

ISSN 2518-1467 (Online),  
ISSN 1991-3494 (Print)

ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ  
ҰЛТТЫҚ ҒЫЛЫМ АКАДЕМИЯСЫНЫҢ

# Х А Б А Р Ш Ы С Ы

---

---

## ВЕСТНИК

НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ НАУК  
РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН

## THE BULLETIN

OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES  
OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

1944 ЖЫЛДАН ШЫҒА БАСТАҒАН  
ИЗДАЕТСЯ С 1944 ГОДА  
PUBLISHED SINCE 1944

5

---

АЛМАТЫ  
АЛМАТЫ  
ALMATY

2017

SEPTEMBER  
СЕНТЯБРЬ  
ҚЫРКҮЙЕК

Б а с р е д а к т о р ы

х. ғ. д., проф., ҚР ҰҒА академигі

**М. Ж. Жұрынов**

Р е д а к ц и я а л қ а с ы:

**Абиев Р.Ш.** проф. (Ресей)  
**Абишев М.Е.** проф., корр.-мүшесі (Қазақстан)  
**Аврамов К.В.** проф. (Украина)  
**Аппель Юрген** проф. (Германия)  
**Баймуқанов Д.А.** проф., корр.-мүшесі (Қазақстан)  
**Байпақов К.М.** проф., академик (Қазақстан)  
**Байтулин И.О.** проф., академик (Қазақстан)  
**Банас Иозеф** проф. (Польша)  
**Берсимбаев Р.И.** проф., академик (Қазақстан)  
**Велихов Е.П.** проф., РҒА академигі (Ресей)  
**Гашимзаде Ф.** проф., академик (Әзірбайжан)  
**Гончарук В.В.** проф., академик (Украина)  
**Давлетов А.Е.** проф., корр.-мүшесі (Қазақстан)  
**Джрбашян Р.Т.** проф., академик (Армения)  
**Қалимолдаев М.Н.** проф., академик (Қазақстан), бас ред. орынбасары  
**Лаверов Н.П.** проф., академик РАН (Россия)  
**Лупашку Ф.** проф., корр.-мүшесі (Молдова)  
**Мохд Хасан Селамат** проф. (Малайзия)  
**Мырхалықов Ж.У.** проф., академик (Қазақстан)  
**Новак Изабелла** проф. (Польша)  
**Огарь Н.П.** проф., корр.-мүшесі (Қазақстан)  
**Полещук О.Х.** проф. (Ресей)  
**Поняев А.И.** проф. (Ресей)  
**Сагиян А.С.** проф., академик (Армения)  
**Сатубалдин С.С.** проф., академик (Қазақстан)  
**Таткеева Г.Г.** проф., корр.-мүшесі (Қазақстан)  
**Умбетаев И.** проф., академик (Қазақстан)  
**Хрипунов Г.С.** проф. (Украина)  
**Юлдашбаев Ю.А.** проф., РҒА корр.-мүшесі (Ресей)  
**Якубова М.М.** проф., академик (Тәжікстан)

«Қазақстан Республикасы Ұлттық ғылым академиясының Хабаршысы».

**ISSN 2518-1467 (Online),**

**ISSN 1991-3494 (Print)**

Меншіктенуші: «Қазақстан Республикасының Ұлттық ғылым академиясы»РҚБ (Алматы қ.)

Қазақстан республикасының Мәдениет пен ақпарат министрлігінің Ақпарат және мұрағат комитетінде  
01.06.2006 ж. берілген №5551-Ж мерзімдік басылым тіркеуіне қойылу туралы куәлік

Мерзімділігі: жылына 6 рет.

Тиражы: 2000 дана.

Редакцияның мекенжайы: 050010, Алматы қ., Шевченко көш., 28, 219 бөл., 220, тел.: 272-13-19, 272-13-18,  
www: nauka-nanrk.kz, bulletin-science.kz

---

© Қазақстан Республикасының Ұлттық ғылым академиясы, 2017

Типографияның мекенжайы: «Аруна» ЖК, Алматы қ., Муратбаева көш., 75.

Г л а в н ы й р е д а к т о р  
д. х. н., проф. академик НАН РК  
**М. Ж. Журинов**

Р е д а к ц и о н н а я к о л л е г и я:

**Абиев Р.Ш.** проф. (Россия)  
**Абишев М.Е.** проф., член-корр. (Казахстан)  
**Аврамов К.В.** проф. (Украина)  
**Апель Юрген** проф. (Германия)  
**Баймуканов Д.А.** проф., чл.-корр. (Казахстан)  
**Байпаков К.М.** проф., академик (Казахстан)  
**Байтулин И.О.** проф., академик (Казахстан)  
**Банас Иозеф** проф. (Польша)  
**Берсимбаев Р.И.** проф., академик (Казахстан)  
**Велихов Е.П.** проф., академик РАН (Россия)  
**Гашимзаде Ф.** проф., академик (Азербайджан)  
**Гончарук В.В.** проф., академик (Украина)  
**Давлетов А.Е.** проф., чл.-корр. (Казахстан)  
**Джрбашян Р.Т.** проф., академик (Армения)  
**Калимолдаев М.Н.** академик (Казахстан), зам. гл. ред.  
**Лаверов Н.П.** проф., академик РАН (Россия)  
**Лупашку Ф.** проф., чл.-корр. (Молдова)  
**Мохд Хасан Селамат** проф. (Малайзия)  
**Мырхалыков Ж.У.** проф., академик (Казахстан)  
**Новак Изабелла** проф. (Польша)  
**Огарь Н.П.** проф., чл.-корр. (Казахстан)  
**Полещук О.Х.** проф. (Россия)  
**Поняев А.И.** проф. (Россия)  
**Сагиян А.С.** проф., академик (Армения)  
**Сатубалдин С.С.** проф., академик (Казахстан)  
**Таткеева Г.Г.** проф., чл.-корр. (Казахстан)  
**Умбетаев И.** проф., академик (Казахстан)  
**Хрипунов Г.С.** проф. (Украина)  
**Юлдашбаев Ю.А.** проф., член-корр. РАН (Россия)  
**Якубова М.М.** проф., академик (Таджикистан)

**«Вестник Национальной академии наук Республики Казахстан».**

**ISSN 2518-1467 (Online),**

**ISSN 1991-3494 (Print)**

Собственник: РОО «Национальная академия наук Республики Казахстан» (г. Алматы)

Свидетельство о постановке на учет периодического печатного издания в Комитете информации и архивов Министерства культуры и информации Республики Казахстан №5551-Ж, выданное 01.06.2006 г.

Периодичность: 6 раз в год

Тираж: 2000 экземпляров

Адрес редакции: 050010, г. Алматы, ул. Шевченко, 28, ком. 219, 220, тел. 272-13-19, 272-13-18.

www: nauka-nanrk.kz, bulletin-science.kz

---

© Национальная академия наук Республики Казахстан, 2017

Адрес типографии: ИП «Аруна», г. Алматы, ул. Муратбаева, 75

E d i t o r i n c h i e f

doctor of chemistry, professor, academician of NAS RK

**M. Zh. Zhurinov**

E d i t o r i a l b o a r d:

**Abiyev R.Sh.** prof. (Russia)  
**Abishev M.Ye.** prof., corr. member. (Kazakhstan)  
**Avramov K.V.** prof. (Ukraine)  
**Appel Jurgen,** prof. (Germany)  
**Baimukanov D.A.** prof., corr. member. (Kazakhstan)  
**Baipakov K.M.** prof., academician (Kazakhstan)  
**Baitullin I.O.** prof., academician (Kazakhstan)  
**Joseph Banas,** prof. (Poland)  
**Bersimbayev R.I.** prof., academician (Kazakhstan)  
**Velikhov Ye.P.** prof., academician of RAS (Russia)  
**Gashimzade F.** prof., academician ( Azerbaijan)  
**Goncharuk V.V.** prof., academician (Ukraine)  
**Davletov A.Ye.** prof., corr. member. (Kazakhstan)  
**Dzhrbashian R.T.** prof., academician (Armenia)  
**Kalimoldayev M.N.** prof., academician (Kazakhstan), deputy editor in chief  
**Laverov N.P.** prof., academician of RAS (Russia)  
**Lupashku F.** prof., corr. member. (Moldova)  
**Mohd Hassan Selamat,** prof. (Malaysia)  
**Myrkhalykov Zh.U.** prof., academician (Kazakhstan)  
**Nowak Isabella,** prof. (Poland)  
**Ogar N.P.** prof., corr. member. (Kazakhstan)  
**Poleshchuk O.Kh.** prof. (Russia)  
**Ponyaev A.I.** prof. (Russia)  
**Sagiyani A.S.** prof., academician (Armenia)  
**Satubaldin S.S.** prof., academician (Kazakhstan)  
**Tatkeyeva G.G.** prof., corr. member. (Kazakhstan)  
**Umbetayev I.** prof., academician (Kazakhstan)  
**Khripunov G.S.** prof. (Ukraine)  
**Yuldashbayev Y.A.,** prof. corresponding member of RAS (Russia)  
**Yakubova M.M.** prof., academician (Tadjikistan)

**Bulletin of the National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan.**

**ISSN 2518-1467 (Online),**

**ISSN 1991-3494 (Print)**

Owner: RPA "National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan" (Almaty)

The certificate of registration of a periodic printed publication in the Committee of Information and Archives of the Ministry of Culture and Information of the Republic of Kazakhstan N 5551-Ж, issued 01.06.2006

Periodicity: 6 times a year

Circulation: 2000 copies

Editorial address: 28, Shevchenko str., of. 219, 220, Almaty, 050010, tel. 272-13-19, 272-13-18,  
<http://nauka-nanrk.kz/>, <http://bulletin-science.kz>

---

© National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan, 2017

Address of printing house: ST "Aruna", 75, Muratbayev str, Almaty

**T. A. Muminov, B. T. Zhakipbaeva, A. Dauletbakova**

Kazakh National Medical University after S. D. Asfendiyarov, Almaty, Kazakhstan.  
E-mail: tamiminov@mail.ru

## **METHODS OF GENETIC CHARACTERISTICS OF THE PATHOGEN AND THEIR SIGNIFICANCE IN EPIDEMIOLOGY AND TUBERCULOSIS CLINIC (LITERATURE REVIEW)**

**Abstract.** The review provides an assessment of modern methods of genetic characterization of mycobacteria tuberculosis and their significance in epidemiological and clinical studies related to tuberculosis. The published literature data on the investigation of the method of genomic fingerprinting or restriction fragment length polymorphism based on the analysis of the number of copies and distribution of mobile DNA sequences IS6110 in the MB61 chromosome (IS6110-RFLP), the methods of mutation, MIRU- and VNTR-typing of strains of mycobacteria, their registration resistance to antibacterial drugs.

