенетического дерева осуществляли методом попарного невзвешенного кластирования с арифметическим усреднением (Unweighted pair-group method using arithmetic averages, UPGMA) при помощи web-ресурса [14].

Результаты исследования

Оценку спектра мутаций 58 изолятов *M. tuberculosis*, ассоциированных с устойчивостью к противотуберкулезным препаратам первого ряда (рифамицину, изониазиду и этамбутолу), проводили по наиболее информативным генам *rpoB*, *katG*, ответственным за появление лекарственной устойчивости, промоторной области гена *fabG-inhA* и гену *embB*. По результатам ДНК-секвенирования гена *katG* в большинстве образцов обнаружена мутация в 315-м кодоне ($n = 53$; 91,4%), приводящая к замене серина треонином (AGC → ACC) [6, 11]. Помимо этого, в промоторной области *fabG-inhA* найдена мутация -15 С/T в двух образцах ($n = 2$; 3,5%). Секвенирование *rpoB* гена позволило обнаружить мутацию в 531-м кодоне с заменой серина лейцином ($n = 45$; 77,6%). Следует отметить, что секвенирование *rpoB* гена показало сочетание нескольких штаммов в двух исследуемых образцах (рис. 1). Анализ нуклеотидной последовательности гена *embB* выявил наличие мутации в 406-м кодоне гена *embB* с заменой Gly → Asp ($n = 6$; 10,3%). Обнаруженные мутации, а также частота их встречаемости в изученной выборке представлены в табл. 2.

Дальнейший анализ спектра мутаций *M. tuberculosis*, ассоциированных с устойчивостью к противотуберкулезным препаратам второго ряда (офлоксацин, капреомицин, канамицин или амикацин),