**Key words:** эпидемиология, туберкулез, саусақ іздері, талдау әдістері, ауру түрлері.

**T. A. Муминов, Б. Т. Жакипбаева, А. Даулетбакова**

Казахский национальный медицинский университет им. С. Д. Асфендиярова, Алматы, Казахстан

## **МЕТОДЫ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ХАРАКТЕРИСТИКИ ВОЗБУДИТЕЛЯ И ИХ ЗНАЧЕНИЕ В ЭПИДЕМИОЛОГИИ И КЛИНИКЕ ТУБЕРКУЛЕЗА (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)**

**Аннотация.** В обзоре дается оценка современных методов генетической характеристики микобактерий туберкулеза и их значения в эпидемиологических и клинических исследованиях, касающихся туберкулеза. Представлены литературные данные об исследовании метода геномной дактилоскопии (фингепринтинга) или полиморфизма длин рестрикционных фрагментов, основанный на анализе количества копий и распределения мобильных последовательностей ДНК IS6110 в хромосоме МБТ (**IS6110-RFLP**), методов сполитипирования, MIRU- и VNTR-типирование штаммов микобактерий, регистрации их устойчивости к антибактериальным препаратам.

**Ключевые слова:** эпидемиология, туберкулез, саусақ іздері, талдау әдістері, ауру түрлері.

Возбудитель туберкулеза является одним из представителей рода *Mycobacterium*, который входит в семейство *Mycobacteriaceae*, относящееся к порядку *Actinomycetales*. По современным представлениям термином «туберкулезная микобактерия» объединены шесть видов, образующие группу *M.tuberculosis* complex (МТК) [1, 2]: *M.tuberculosis*, *M.bovis* (включая вакцинный штамм *M.bovis*BCG), *M.africanum*, *M.microti*, *M.canettii*, *M.pinnipedii*. Это деление основано главным образом на эпидемиологических критериях и, прежде всего, учитывает основного хозяина, в котором микроб обитает. Генетически эта группа микроорганизмов может рассматриваться как один вид, так как степень родства геномов на нуклеотидном уровне превышает 99,9%, а последовательности генов 16S РНК и ряда генов "домашнего хозяйства" вообще идентичны. Поэтому некоторые исследователи выделяют не виды, а подвиды внутри данной группы микобактерий [1, 3]. Первые три из перечисленных видов могут вызывать туберкулез у людей. Микроорганизмы МТК являются неспорообразующими, неподвижными, медленно растущими, аэробными, нефотохромо-

генными палочками. Их видовая дифференцировка основана на выявлении различий в культуральных (скорость роста на искусственных питательных средах, форма колоний, условия образования пигмента) и биохимических (накопление ниацина, нитратредуктазная, каталазная, пероксидазная активность и другие) свойствах. Кроме того, для быстрой идентификации микобактерий может быть использован анализ липидов клеточной стенки. Наиболее популярны в клинической микобактериологии два хроматографических метода: газожидкостная хроматография и жидкостная хроматография под высоким давлением с флуоресцентной детекцией (FL-HPLC) [4, 5]. Первый метод позволяет идентифицировать около трех десятков видов микобактерий, второй – около 70 видов.

Другие микобактерии, которых насчитывается более 80 видов, относятся к так называемым нетуберкулезным микобактериям, не вызывающим контагиозные заболевания у человека [6]. Одни из них являются потенциально или условно патогенными видами, другие – сапрофитными, роль остальных в патологии человека пока не определена. Среди двух десятков нетуберкулезных микобактерий, наиболее часто встречающихся в качестве возбудителей заболеваний человека, лидируют *Mycobacterium avium complex* (MAC) и *Mycobacterium kansasii*. По существующим представлениям, предшественниками патогенных микобактерий были почвенные сапрофиты. Затем в результате накопления случайных мутаций появились микобактерии, способные паразитировать в организме животных. С эволюцией млекопитающих связывают эволюцию патогенных для человека микобактерий [7]. Считается что *M. bovis* попали в организм человека при употреблении в пищу сырого мяса диких животных, а по мере одомашнивания животных, сформировался новый фактор алиментарной передачи данного вида человеку – молоко. В условиях тесного контакта с домашними животными под одной крышей в зимних условиях сформировался аэрогенный путь передачи возбудителя, что привело к закреплению в человеческой популяции мутантов, более патогенных для человека, чем для животных – *M. tuberculosis*. На сегодняшний день одним из наиболее признанных трудов по эволюции бактерий туберкулезного комплекса является публикация R. Brosch с соавт. [8]. На основании результатов сравнительного изучения геномов микобактерий авторы выдвинули гипотезу о том, что общим предшественником группы *M. tuberculosis complex*, вероятно, являлась древняя бактерия – прародитель рода *Mycobacterium*, она была свободноживущей в окружающей среде бактерией, и микобактерии-сапрофиты, живущие в окружающей среде в настоящее время, являются консервативной ветвью эволюции. Тогда как микобактерии, живущие в ассоциации с многоклеточными организмами, в наибольшей степени подверглись эволюции. Другое важное открытие данного исследования, то, что *M. bovis* – более молодой микроорганизм по сравнению с *M. tuberculosis*, поскольку его геном значительно меньше по размерам, чем геном *M. tuberculosis*.

Геномный полиморфизм штаммов *M. tuberculosis complex* и характеристика элементов, пригодных для молекулярно-эпидемиологического анализа.

Методы генотипирования *M. tuberculosis*. Молекулярная эпидемиология как научное направление возникла на стыке микробиологии, популяционной генетики бактерий, таксономии и эпидемиологии около двух десятилетий назад. Методы генетического типирования *Mycobacterium tuberculosis complex* являются надежным способом доказательства идентичности штаммов и в настоящее время широко используются за рубежом для решения задач эпидемиологии туберкулеза [9, 10]. С середины 80-х годов XX века проведены многочисленные исследования для изучения генома МТК [11], поиска полиморфизма ДНК, пригодных для внутривидового различения МТК [12-17], стандартизации методов генотипирования [13, 18, 19], создания баз генотипов микобактерий из различных регионов мира [9, 21].

Указанными выше работами была создана основа для практического использования методов молекулярной эпидемиологии и в широкомасштабных популяционных исследованиях распространения туберкулеза [9, 20, 22, 23], и для расследования отдельных локальных вспышек госпитальной инфекции [24], контроля гипердиагностики туберкулеза в результате внутрилабораторной перекрестной контаминации [25], выявления эпидемиологических связей, не идентифицированных традиционными методами эпидемиологического расследования [22].

Для оценки эпидемической ситуации важным является вопрос о соотношении числа случаев реактивации латентного туберкулеза и первичного заражения, так как эти данные отражают

активность передачи туберкулеза на данной территории. В регионах, неблагополучных по заболеваемости туберкулезом, активность трансмиссии, рассчитанная по числу кластеризующихся изолятов, составляет от 50 до 75%, свидетельствуя, что наибольшее число случаев заболевания – результат недавнего заражения [22, 26].

Возбудитель туберкулеза в настоящее время является одним из наиболее хорошо изученных в плане структуры генома патогенных микроорганизмов. В 1998 году была опубликована полная нуклеотидная последовательность типового лабораторного штамма *M.tuberculosis*H37Rv [11], она доступна на сайтах Интернет [27]. Штамм *M.tuberculosis*H37Rv впервые выделен в 1905 году, он сохранил исходную чувствительность к противотуберкулезным препаратам и вирулентность для лабораторных животных. Его геном включает 4 411 532 пар нуклеотидов (п.н.), образующих около 4000 генов, входящих в состав 11 функциональных групп. Ряд свойств генома микобактерий, в том числе, исключительно низкая вариабельность консервативных генов 16S рибосомной РНК, обуславливают строго клональную структуру популяции микобактерий, которая характеризуется в практическом отсутствии горизонтального переноса генетической информации [28]. Поэтому возникшие в результате мутаций клональные линии могут сохраняться длительное время (десятки, сотни и даже тысячи лет), что позволяет изучать эволюционное развитие возбудителя.

Наиболее подходящими генетическими маркерами для практического применения в молекулярной эпидемиологии являются те генетические мишени, скорость дивергентной эволюции которых позволяет различать штаммы микобактерий в эпидемиологически несвязанных между собой случаях [29]. То есть такие маркеры, пригодные для генотипирования микобактерий, должны удовлетворять следующим критериям: быть строго специфичными для микобактерий туберкулеза, проявлять высокую степень гетерогенности в рамках популяции МТК, стабильность их не должна меняться, по крайней мере, несколько лет и не должна зависеть от формирования резистентности к противотуберкулезным препаратам в ходе лечения, и скорость их эволюции должна коррелировать с клинико-эпидемиологическими данными для сохранения информативности.

Вышеперечисленным требованиям удовлетворяют различные повторяющиеся нуклеотидные последовательности в составе хромосомы МТК. В частности, инсерционные элементы – IS-элементы – IS6110, IS1081, IS1547 и другие. Наиболее удобным маркером для эпидемиологических исследований из них оказался IS6110 (длиной 1,3 тысяч п.н.) благодаря большому числу копий (в среднем от 5 до 20), высокой распространенности и высокой мобильности в геноме [26, 30, 31].

Метод геномной дактилоскопии (фингепринтинга) или анализа полиморфизма длин рестрикционных фрагментов, основанный на анализе количества копий и распределения мобильных последовательностей ДНК IS6110 в хромосоме МБТ (**IS6110-RFLP**, Restriction Fragment Length Polymorphism), считается «золотым стандартом» типирования микобактерий туберкулеза [13, 18, 19], обычно используется в качестве эталонного и в настоящее время широко и успешно применяется в молекулярно-эпидемиологических исследованиях за рубежом для изучения путей передачи туберкулеза в условиях больниц, тюрем, а также в больших популяциях. Дискриминирующая способность данного метода – 99% и воспроизводимость 100%, однако изучаемые рестрикты могут присутствовать не во всех штаммах [19]. Кроме того, данный метод требует наращивания микобактерий в течение одного-двух месяцев и может быть применен лишь для ретроспективного эпидемиологического анализа. Сама процедура RFLP-анализа многоэтапна, занимает значительное время, требует сложного оснащения и высокой квалификации персонала, результаты сложны для учета и интерпретации, которые невозможны без специального программного обеспечения для сравнительного анализа распределения электрофоретических паттернов гидролиза ДНК в геле и поиска совпадающих генотипов в базе данных. Метод также непригоден для штаммов с малым количеством копий IS6110 в геноме [19]. В последнее время в зарубежной литературе появились отдельные сообщения о том, что некоторые лекарственноустойчивые штаммы могут обладать относительной нестабильностью IS6110-паттернов [32, 33]. Кроме того, выяснилось, что инсерционный элемент IS6110 имеет предпочтительные сайты интеграции в геноме, влекущие к образованию одинаковых генотипов при отсутствии клональных связей между ними. В свою очередь, это может приводить к ложным выводам при эпидемиологическом анализе [34]. Указанные выше недостатки затрудняют стандартизацию и широкое использование IS6110-RFLP в практике здравоохранения.

Недавно был разработан ускоренный ПЦР-метод генотипирования на основе элемента IS6110 с использованием праймеров Ris1 и Ris2, позволяющий выявлять субтипы одного из доминирующих в мире генотипов МБТ Beijing (рисунок 1) [35].

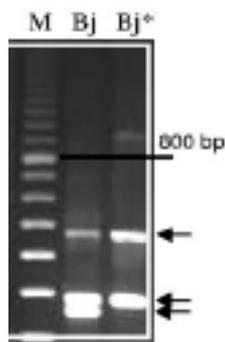


Рисунок 1 – IS-6110 inversePCR – примеры профилей штаммов *M.tuberculosis* (Рисунок заимствован из [35]):  
 Bj – штамм генотипа Beijing – «современный» субтип;  
 Bj\* – штамм генотипа Beijing – «древний» субтип (стрелками показаны фрагменты, специфичные для Bj)

К наиболее широко используемым вторичным методам генотипирования микобактерий относится метод **сполиготипирования** (Spoligotyping, от spaceroligotyping), основанный на регистрации полиморфизма спейсеров в регионе прямых повторов (DR – от англ. directrepeat) *M.tuberculosis* [16, 36]. DR – локусы (короткие прямые повторы размером 36 пар оснований) перемежаются уникальными промежуточными последовательностями (спейсерами) длиной от 35 до 41 пары оснований (рисунок 2) [37]. Клинические штаммы микобактерий различаются по присутствию этих

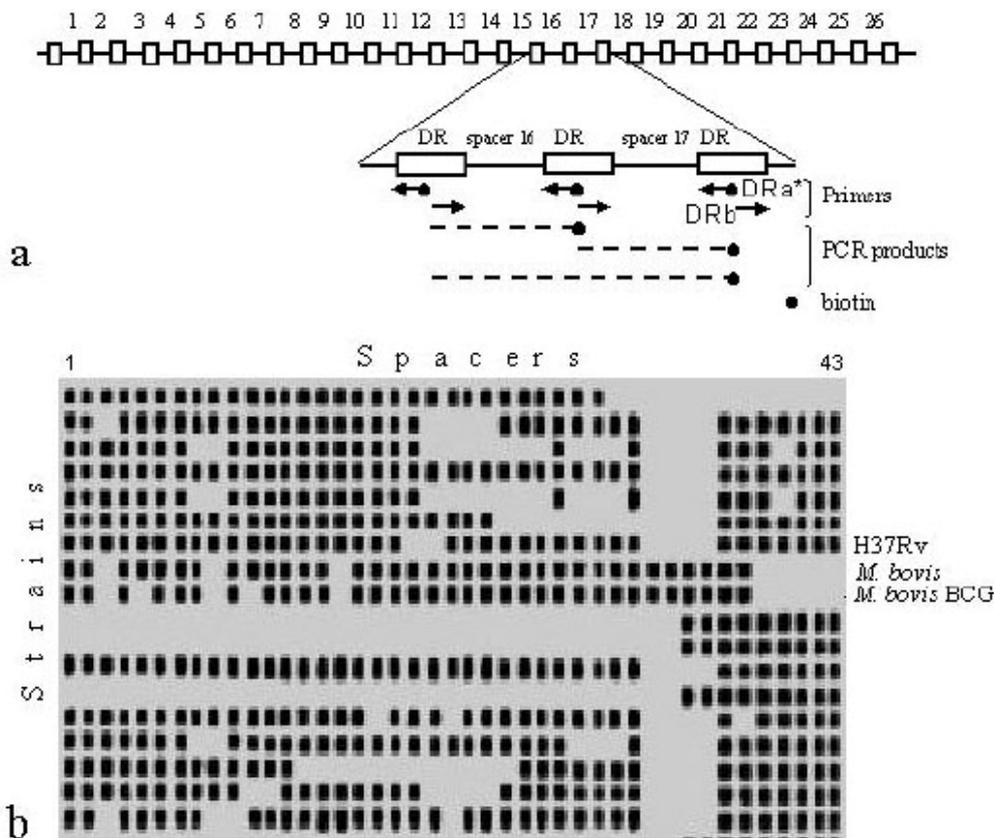


Рисунок 2 – Строение DR-локуса хромосомы МБТ (a) и примеры сполигопрофилей клинических и референс-штаммов МБТ (b)

промежуточных последовательностей и различию в количестве DR-копий. Метод используют для дифференцировки штаммов *M.tuberculosis* и *M.bovis*, включая *M.bovis*BCG, обладающих низкой копийностью элемента IS6110 и поэтому неразличимых с помощью IS6110-RFLP. Сполиготипирование считается методом выбора для широкомасштабных исследований популяционной структуры микобактерий, эволюции патогенности и источников распространения эпидемических типов микобактерий туберкулезного комплекса, что обусловлено большей стабильностью используемых генетических маркеров. Простота интерпретации результатов и возможность их компьютерной обработки позволили создать международную базу данных сполиготипов микобактерий туберкулезного комплекса, содержащую в настоящее время более 5 тысяч профилей сполиготипирования клинических штаммов *M.tuberculosis* различного географического происхождения [21].

Сполиготипирование является высокотехнологичным методом одновременной детекции, идентификации и типирования микобактерий [16, 37, 38]. Принцип метода заключается в том, что ДНК-последовательности DR-локуса клинических изолятов, амплифицируются в ПЦР, а затем продукты реакции гибридизуются с нанесенными на мембрану 43 синтетическими олигонуклеотидами – производными спейсерных последовательностей. Один из праймеров для амплификации метится биотином и амплификационная смесь используется для гибридизации с 43 олигонуклеотидами. Различные штаммы при этом дают различные конфигурации паттернов. Отсутствие гибридизационного сигнала свидетельствует об отсутствии микобактерий в клиническом образце. Существенным преимуществом метода является возможность одновременного тестирования значительного количества образцов и повторного использования мембраны с ковалентно связанными спейсерными олигонуклеотидами. Полученные сполигографы представляются как слово из 43 букв (из 3 символов: положительный, отрицательный и не определяемый) и могут анализироваться с помощью MSWord-процессора. Установлено, что паттерны сполиготипирования стабильны на протяжении, минимум нескольких лет, и не изменяются при возникновении резистентности к противотуберкулезным препаратам в ходе химиотерапии [39]. Сполиготипирование широко используется в молекулярно-эпидемиологических исследованиях и для изучения филогении возбудителя туберкулеза [9, 16, 20- 22].