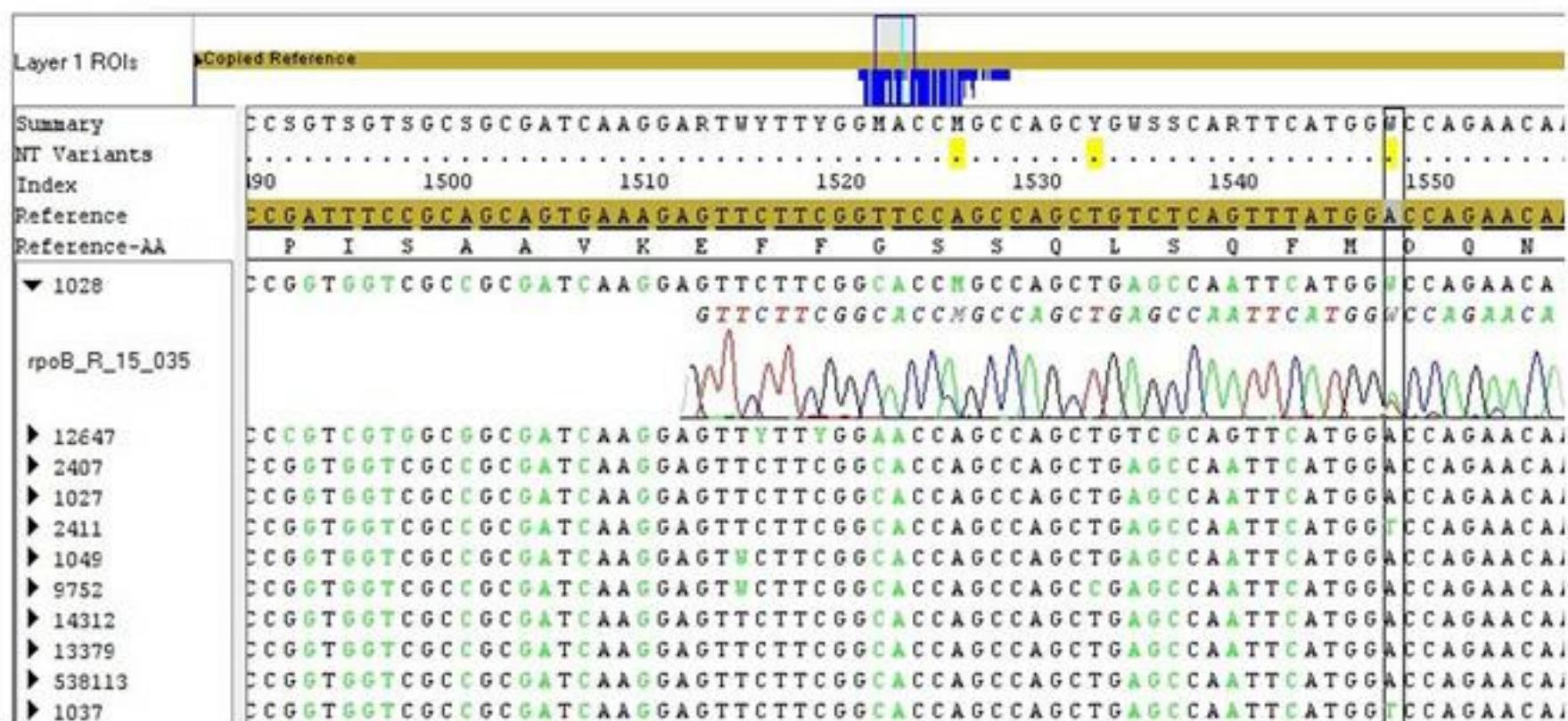


Рис. 1. Хроматограмма нуклеотидной последовательности гена *rpoB* в образце 1028

Таблица 2

Мутации в генах МБТ с широкой лекарственной устойчивостью

Гены	Кодон	Нуклеотидные замены	Аминокислотные замены	Количество изолятов с мутациями (%), (n = 58)
Мутации, обуславливающие лекарственную устойчивость к препаратам первого ряда				
<i>katG</i>	315	AGC/ACC	Ser→Thr	53 (91,4)
<i>fabG-inhA</i>	-15 C/T	-15 C/T	-	2 (3,5)
<i>rpoB</i>	531	TCG/TTG	Ser→Leu	45 (77,6)
<i>embB</i>	406	GGC/GAC	Gly→Asp	6 (10,3)
Мутации, обуславливающие лекарственную устойчивость к препаратам второго ряда				
<i>gyrA</i>	90	GCG→GTG	Ala→Val	5 (8,6)
	91	TCG→CCG	Ser→Pro	5 (8,6)
	94	GAC→AAC	Asp→Asn	6 (10,3)
	94	GAC→GCC	Asp→Ala	10 (17,2)
	94	GAC→TAC	Asp→Tyr	5 (8,6)
	94	GAC/TGC	Asp→Cys	2 (3,5)
	94	GAC/GGC	Asp→Gly	16 (27,6)
<i>gyrB</i>	500	GAC/AAC	Asp/Asn	1 (1,7)
<i>rrs</i>	1401 A/G	1401 A/G	-	33 (56,9)

проводили по ответственным за появление лекарственной устойчивости генам *gyrA*, *gyrB* и *rrs*. По результатам ДНК-секвенирования фрагмента гена *gyrA* в 57 из 58 изолятов обнаружен полиморфизм в 95-м кодоне, приводящий к замене Ser→Thr (n = 57; 98,3%). Необходимо подчеркнуть, что данный полиморфизм не является клинически значимым. Помимо этого, в 94-м кодоне обнаружены мутации с подтвержденной клинической значимостью [12]. В частности, это мутация GAC/GGC, приводящая к замене аспарагиновой кислоты глицином (n = 16; 27,6%), мутация GAC/GCC (Asp→Ala; n = 10; 17,2%), мутация GAC/AAC (Asp→Asn; n = 6; 10,3%) и др. Впервые в двух образцах выявлена ранее не описанная в научной литературе аминокислотная замена аспарагиновой кислоты цистеином Asp→Cys в кодоне 94 (n = 2; 3,5%). Хроматограмма данной замены приведена на рис. 2. В гене *gyrB*, также обуславливающем устойчивость к фторхинолонам, обнаружена мутация в кодоне 500 одного образца (n = 1; 1,7%). Секвенирование фрагментов гена *rrs* показало наличие мутаций в положении 1401 A/G (n = 33; 56,9%).