В последние годы появились методики, позволяющие типировать штаммы МТК с меньшими затратами, в частности, **MIRU- и VNTR-типирование**. Первый основан на амплификации участков генома, содержащих повторяющиеся рассеянные элементы (MIRU от англ. – *mycobacterial interspread repeatedunits*) размером 50-77 п.о. Определяя количество повторов можно получить MIRU-профиль [13, 40]. Было идентифицировано 41MIRUs, у 12 из которых, длиной от 51 до 77 н.п., выявлен полиморфизм. Варьирует нуклеотидная последовательность и число повторов. В этих 12 регионах генома было идентифицировано от 2 до 8 MIRU-VNTR аллелей, что соответствует потенциалу из более чем 16 миллионов различных комбинаций. При этом MIRUs 4 и 31 идентичны ранее описанным VNTR-D и VNTR-E, соответственно [15].

Сущность VNTR – типирования (VNTR – от англ. *variablenumberoftandemrepeats*, переменное число tandemных повторов) состоит в том, что после выделения геномной ДНК микобактерий туберкулеза проводят амплификацию полиморфных локусов ДНК с фланкирующими их праймерами в отдельных реакционных смесях с последующей детекцией ПЦР-продуктов в агарозном или полиакриламидном геле, определением номера аллеля в соответствии с формулой, учитывающей размер ПЦР-продукта, число и размер tandemных повторов. В геноме микобактерий туберкулезного комплекса выявлено шесть точных tandemных повторов **ETR** (от англ. *Exacttandem repeat*), размером от 53 до 79 пар оснований [15].

Указанные методы широко применяются за рубежом в изучении генетического разнообразия штаммов микобактерий, в том числе и в России [41-43]. До недавнего времени основным их недостатком являлась более низкая, чем у ПДРФ, разрешающая способность. Однако разработанная в последнее время технология VNTR по 12 и более парам локусов VNTR-MIRU позволила приблизиться и в ряде случаев превзойти эффективность использования ПДРФ [43-47]. Перечисленные выше методы генотипирования МТК на основе ПЦР обладают рядом преимуществ в сравнении с «золотым» стандартом в генотипировании МТК: относительная простота, пригодность для анализа образцов разной степени сохранности и жизнеспособности микобактерий, биологическая безопасность, возможность типирования микобактерий непосредственно в клинических образцах без

длительного культивирования их, дешевизна, воспроизводимость, удобство хранения и возможность создания международных баз данных. Все это определило широкое использование указанных методов в молекулярно-эпидемиологических исследованиях туберкулеза [40, 48].

Кроме перечисленных выше, для исследования полиморфизма ДНК микобактерий используются полиморфные GC-богатые тандемные повторяющиеся последовательности – **PGRS** (от англ. polymorphicGC-richrepetitivesequence), **триплетные повторы GTG** [48], однонуклеотидный полиморфизм (SNP – singlenucleotidepolymorphism) [49], делеционный анализ и другие методы [50].

В 1999 г. была проведена сравнительная характеристика используемых на тот момент методов генетического типирования МБТ по воспроизводимости, степени дифференциации клонов, специфичности генотипирования [20]. Наиболее высокой воспроизводимостью (94-100%) обладали RFLP методы, смешанно-линкерная ПЦП, VNTR-типирование и сполиготипирование. Метод PGRS-генотипирования также труден для анализа вследствие высокой плотности полос и вариабельности их интенсивности, однако воспроизводимость метода 100%. Из ПЦП – методов генотипирования 100% воспроизводимостью обладала смешанно-линкерная ПЦП, у других методов она варьировала от 97% (для VNTR-типирования) и 94% (для сполиготипирования) до 6%.

Наибольшая дифференциация штаммов достигнута с помощью IS6110- RFLP и смешанно-линкерной ПЦП (получено 84 и 81 тип паттернов соответственно). PGRSRFLP, DRE-PCR, сполиготипирование, VNTR-типирование, DR-RFLP и (GTG)<sub>3</sub>RFLP давали 70, 63, 61, 56, 48 и 30 типов соответственно из 90 исследованных штаммов.

Необходимо отметить, что, хотя в данном исследовании дискриминирующая способность IS6110-RFLP признана наилучшей, она является предельной для этого метода. Методы же MIRU-VNTR-типирования и сполиготипирования на основе DR-полиморфизма продолжают совершенствоваться за счет увеличения числа и комбинации наиболее информативных локусов [38, 40, 51, 52]. В частности, на большой выборке штаммов МБТ из различных регионов мира была изучена дискриминирующая способность и воспроизводимость 29 локусов MIRU-VNTR. Показано, что набор из 24 локусов увеличил число определяемых типов на 23% и на 40% в комбинации со сполиготипированием по сравнению с числом типов, полученным при использовании стандартного набора из 12 MIRU-VNTR. Соответственно, показатель кластеризации штаммов уменьшился в 3 и 4 раза. Подсчитано, что 15 локусов из 24 обеспечивают 96% дискриминации [53]. Прогностическая ценность набора из 15 локусов для оценки трансмиссии *M.tuberculosis* эквивалентна таковой для метода IS6110-RFLP-типирования [45] и даже была несколько выше при комбинировании со сполиготипированием при изучении трансмиссии МБТ в Гамбурге, Германия [54]. Поэтому данный набор из 15 локусов MIRU-VNTR (ETRA, C, MIRU 4, 10, 26, 40, 16, 31, Mtub04, 21, 30, 39, QUB-11b, 26, 4156) предлагается авторами как новый стандарт рутинного эпидемиологического маркирования штаммов *M.tuberculosis*, а набор из 24 локусов – как метод с высокой разрешающей способностью для филогенетических исследований. Существенным преимуществом MIRU-VNTR-типирования является возможность применения его для оперативного анализа, поскольку может быть использован нативный материал или ранние колонии бактерий.

Поскольку IS6110-RFLP, MIRU-VNTR-типирование и сполиготи-пирование направлены на разные молекулярные мишени в геноме микобактерий эти методы могут эффективно дополнять друг друга при проведении широкомасштабных филогенетических и эпидемиологических исследований [40, 46, 55, 56]. Эпидемиологическая связь может предполагаться между штаммами, выделенными от разных источников, но имеющими идентичные или, по крайней мере, подобные паттерны при исследовании полиморфизма нескольких генетических маркеров [34].

Таким образом, генотипирование микобактерий туберкулеза может применяться для решения задач эпидемиологического мониторинга и клинико-лабораторных задач. В частности, современные методы генотипирования позволяют: изучить структуру популяции на территориях, достоверно обосновать эпидемиологические связи между заболевшими в очагах туберкулеза, в том числе при госпитальной инфекции, идентифицировать эпидемический штамм возбудителя и проводить мониторинг за его распространением (как географическим, так и среди различных социальных групп), выявить скрытые контакты и факторы риска заражения, провести дифференциальную диагностику эндогенной реактивации и экзогенной суперинфекции при рецидивах заболевания, провести ускоренное выявление лекарственно-устойчивых штаммов, оценить их

трансмиссивность и вирулентность, контролировать качество бактериологической диагностики (распознавание кросс-контаминации образцов).

Учитывая описанные выше характеристики различных методов генотипирования, ряд исследователей предполагают, что для целей практической медицины (расследование случаев госпитальных вспышек, вызванных полирезистентными штаммами, контроль лабораторной службы для предотвращения кросс-контаминации обрабатываемых биологических образцов, эпидемиологическое расследование контактных случаев в очагах туберкулеза) более пригодны маркеры с большей скоростью эволюции, например, MIRUs – локусы [57]. Тогда как для изучения, так называемых, долговременных вопросов молекулярной эпидемиологии туберкулеза, а именно, широко-масштабных исследований популяционной структуры микобактерий, эволюции патогенности и источников распространения эпидемических типов микобактерий туберкулезного комплекса, сполиготипирование является методом выбора, поскольку использование более стабильного маркера позволяет отсеять менее существенные детали эволюционного процесса.

**Генетические механизмы устойчивости микобактерий к противотуберкулезным препаратам.** Проблема распространения штаммов *M.tuberculosis*, устойчивых к специфическим химиопрепаратам, имеет в настоящее время огромное значение, как для Казахстана, так и для всего мира. Число эффективных противотуберкулезных препаратов весьма ограничено, большая часть их используется на протяжении нескольких десятилетий, поэтому неудивительно, что МБТ успели выработать устойчивость к ним. В настоящее время установлены гены у МБТ, мутации в которых приводят к устойчивости к определенным препаратам.

Наиболее полно изучены мутации, обуславливающие устойчивость к препаратам основного ряда [58]. Известно, что наиболее эффективными препаратами из этой группы являются рифампицин и изониазид, одновременная устойчивость к которым, обозначаемая как мультирезистентность, в наибольшей степени снижает клиническую эффективность химиотерапии. Резистентность к рифампицину на 95% определяется мутациями, затрагивающими гипервариабельный участок *rpoB* гена (hotspot), протяженностью 81 н.п., ответственного за синтез  $\beta$ -субъединицы РНК-полимеразы и их известно около 40. Данный участок включает кодоны 507-533 гена *rpoB*. По данным ряда авторов [59] мутации в кодонах 531, 526 и 516 приводят к рифампицинрезистентности высокого уровня, а значит, эффективность лечения рифампицином пациентов, культуры которых имеют такой тип мутаций сомнительна.

Устойчивость к изониазиду возникает комплексно. К настоящему времени известно 4 гена, мутации, в которых ассоциируются с устойчивостью к изониазиду. Ответственность за резистентность к изониазиду распределяется между генами следующим образом: *katG* - 40%, *inhA* – 33%, *ahpC/oxuR* и *kasA* по 13-15%. Изониазид в клетках МТС переводится в активную форму с помощью продукта гена *katG* - фермента каталазы-пероксидазы. Резистентность МБТ к изониазиду обусловлена, в первую очередь, мутациями этого гена. Белки, продукты гена *inhA*, принимающие участие в синтезе миколовых кислот клеточной стенки, также являются мишенями для изониазида и его структурного аналога этионамида. Локус *ahpC* кодирует алкилгидропероксидредуктазу, локус *oxuR* участвует в регуляции оксидативного стресса. Механизм резистентности 15-20% устойчивых к изониазиду штаммов МБТ остается неизвестным.