Следует отметить, что результаты секвенирования генов, ассоциированных с устойчивостью к противотуберкулезным препаратам второго ряда, указали на наличие полиштаммовых инфекций в двух случаях. В одном из образцов обнаружено два устойчивых изолята в отношении фторхинолов, что следует из сиквенса фрагмента гена *gyrA*. В случае второго образца выявлено наличие как чувствительного, так и устойчивого изолята в отношении аминогликозидных антибиотиков, что следует из сиквенса фрагмента гена *rrs*. В положении 1401

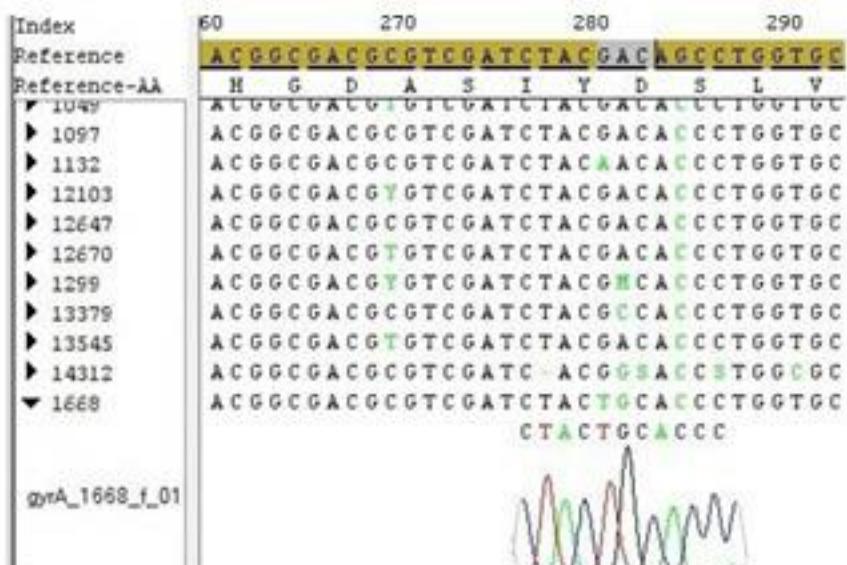


Рис. 2. Хроматограмма нуклеотидной последовательности с аминокислотной заменой Asp→Cys (GAC/TGC) в гене *gyrA*

этого гена одновременно наблюдается замена аденина (A) гуанином (G), а также диким типом A/A.

При последующем секвенировании были обнаружены как ранее известные, так и новые мутации в генах, ответственных за появление лекарственной устойчивости к препаратам первого и второго рядов. В результате установлено, что широкая лекарственная устойчивость генетически подтверждается в половине изолятов (n = 29, 50%). В данных изолятах, помимо устойчивости к препаратам первого ряда, обнаружены мутации в генах *gyrA*, *gyrB* и *rrs*. Низкий процент генетически подтвержденных случаев ШЛУ свидетельствует о том, что предложенный набор генов является недостаточным для выявления всего разнообразия лекарственно-устойчивых штаммов, циркулирующих в Казахстане.

Заключительной частью проведенной работы было типирование 58 клинических изолятов *M. tuberculosis* по 24 MIRU-VNTR-локусам на предмет их аллельного полиморфизма. Филогенетический анализ изолятов представлен в виде UPGMA-дendrogramмы (рис. 3).

Сравнение 54 MIRU-VNTR-профилей с базой данных [14] показало, что преобладающая группа изолятов ($n = 51$; 94,4%) принадлежит семейству *W-Beijing*. Два изолятов (3,7%) показали свою принадлежность к семейству LAM и один изолят ($n = 1$; 1,9%) – к семейству S. Анализ данных литературы показал, что для семейства *W-Beijing* характерно появление МЛУ и ШЛУ [7-9]. Необходимо отметить, что 4 из 58 образцов не были включены в анализ, так как по результатам электрофоретического анализа они выдавали двойные значения для некоторых MIRU-VNTR-локусов, что свидетельствует о наличии смешанной инфекции.