В настоящее время разработан ряд методов, применяемых для выявления мутаций, ассоциирующихся с лекарственной устойчивостью МБТ. «Золотым» стандартом является метод прямого секвенирования, однако ввиду сложности, дороговизны применения его в клинико-диагностических лабораториях затруднено. В настоящее время разработаны различные модификации методов выявления мутаций (метод конформационного полиморфизма одноцепочечных фрагментов, гетеродуплексный анализ, обратная гибридизация с олигонуклеотидными зондами, мультиплексная аллель-специфическая ПЦР, PCR-RFLP, ПЦР в реальном времени, гибридизации на биочипах и другие), выпускаются различные коммерческие тесты (INNO-LiPaRifTBassay, Immunogenetics; GenoTypeMTBDRassay, HainLifescience, Германия, а также биологические микрочипы, Институт молекулярной биологии РАН, Москва, РФ).

**Оценка генетического разнообразия и области применения генотипирования штаммов *Mycobacteriumtuberculosis*.** Методами молекулярной биологии было установлено, что современная популяция штаммов МБТ является неоднородной. Генетические различия выявлены как между

штаммами, циркулирующими в пределах одного географического региона, так и в разных частях мира. Оценка генетического разнообразия популяции штаммов МБТ позволяет выявлять доминирующие генотипы и проводить мониторинг за распространением определенных штаммов с целью изучения динамики эпидемического процесса [60].

В 2006 г. международная база споллигопрофилей была обновлена и опубликована ее четвертая версия – SpolDB4, в которой описано 5309 типов (STs – shared-types) из 39295 штаммов из 122 стран мира [21]. Из этого числа 35925 (91,4%) штаммов входят в состав 1939 кластеров, включающих 2 и более штаммов, идентичных по профилю споллиготипирования. 3370 (8,6%) штаммов имеют уникальные споллиготипы. Около половины всех штаммов (17701 или 49,3%) входит в состав 20 наиболее многочисленных кластеров. Всего описано 62 крупных генотипических семейства (линий, lineage) и подсемейств (sublineage) МБТ. Наиболее крупные из них – Beijing, Haarlem, LAM (Latin-American-Mediterranean), CAS (the Central Asianclade), EAI (East African Indianclade). Штаммы 237 кластеров принадлежат к *M.bovis* ( $n=5710$ ). Штаммы семейства Beijing и Beijing-like представляют около 50% в Юго-Восточной Азии и 13% среди всех изолятов. В Европе около 25% штаммов представлены семейством Haarlem. В Южной Америке 50% штаммов принадлежат к семейству LAM. Три больших генетических семейства (Haarlem, LAM и T) являются наиболее частыми в Африке, Центральной Америке, Европе и Южной Америке. Семейство Beijing преобладает в Юго-Восточной Азии, а также в Средней, Восточной и Центральной Азии (45,9%, 16,5% и 17,2%, соответственно). Генотип Beijing, длительное время являвшийся эндемичным в Китае [60, 61] становится угрозой в некоторых частях мира, особенно в странах бывшего СССР, и в меньшей степени, распространяется в Западном мире [32].

Для оценки эпидемического статуса каждого клона, определенного методом споллиготипирования, они были проанализированы с помощью предложенных FilliolI. et al., 2003 показателей [62]. Для оценки пространственного распространения споллиготипов предложено использовать термины «эндемические» (встречаются на одном из континентов/субконтинентов или географических макрорегионов), «локализованные» (встречаются на двух континентах или на территории 3-5 стран), «убиквитарные или повсеместные» (встречаются более чем на двух континентах или в шести и более странах). Для этого используется «Индекс распространения» (SI – Spreading-index), определяемый соотношением количества штаммов данного споллиготипа к общему числу территорий, где он был обнаружен. В соответствии с этим различают «редкий» (rare,  $SI < 2$ ), «повторяющийся» (recurrent,  $3 < SI < 10$ ), «общий» (common,  $10 < SI < 25$ ) и «эпидемический» (epidemic,  $SI > 25$ ) споллиготипы. Среди споллигопрофилей в базе SpolDB4 14 были определены как эпидемические, 65 – как общие, 669 – как повторяющиеся, 1090 – как редкие. Согласно данным критериям споллиготип SIT1 семейства Beijing имеет следующие характеристики: «убиквитарный», «эпидемический».

В странах с низким уровнем заболеваемости туберкулезом наблюдается высокая полиморфность профилей IS6110 и споллиготипирования, что может быть обусловлено длительной циркуляцией штаммов различных генотипов с преобладанием случаев эндогенной реактивации заболевания. Кроме того, значительна доля мигрантов среди заболевших, привносящих экзотические варианты генотипов МБТ различного географического происхождения [63]. В странах с высоким бременем туберкулеза наблюдается меньшая вариабельность профилей генотипирования штаммов МБТ за счет клональной диссеминации штаммов определенных генотипов [64].

Причины локального успеха трансмиссии различных штаммов МБТ остаются пока неясными. Очевидно, что значимую роль в увеличении трансмиссии играют запоздалое выявление заболевания, обширные поражения специфическим процессом с деструкцией легких, неудовлетворительные санитарно-гигиенические условия в очаге.

Выраженная гомогенность популяции МБТ впервые была выявлена на территории Китая, где более 85% штаммов, изолированных от больных в окрестностях Пекина (Beijing) обладали одинаковым профилем споллиготипирования и имели высокий (>66%) коэффициент сходства IS6110-профилей, что указывало на их принадлежность к единому клону (генетическому семейству), тогда же названному “Beijing” (их еще называют Пекинские штаммы) [65]. Генотип Beijing выявлен во многих частях света, однако уровень распространения штаммов различен – от почти полного отсутствия и эндемических случаев до эпидемий [66]. На территории Западной Европы его

доля не достигает 10%. Наибольшее распространение данного генотипа выявлено в странах Азии и бывшего Советского Союза – около 50%. В некоторых странах была выявлена взаимосвязь штаммов МБТ данного генотипа и лекарственной устойчивостью к противотуберкулезным препаратам [66].

Более половины азиатских изолятов МБТ, выделенных во Вьетнаме, Гонконге и Индонезии принадлежали к данному генотипу [31]. Исключением является Индия, где штаммы генотипа Beijing составляют не более 3%. Эти факты можно объяснить лишь общностью происхождения и последующим клональным распространением представителей данной группы МБТ в странах Юго-Восточной Азии. Штаммы данного семейства широко представлены в Малайзии, на территории США, в странах Карибского бассейна и в Южной Африке (Кейптаун), по-видимому, вследствие расположения этих стран на торговых путях.

МБТ семейства Beijing способны вызывать обширные вспышки туберкулеза, в том числе, нозокомиальные [67]. В Российской Федерации генотип Beijing является доминирующим почти повсеместно [68-71], преобладание его обнаружено также в Эстонии [72]. В США генотип Beijing представлен штаммами клональной группы W, которые явились причиной вспышек туберкулеза среди ВИЧ-инфицированных и заключенных в Нью-Йорке в начале 90-х годов, в последующем – в других штатах США и за их пределами [73, 74].

Причины доминирования штаммов генотипа W-Beijing в популяциях МБТ различного географического происхождения пока не установлены. По одной из гипотез данный генотип сформировался в человеческой популяции около 10 000 лет назад, вероятнее всего, на территории современного северного Китая, и оттуда распространился в восточную и юго-восточную Азию (Китай, Вьетнам, Бангладеш, Индонезия) во времена Неолита. В Европу и на территорию России генотип мог проникнуть в XIII веке с войсками Чингиз-хана. Согласно данной теории позднее эволюционировавшие штаммы Beijing (названные типичными штаммами) лучше приспособлены распространяться среди населения и вызывать заболевание, что обуславливает их частое обнаружение, по сравнению со штаммами, эволюция которых произошла раньше (названы атипичными штаммами Beijing) [75].

Филогенетический анализ геномной структуры 40 различных локусов у 595 штаммов МБТ генотипа Beijing из Южной Африки позволил идентифицировать среди них 7 независимо эволюционирующих сублиний [76]. Преобладание штаммов Beijing сублинии 7, может свидетельствовать о том, что эволюционный процесс положительно повлиял на их способность распространяться и вызывать заболевание. Установлена ассоциация между сублинией 7 и трансмиссивностью, а также значительная связь между внелегочным туберкулезом и группой штаммов Beijing, характеризующихся делецией RD142 или RD150 [77], эти данные подтверждают гипотезу, что между штаммами семейства Beijing могут существовать фенотипические различия [78, 79].

На основании исследований, проведенных во Вьетнаме, на Кубе и в Германии было высказано предположение о том, что причиной доминирования генотипа Beijing была пониженная чувствительность штаммов этого генотипа к ПТП [80, 81]. Обнаружение факта, что штаммы данного генотипа чаще встречаются в странах Азии, где для массовой специфической профилактики туберкулеза применяется вакцинация BCG, позволило высказать предположение, что вакцинация не обеспечивает формирования защитного иммунитета против МБТ генотипа Beijing [82]. В последующем было получено экспериментальное подтверждение данному предположению: установлено, что вакцинация BCG, не обеспечивала эффективной защиты мышей при заражении штаммами генотипа Beijing, которые по сравнению с другими вирулентными штаммами вызывают более обширные поражения легких и быстрее приводят к гибели животных [33]. Вместе с тем, описаны вспышки туберкулеза, включая нозокомиальные, обусловленные штаммами W-Beijing, среди невакцинированного населения [84]. Предполагают, что массовое применение BCG-вакцинации, обеспечивая “селективное давление”, могло каким-то образом ускорить распространение штаммов W-Beijing в некоторых странах [58].

Тем не менее, клинические проявления заболевания, вызванного штаммами МБТ генотипа Beijing, были не одинаковы в различных географических регионах [66, 78, 85, 86]. Сравнительный анализ результатов MIRU-VNTR-типирования (по 12 локусам) штаммов МБТ генотипа Beijing из различных регионов мира выявил значительную ассоциацию между частотой обнаружения

штаммов определенных сублиний с популяцией людей, от которых они были выделены [87]. Авторами высказано предположения о том, что совместимость организма хозяина и возбудителя определяет структуру популяции штаммов генотипа Beijing в различных географических регионах. Это может быть обусловлено врожденными характеристиками штаммов внутри определенных сублиний или характеристиками местного населения. Как известно, восприимчивость к туберкулезу ассоциируется с HLA-генотипом, и частота HLA-аллелей значительно различается между человеческими популяциями с различной историей, отсутствием отдельных аллелей в некоторых популяциях. Таким образом, глобальный успех штаммов МБТ семейства Beijing может быть отражением или селекции определенных сублиний в различных географических регионах отдельными популяциями людей, или способностью штаммов определенных сублиний к более легкому распространению в определенных человеческих популяциях.

Штаммы *M.tuberculosis* генотипа Beijing обладают рядом важных факторов патогенности, такими как более высокая вирулентность у BCG –вакцинированных мышей [83], ассоциация с множественной лекарственной устойчивостью. У больных, выделяющих МБТ данного генотипа, наблюдаются более выраженная интоксикация, распространенные поражения легочной ткани и прогрессирующее течение, чем у больных с возбудителем других генотипов [88]. Так, например, штаммы МБТ генотипа Beijing, циркулирующие на северо-западе РФ, характеризовались высокой степенью МЛУ и достоверно более высокой частотой высокой и средней вирулентности для мышей в сравнении со штаммами других генотипов [70]. По данным ряда экспериментов, штамм W/Beijing обладает повышенной способностью к репликации в макрофагах человека, что может объяснять его высокую активность [89]. Кроме того, установлена более высокая цитотоксичность у штаммов генотипа Beijing B0, по сравнению со штаммами других генотипов, при приблизительно одинаковой частоте МЛУ [90]. Кроме того, они легче адаптируются при изменении параметров среды за счет повышенной мутабельности *mut T* гена [91], обладают высокой трансмиссивностью, и, как отмечалось выше, способны вызывать вспышки туберкулеза с МЛУ [32, 67, 70, 73, 4].

Суммируя изложенное, следует отметить, что вирулентность возбудителя туберкулеза в значительной степени связана с принадлежностью его к тому или иному генетическому семейству, а в патогенезе и эпидемиологии современного туберкулеза биологические свойства возбудителя начинают играть все большую роль, и требуют пристального изучения.

**Области применения генотипирования *M.tuberculosis*.** Молекулярная эпидемиология туберкулеза представляет собой интеграцию методов молекулярной биологии, прослеживающей следы специфических штаммов *M.tuberculosis*, со стандартными способами эпидемиологических исследований по распространению инфекции среди разных групп населения. В сущности, молекулярная эпидемиология фокусируется на роли генетических факторов и факторов риска окружающей среды на молекулярном/клеточном или биохимическом уровне, в этиологии заболевания и распределении среди населения [60]. Например, отличаются ли определенные клинические изоляты по своей инфекционности, патогенности, чувствительности к лекарственным препаратам? В целом, высокая разрешающая способность методов генотипирования позволяет решать с их помощью как краткосрочные (оперативные, локальные эпидемиологические), так и долговременные задачи трансмиссии, а также и изучение эволюции видов.

Важным итогом использования методов генотипирования МБТ является расшифровка механизма возникновения рецидивов туберкулеза. Повторные случаи заболевания могут быть результатом реактивации латентной инфекции (эндогенная эксацербация) или следствием экзогенной реинфекции. В случаях, когда были доступны оба штамма возбудителя, вызвавших первый и второй эпизоды заболевания, факт экзогенной реинфекции был подтвержден различием генотипов возбудителя [92]. Ведущая роль экзогенной реинфекции была подтверждена также у ВИЧ-инфицированных больных [93, 94]. Развитию реинфекции у данной группы больных способствовали нарушение иммунитета и продолжающийся контакт с *M.tuberculosis*. Частота, условия и специфические факторы риска, способствующие развитию экзогенной реинфекции, нуждаются в уточнении. По мнению Р.М. Small, J.D.A. vanEmbden, 1994, если будет подтверждена значительная распространенность экзогенной реинфекции, то станет очевидной недостаточность обычного лечения и помещения пациента в условия интенсивного контакта с источником возбудителя. Важной становится изоляция пациента, получающего лечение от *M.tuberculosis*. Кроме того,

реинфекция осложняет оценку эффективности проводимой химиотерапии: в настоящее время считается, что рецидивы туберкулеза возникают в результате неадекватности режимов химиотерапии или недисциплинированности больных. Однако если экзогенная реинфекция в действительности распространена значительно, то и случаи повторного заболевания больных, адекватно пролеченных от первичного заболевания, могут быть следствием повторного их заражения [95]. Значительное распространение экзогенного механизма возникновения рецидивов на основании данных генотипирования штаммов было установлено в странах как со значительной, так и с невысокой распространенностью туберкулеза [96-98]. Таким образом, данные вопросы тесно связаны с оценкой эффективности борьбы с туберкулезом.

Вероятно, что экзогенный механизм заражения преобладает и в случаях заболевания у лиц, инфицированных в далеком прошлом, у которых первичная инфекция прошла без видимых клинических проявлений. Однако подтвердить данное предположение путем сопоставления штаммов невозможно. Оценить роль реинфекции в этом случае возможно методом определения так называемых «пучков инфекции» (кластеров), состоящие из генетически идентичных штаммов и которые расцениваются как результат недавней трансмиссии инфекции. Термин «кластер» используют для обозначения штаммов МБТ с идентичными или высоко сходными профилями и, соответственно, больных, от которых эти генетически родственные штаммы были выделены. Считается, что эндогенную реактивацию вызывают штаммы уникальных генотипов.

Так, исследования, проведенные в Дании, Нидерландах, городах Нью-Йорке и Сан-Франциско, характеризующихся низким уровнем распространения туберкулеза, выявили кластеризацию, в среднем, 43% случаев заболевания, что послужило доказательством недавней трансмиссии определенных генотипов МБТ [63, 95]. Более того, показано, что один больной, прямо или косвенно, явился источником экзогенного инфицирования 6% от числа заболевших туберкулезом в течение двухлетнего периода наблюдения в Сан-Франциско. В Нидерландах, где, с 1993 г. осуществляют генотипирование всех изолятов *M.tuberculosis*, выявлена тенденция к нарастанию доли кластеризующихся штаммов, что свидетельствует о текущем распространении некоторых генотипов МБТ. Обнаружена связь случаев, вошедших в кластеры, с юным возрастом больных, а также вовлечение пациентов и старших возрастных групп. В Нидерландах соотношение некластеризованных случаев (связанных с эндогенной реактивацией) и кластеризованных (связанных с недавним инфицированием) было относительно высоким в группе лиц старше 65 лет [23]. В Швейцарии и Норвегии процент кластеризующихся изолятов был меньше – 16 и 18% соответственно [99], что, вероятно, свидетельствует о меньшей роли экзогенного инфицирования в развитии туберкулеза в этих странах. Достоверность рассчитанных показателей кластеризации зависит от представительности выборки и длительности исследования, которая должна составлять не менее двух лет [100].

Эти парадоксальные результаты могут быть объяснены различным методическим подходом к исследованию, а также значительной недооценкой недавней трансмиссии [100]. В девяти молекулярно-эпидемиологических исследованиях, проведенных в Испании, доля кластеризующихся штаммов колебалась от 28 до 58%, что может отражать как различную эпидситуацию в разных регионах страны, так и различную продолжительность исследования, а также полноту включения случаев заболевания [101]. Показано, что снижение заболеваемости коррелировало со снижением частоты кластеризации штаммов, выделенных от больных, родившихся в Испании.

Популяционные исследования на основе геномной дактилоскопии штаммов МБТ позволили выявить внутри кластера случаи скрытой передачи возбудителя, которые не удавалось обнаружить с помощью традиционного эпидемиологического обследования очагов, преимущественно эпизодов заражения при случайных кратковременных контактах [102]. Особый интерес представляют материалы многолетнего исследования скрытых контактов в каждом из пяти кластеров, выявленных с помощью геномной дактилоскопии и включающих от 23 до 47 больных. В результате, между случаями заболеваний туберкулезом были установлены связи, которые не удалось найти ранее при традиционном обследовании очагов. Изучение микробиологических, клинических, социальных и демографических факторов, ассоциированных с подобными случаями, позволило выявить факторы риска, с которыми связано вовлечение конкретного пациента в цепочку передачи возбудителя. По данным ряда авторов таковыми являются: этническая принадлежность, социаль-

ная дезадаптация и бездомность, принадлежность к мужскому полу, употребление алкоголя и наркотиков, иммиграция из регионов с высокой заболеваемостью туберкулезом, пребывание в тюрьмах и больницах, иммунодефициты, в том числе ВИЧ-инфицирование, и профессиональные контакты с больными активным туберкулезом [74, 102-106].