Заключение

Проведен анализ данных по секвенированию генов-мишеней и генотипированию *M. tuberculosis* на основе MIRU-VNTR-локусов, а также выявлены особенности генетического профиля изолятов и их ассоциации с лекарственной устойчивостью к препаратам первого и второго рядов у обследованных больных методами ДНК-секвенирования и MIRU-VNTR-типовирования ДНК *M. tuberculosis*, выделенных от 58 больных впервые выявленным и хроническим туберкулезом легких с лекарственной устойчивостью возбудителя. Обнаружена ранее не описанная в научной литературе замена аспарагиновой кислоты цистеином в 94-м кодоне гена *gyrA*. Помимо этого, в изолятах превалировали замены в 315-м кодоне гена *katG* ($n = 53$; 91,4%), в 531-м кодоне гена *rpoB* ($n = 45$; 77,6%) и в положении 1401 A/G гена *rps* ($n = 33$; 56,9%). Кроме того, обнаружен полиморфизм в 95-м кодоне гена *gyrA*.

UPGMA-Tree, MIRU-VNTR [24]: Categorical

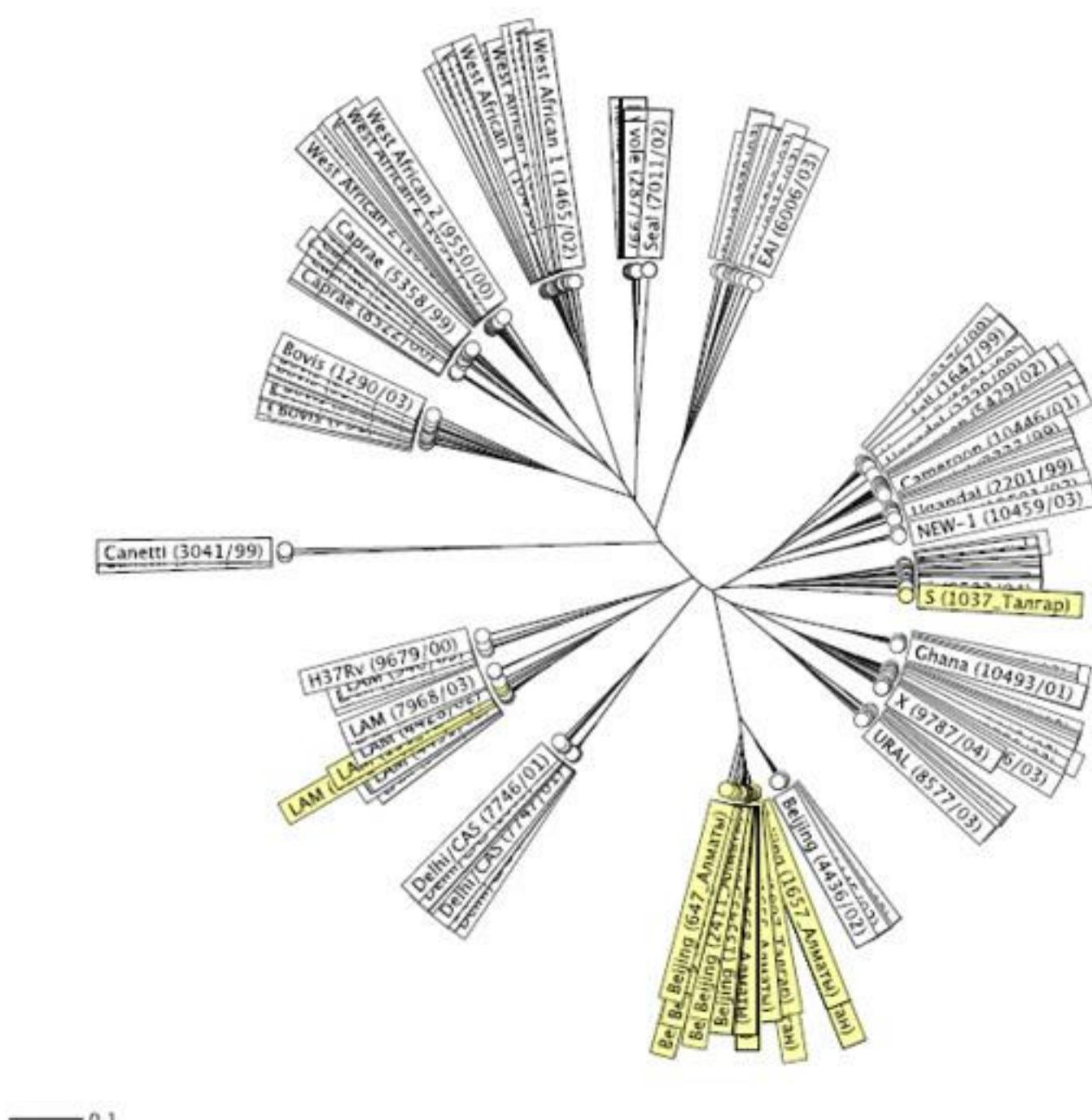


Рис. 3. Дендрограмма филогенетического сходства исследуемых изолятов (выделены желтым цветом), построенная по результатам генотипирования 24 MIRU-VNTR-локусов. Для сравнения использовали MIRU-VNTR-профили контрольных штаммов *M. tuberculosis* из базы данных [14]

($n = 57$; 98,3%), хотя известно, что изоляты, имеющие данный полиморфизм, не являются устойчивыми к фторхинолонам. В целом анализ спектра мутаций в генах, ответственных за лекарственную устойчивость к препаратам первого и второго рядов, подтвердил широкую лекарственную устойчивость в половине исследуемых изолятов ($n = 29$; 50%). Низкий процент подтвержденных случаев ШЛУ свидетельствует о том, что панель, состоящая из генов *gyrA*, *gyrB* и *rps*, является недостаточно информативной для выявления лекарственной устойчивости к препаратам второго ряда в штаммах, циркулирующих в республике, и должна быть расширена.

MIRU-VNTR-типовирование показало, что большинство изолятов относится к семейству *W-Beijing* ($n = 53$; 94,4%). В то же время два изолятов ($n = 2$; 3,7%) принадлежали семейству LAM и 1 изолят ($n = 1$; 1,9%) – семейству S. Необходимо отметить, что среди изолятов наблюдалось низкое генетическое разнообразие. В то же время известно, что генетическое семейство *W-Beijing*, которое представляет в исследованной выборке подавляющее большинство изолятов, склонно к появлению МЛУ и ШЛУ, что может объяснить рост показателей заболеваемости туберкулезом с лекарственной устойчивостью возбудителя в Республике Казахстан.