Установлено, что внутрибольничная передача штамма от источника часто носит веерообразный характер, что может приводить к экзогенной суперинфекции на фоне специфического лечения и возникновению вспышек туберкулеза в условиях стационара [93]. Данное обстоятельство обуславливает необходимость соблюдения мер инфекционного контроля в стационарах.

В зарубежных исследованиях установлено, что перекрестное загрязнение образцов исследуемого материала является серьезной проблемой во фтизиобактериологических лабораториях: сообщалось о 0,4–7,8% лабораторной контаминации [25, 107]. Доказать лабораторную кросс-контаминацию образцов можно лишь молекулярно-генетическими методами идентификации штаммов микроорганизмов.

Таким образом, представленные выше факты позволяют согласиться с утверждением, что генотипирование из вспомогательного метода идентификации штаммов МБТ нередко превращается в движущую силу микробиологических и эпидемиологических исследований при туберкулезе.

В последнее время интенсивно разрабатываются подходы к полному секвенированию микобактерии туберкулеза для ускоренной и точной диагностики множественной лекарственной устойчивости (108-112). Широко анализируются достоинства и недостатки методов диагностики устойчивости микобактерий туберкулеза XpertMTB/RIF, GenoTypeMTBDR, получивших широкое клиническое применение (113-116). Создаются и доступны базы данных с перечнем мутаций, ассоциированных с устойчивостью микобактерий туберкулеза к антибактериальным препаратам (117-122).

Анализ данных, приведенных в отечественных и зарубежных публикациях, свидетельствует о неоднородности популяций возбудителя туберкулеза в различных регионах мира, а также о глобальном распространении МБТ семейства Beijing и потенциальной эпидемической опасности штаммов этого генотипа. Геномный полиморфизм *M.tuberculosis*, связанный с неодинаковой скоростью эволюции различных участков генома, позволяет использовать комбинации генетических маркеров с целью маркирования штаммов в популяционных и эпидемиологических исследованиях.

Несмотря на пристальное внимание к проблеме генетического разнообразия возбудителя туберкулеза, структура популяций МБТ на территории Казахстана до настоящего времени остается мало изученной. В связи с неблагоприятной эпидемической ситуацией и широкой циркуляцией лекарственно устойчивых штаммов возбудителя на территории страны особого внимания заслуживает выяснение роли различных генотипов *M.tuberculosis* в патогенезе заболевания и эпидемическом процессе туберкулеза в современных условиях.

Представленные материалы убедительно доказывают необходимость использования генотипирования микобактерий туберкулеза в качестве основы слежения за распространением возбудителя туберкулеза в целях оптимизации эпидемиологического надзора.

#### ЛИТЕРАТУРА

- [1] Shinnik T., Good R. Mycobacterial taxonomy // Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. – 1994. – Vol. 13. – P. 884-901.
- [2] Van Soolingen D., Hoogenboezem T., P.E.W. de Baas et al. A novel pathogenic taxon of the Mycobacterium tuberculosis complex, *canettii*, characterization of an exceptional isolate from Africa // Int. J. Syst. Bacteriol. – 1997. – Vol. 47. – P. 1236-1245.
- [3] Imeada T. Deoxyribonucleic acid relatedness among selected strains of *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium bovis*, *Mycobacterium bovis* BCG, *Mycobacterium microti*, and *Mycobacterium africanum* // Int. J. Syst. Bacteriol. – 1985. – Vol. 35. – P. 147-150.
- [4] Pinsi G., Signori C., Gelmi M. et al. Gas chromatographic assay of cellular fatty acids and alcohols for the identification of mycobacterium species // New Microbiol. – 1999. – N 22. – P. 151-154.
- [5] Butler W.R., Guthertz L.S. Mycolic acids analysis by high-performance liquid chromatography for identification of Mycobacterium species // Clin. Microbiol. Rev. – Vol. 14. – P. 704-726.
- [6] Covert T.C., Rodgers M.R. // Appl. Environ. Microbiol. – 1999. – Vol. 65, N 6. – P. 2492-2496.
- [7] Жданов В.М. Эволюция заразных болезней человека. – М.: Медицина, 1964. – 364 с.

- [8] Brosch R., S. V. Gordon, M. Marmiesse, et al. A new evolutionary scenario for the *Mycobacterium tuberculosis* complex // *Proc Natl AcadSci USA*. – 2002. – N 99. – P. 3684-3689.
- [9] Sola C., Filliol I., Gutierrez M.C. et al. Spoligotype database of *Mycobacterium tuberculosis*: Biogeographic distribution of shared types and epidemiologic and phylogenetic perspectives // *Emerging infectious Diseases*. – 2001. – Vol. 7, N 3. – P. 390.
- [10] van Rei A., Warren R., Richardson M. et al. Exogenous reinfection as a cause of recurrent tuberculosis after curative treatment // *N. Engl. J. Med.* – 1999. – Vol. 341, N 16. – P. 1174-1179.
- [11] Cole S., Brosch R., Parkhill J. et al. Deciphering the biology of *M. tuberculosis* from the complete genome sequence // *Nature*. – 1998. – Vol. 393. – P. 537-544.
- [12] Шагинян И.А., Нестеренко Л.Н., Гришина Т.Д. и др. Исследование геномного полиморфизма штаммов *M. tuberculosis* // *Журн. микробиол.* – 1996. – № 3. – С. 65-68.
- [13] Kremer K., Arnold C., Cataldi et al. Discriminatory power and reproducibility of novel DNA typing methods for *Mycobacterium tuberculosis* complex strains // *J. Clin. Microbiol.* – 2005. – Vol. 43. – P. 5628-5638.
- [14] Eisenach K.D., Crawford J.T., Bates J.H. Genetic relatedness among strains of the *Mycobacterium tuberculosis* complex: analysis of restriction fragment heterogeneity using cloned DNA probes // *Am. Rev. Respir. Dis.* – 1986. – Vol. 133. – P. 1065-1068.
- [15] Frothingham R., Meeker-O'Connell W. Genetic diversity in the *Mycobacterium tuberculosis* complex based on variable number of tandem DNA repeats // *Microbiology*. – 1998. – Vol. 144. – P. 1189-1196.
- [16] Kamerbeek J., Schouls A., Kolk M. et al. Simultaneous detection and strain differentiation of *M. tuberculosis* for diagnosis and epidemiology // *J. Clin. Microbiol.* – 1997. – Vol. 35. – P. 907-914.
- [17] Thierry D., Brisson-Noel A., Vincent-Levy-Frebault V. et al. Characterisation of a *M. tuberculosis* insertion sequence, IS6110, and its application in diagnosis // *J. Clin. Microbiol.* – 1990. – Vol. 28. – P. 2668-2673.
- [18] J.D.A. van Embden, Cave M.D., Crawford J.T. et al. Strain identification of *Mycobacterium tuberculosis* by DNA fingerprinting: Recommendations for standardized methodology // *J. Clin. Microbiol.* – 1993. – Vol. 14. – P. 406-409.
- [19] Kremer K., van Soolingen R., Frothingham R. et al. Comparison of methods based on different molecular epidemiological markers for typing of *M. tuberculosis* complex strains; interlaboratory study of discriminatory power and reproducibility // *J. Clin. Microbiol.* – 1999. – Vol. 37. – P. 2715-2716.
- [20] Barnes P.F., Cave M.D. Molecular epidemiology of tuberculosis // *New Engl. J. Med.* – 2003. – Vol. 349. – P. 1149-1156.
- [21] Brudey K., Driscoll J.R., Rigouts L. et al. *Mycobacterium tuberculosis* complex genetic diversity: mining the fourth international spoligotyping database (SpolDB4) for classification, population genetics and epidemiology // *BMC Microbiol.* – 2006. – Vol. 6: 23. – 17 p.
- [22] Bishai W., Graham N.M., Harrington S. et al. Molecular and geographic patterns of tuberculosis transmission after 15 years of directly observed therapy // *JAMA*. – 1998. – Vol. 280, N 19. – P. 1679-1684.
- [23] Van Soolingen, Borgdorff M., de Haas P.E.W. et al. Molecular epidemiology of tuberculosis in the Netherlands: a nationwide study from 1993 through 1997 // *J. Infect. Dis.* – 1999. – Vol. 180, N 30. – P. 726-736.
- [24] Beck-sague C.S., Dooley S.W., Hutton M.D. et al. Hospital outbreak of multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* infections. Factors in transmission to staff and HIV-infected patients // *JAMA*. – 1992. – Vol. 268. – P. 1280-1286.
- [25] Gascoyne-Binzi D.M., Barlow R.E., Frothingham R. et al. Rapid identification of laboratory contamination with *Mycobacterium tuberculosis* using variable number tandem repeat analysis // *J. Clin. Microbiol.* – 2001. – Vol. 39, N 1. – P. 69-74.
- [26] van Soolingen D., Hermans P., de Haas P.E.W. et al. The occurrence and stability of insertion sequences in *M. tuberculosis* complex strains: evaluation of insertion-sequences-dependent DNA polymorphism as a tool in the epidemiology of tuberculosis // *J. Clin. Microbiol.* – 1991. – Vol. 29. – P. 2578-2586.
- [27] <http://genolist.pasteur.fr/Tuberculist>, [http://www.sanger.ac.uk/Projects/M\\_tuberculosis/](http://www.sanger.ac.uk/Projects/M_tuberculosis/)
- [28] Kirschner P., Springer B., Vogel U. et al. Genotypic identification of mycobacteria by nucleic acid sequence determination: report of a 2-year experience in a clinical laboratory // *J. Clin. Microbiol.* – 1993. – Vol. 31. – P. 2882-2889.
- [29] Шагинян И.А. Геномный полиморфизм в эпидемиологическом анализе бактериальных инфекций: Автореф. ... докт. мед. наук. – М., 1995. – 48 с.
- [30] Cave M., Eisenach K., McDermott P. et al. IS6110: conservation of sequence in the *M. tuberculosis* complex and its utilization in DNA fingerprinting // *Mol. Cell. Probes*. – 1991. – Vol. 5. – P. 73-80.
- [31] McAdam R., Hermans P., van Soolingen et al. Characterization of *M. tuberculosis* Insertion sequence belonging to the IS3 family // *Mol. Microbiol.* – 1990. – Vol. 4. – P. 1607-1613.
- [32] Glynn J.R., Whiteley J., Bifani P.J. et al. Worldwide occurrence of Beijing/W strains of *Mycobacterium tuberculosis*: a systematic review // *Emerging infectious Diseases*. – 2002. – Vol. 8, N 8. – P. 843-849.
- [33] Alito A., Moreillo N., Scipioni S. et al. The IS6110 restriction fragment length polymorphism in particular multidrug-resistant *M. tuberculosis* strains may evolve too fast for reliable use in outbreak investigation // *J. Clin. Microbiol.* – 1999. – Vol. 37. – P. 788-791.
- [34] Gillespie S., Dickens A. and McHugh T. False molecular clusters due to non-random association of IS6110 with *M. tuberculosis* // *J. Clin. Microbiol.* – 2000. – Vol. 38. – P. 2081-2086.
- [35] Mokrousov I., Jiao W.W., Valcheva V. et al. Rapid detection of the *Mycobacterium tuberculosis* Beijing genotype and its ancient and modern sub-lineages by IS6110-based inverse PCR // *J. Clin. Microbiol.* – 2006. – Vol. 44. – P. 2851-2856.
- [36] Cronin W.A., Golub J.E., Magder et al. Epidemiological usefulness of spoligotyping for secondary typing of *Mycobacterium tuberculosis* isolates with low copy number of IS6110 // *J. Clin. Microbiol.* – 2001. – Vol. 39. – P. 3709-3711.
- [37] Van Embden J.D.A., van Gorkom., Kremer K. et al. Genetic variation and evolutionary origin of direct repeat locus of *Mycobacterium tuberculosis* complex bacteria // *Journal of Bacteriology*. – 2000. – Vol. 182, N 9. – P. 2393-2401.
- [38] Salmoniere Y., Li H., Torrea G. et al. Evaluation of spoligotyping in a study of the transmission of *M. tuberculosis* // *J. Clin. Microbiol.* – 1997. – Vol. 35. – P. 2210-2214.