ЛИТЕРАТУРА

- Агзамова Р. А. Проблема лекарственной устойчивости микобактерий туберкулеза в Республике Казахстан // Фтизиопульмонология. – 2005. – № 1. – С. 12-16.
- Исмаилов Ш. Ш. Эпидемиологическая ситуация по ТБ МЛУ в Республике Казахстан // Фтизиопульмонология. – 2006. – № 2. – С. 71-73.
- Казенний Б. Я. Клиническое и эпидемиологическое значение первичной лекарственной устойчивости микобактерий туберкулеза: Автореф. ... канд. мед. наук: 09.03.04. – М., 2004. – 27 с.
- Мясникова Г. А., Ракишев Г. Б., Баймуханова К. Х. Туберкулез в тюрьмах // Актуальные вопросы фтизиатрии: сб. науч. тр. молодых ученых. – Алматы, 2002. – С. 30-33.
- Статистический обзор по туберкулезу в Республике Казахстан за 2013-2014 гг. – Алматы: Атамура, 2014. – 5 с.
- 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. Ag. – 2004. – Vol. 32, № 5. – P. 1138-1152.
- Allix-Béguec C., Supply P., Fauville-Dufaux M. Utility of fast mycobacterial interspersed repetitive unit-variable number tandem repeat genotyping in clinical mycobacteriological analysis // Clin. J. Infect. Dis. – 2004. – Vol. 39, № 6. – P. 783-789.
- Drobnicwski E., Balabanova Y., Ruddy M. Rifampin- and multidrug-resistant tuberculosis in Russian civilians and prison inmates: dominance of the *Beijing* strain family. Emergency of Infection Disease, 2002, vol. 8, no. 11, pp. 127-132.
- Dymova M.A., Cherednichenko A.G., Alkhovik O.I. Characterization of extensively drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* isolates circulating in Siberia. BMC Infect. Dis., 2014, vol. 14, no. 478, pp. 1471-2334.
- Global Tuberculosis Report 2013. http://www.who.int/tb/publications/global_report/en/index.html
- Hillemann D., Kubica T., Agzamova R. et al. Rifampicin and isoniazid resistance mutations in *Mycobacterium tuberculosis* strains isolated from patients in Kazakhstan // Int. J. Tuberc. Lung Dis. – 2005. – Vol. 9, № 10. – P. 1161-1167.
- Takiff H. E., Salazar L., Guerrero C. et al. Cloning and nucleotide sequence of *Mycobacterium tuberculosis* *gyrA* and *gyrB* genes and detection of quinolone resistance mutations // Antimicrob. Agents Chemother. – 1994. – Vol. 38, № 4. – P. 773-780.
- <http://www.miru-vntrplus.org>
- <http://www.miru-vntrplus.org/MIRU/>

REFERENCES

- Agzamova R.A. The problem of drug resistance of tuberculosis mycobacteria in Kazakhstan Republic. Phthisiopulmonology, 2005, no. 1, pp. 12-16. (In Russ.)
- Ismailov Sh.Sh. Epidemiological situation on MDR TB in Kazakhstan Republic. Phthisiopulmonology, 2006, no. 2, pp. 71-73. (In Russ.)
- Kazenny B.Ya. Klinicheskoye i epidemiologicheskoye znachenie pervichnoy lekarstvennoy ustoichivosti mikobakterii tuberkuleza. Diss. kand. med. nauk. [Clinical and epidemiological value of primary drug resistance of tuberculosis mycobacteria. Cand. Diss.]. 09.03.04, Moscow, 2004, 27 p.
- Myasnikova G.A., Rakishev G.B., Baymukhanova K.Kh. Tuberkulez v tyur'makh. Aktual'nye voprosy fiziatrii: sb. nauch. tr. molodykh uchenykh. [Tuberculosis in prisons. Actual issue of tuberculosis control. Coll. of articles by young scientists]. Almaty, 2002, pp. 30-33.
- Statisticheskiy obzor po tuberkulezu v Republike Kazakhstan (2013-2014). [Statistic review of tuberculosis in Kazakhstan Republic in 2013-2014]. Almaty, Atamura Publ., 2014, 5 p.
- 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. Ag., 2004, vol. 32, no. 5, pp. 1138-1152.
- Allix-Béguec C., Supply P., Fauville-Dufaux M. Utility of fast mycobacterial interspersed repetitive unit-variable number tandem repeat genotyping in clinical mycobacteriological analysis. Clin. J. Infect. Dis., 2004, vol. 39, no. 6, pp. 783-789.
- Drobnicwski E., Balabanova Y., Ruddy M. Rifampin- and multidrug-resistant tuberculosis in Russian civilians and prison inmates: dominance of the *Beijing* strain family. Emergency of Infection Disease, 2002, vol. 8, no. 11, pp. 127-132.
- Dymova M.A., Cherednichenko A.G., Alkhovik O.I. Characterization of extensively drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* isolates circulating in Siberia. BMC Infect. Dis., 2014, vol. 14, no. 478, pp. 1471-2334.
- Global Tuberculosis Report 2013. http://www.who.int/tb/publications/global_report/en/index.html
- Hillemann D., Kubica T., Agzamova R. et al. Rifampicin and isoniazid resistance mutations in *Mycobacterium tuberculosis* strains isolated from patients in Kazakhstan. Int. J. Tuberc. Lung Dis., 2005, vol. 9, no. 10, pp. 1161-1167.
- Takiff H.E., Salazar L., Guerrero C. et al. Cloning and nucleotide sequence of *Mycobacterium tuberculosis* *gyrA* and *gyrB* genes and detection of quinolone resistance mutations. Antimicrob. Agents Chemother., 1994, vol. 38, no. 4, pp. 773-780.
- <http://www.miru-vntrplus.org>
- <http://www.miru-vntrplus.org/MIRU/>

ДЛЯ КОРРЕСПОНДЕНЦИИ:

Тарлыков Павел Викторович

РГП «Национальный центр биотехнологии» КН МОН РК,
старший научный сотрудник.
010000, Казахстан, г. Астана, ул. Валиханова, д. 13/1.
Тел./факс: 8 (7172) 21-40-20 (внутр. 124), 8 (7172) 21-46-33.
E-mail: pavel.tarlykov@gmail.com

Поступила 29.12.2014