- [39] Niemann S., Richter E., Rusch-Gerdes S. Stability of *M.tuberculosis* IS6110 restriction fragment length polymorphism patterns and spoligotypes determined by analyzing serial isolates from patients with drug-resistant tuberculosis // J. Clin. Microbiol. – 1999. – Vol. 37. – P. 409-412.
- [40] Mazars E., Lesjean S., Gilbert M. et al. High-resolution minisatellite-based typing as a portable approach to global analysis of *Mycobacterium tuberculosis* molecular epidemiology // PNAS. – 2001. – Vol. 98, N 4. – P. 1901-1906.
- [41] Киншт В.Н. Молекулярно-эпидемиологический анализ штаммов *Mycobacterium tuberculosis*, циркулирующих в Западносибирском регионе: Автореф. ... канд. мед. наук. – Новосибирск, 2002. – 21 с.
- [42] Сурикова О.В., Войтих Д.В., Кузьмичева Г.А. и др. Дифференциация микобактерий туберкулеза семейства W-Beijing, распространенных на территории Российской Федерации, на основе VNTR-типирования // Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. – 2005. – № 3. – С. 22-29.
- [43] Sola C., I. Filliol, E. Legrand et al. Genotyping of the *Mycobacterium tuberculosis* complex using MIRUs: association with VNTR and spoligotyping for molecular epidemiology and evolutionary genetics // Infection, Genetics and Evolution. – 2003. – N 3. – P. 125-133.
- [44] Gopaul K.K., Brown T.J., Gibsonetal A.L. Progression toward an improved DNA amplification-based typing technique in the study of *Mycobacterium tuberculosis* epidemiology // J. Clin. Microbiol. – 2006. – Vol. 44, N 7. – P. 2492-2498.
- [45] Van Deutekom, Supply P., P.E. de Haas et al. Molecular typing of *Mycobacterium tuberculosis* by mycobacterial interspersed repetitive unit-variable-number tandem repeat analysis, a more accurate method for identifying epidemiological links between patients with tuberculosis // J. Clin. Microbiol. – 2005. – Vol. 43. – P. 4473-4479.
- [46] Cowan L.S., Diem L., Monson T. et al. Evaluation of a two-step approach for large-scale, prospective genotyping of *Mycobacterium tuberculosis* isolates in the United States // J. Clin. Microbiol. – 2005. – Vol. 43. – P. 688-695.
- [47] Allix-Beguec C., Fauville-Dufaux M., Supply P. Three-year population-based evaluation of standardized Mycobacterial Interspersed Repetitive-Unit-Variable-Number Tandem-Repeat Typing of *Mycobacterium tuberculosis* // J. Clin. Microbiol. – 2008. – Vol. 46, N 4. – P. 1398-1406.
- [48] Wild I., Werely C., Beyers N. et al. Oligonucleotide (GTG)<sub>5</sub> as a marker for strain identification in *M.tuberculosis* // J. Clin. Microbiol. – 1994. – Vol. 32. – P. 1318-1321.
- [49] Crawford J.T., Braden C.R., Schable B.A., Onorato I.M. National Tuberculosis Genotyping and Surveillance Network: design and methods // Emerg. Infect. Dis. – 2002. – Vol. 8. – P. 1192-1196.
- [50] Fraser C.M., Eisen J. // Emerg. Infect. Dis. – 2000. – Vol. 6. – P. 505-512.
- [51] Skuce R.A., McCorry T.P., McCarroll J.F. et al. Discrimination of *Mycobacterium tuberculosis* complex bacteria using novel VNTR-PCR targets // Microbiology. – 2002. – Vol. 148. – P. 519-528.
- [52] Scott A.N., Menzies D., Tannebaum T. et al. Sensitivities and specificities of spoligotyping and mycobacterial interspersed repetitive unit-variable-number tandem repeat typing methods for studying molecular epidemiology of tuberculosis // J. Clin. Microbiol. – 2005. – Vol. 43. – P. 89-94.
- [53] Supply F., Allix C., Lesjean S. et al. Proposal for standardization of optimized Mycobacterial Interspersed Repetitive Unit-Variable-Number Tandem Repeat Typing of *Mycobacterium tuberculosis* // J. Clin. Microbiol. – 2006. – Vol. 44, N 12. – P. 4498-4510.
- [54] Oelemann M.C., Diel R., Vatin V. et al. Assessment of an optimized Mycobacterial Interspersed Repetitive Unit-Variable-Number Tandem Repeat Typing system combined with spoligotyping for population-based molecular epidemiology studies of tuberculosis // J. Clin. Microbiol. – 2007. – Vol. 45, N 3. – P. 691-697.
- [55] Allix C., Supply P., Fauville-Dufaux M. Utility of fast Mycobacterial Interspersed Repetitive Unit-Variable-Number Tandem Repeat genotyping in mycobacteriological analysis // Clin. Infect. Dis. – 2004. – Vol. 39. – P. 783-789.
- [56] Sola C., Horgen L., Maisetti J. et al. Spoligotyping followed by double-repetitive PCR as rapid alternative to IS6110 fingerprinting for epidemiological studies of tuberculosis // J. Clin. Microbiol. – 1998. – Vol. 36. – P. 1122-1124.
- [57] Филипенко М.Л., Норкина О.В., Никонова А.А. и др. Генотипирование изолятов *M.tuberculosis* в Сибирском регионе // Проблемы инфекционной патологии в регионах Сибири, Дальнего Востока и Крайнего Севера: тезисы докладов Второй научной конференции с международным участием. – Новосибирск, 2002. – 194 с.
- [58] Garsiade Viedma D. Rapiddetectionofresistancein*Mycobacteriumtuberculosis*: areviewdiscussingmolecularapproaches // Clin. Microbiol. Infect. – 2003. – Vol. 9, N 5. – P. 349-359.
- [59] Bodmer T., Zurcher G., Imboden P., Telenti A. Mutation position and type of substitution in the  $\beta$ -subunit of the RNA polymerase influence in-vitro activity of rifamycinirifampicin-resistant *Mycobacteriumtuberculosis* // J. Antimicrob. Chemother. – 1995. – Vol. 35. – P. 345-348.
- [60] Mathema B., Kurepina N.E., Bifani P.J., Kreiswirth B.N. Molecular epidemiology of tuberculosis: current insights // Clin. Microbiol. Rev. – 2006. – Vol. 19, N 4. – P. 658-685.
- [61] Qian L., van Embden J.D., Zanden A.G. et al. Retrospective analysis of the Beijingfamily of *Mycobacterium tuberculosis* inpreservedlungtissues//J. Clin. Microbiol. – 1999. – Vol.37(2). – P. 471-474.
- [62] FilliolI., DriscollJ.R., vanSoolingenD. etal. Snapshot of moving and expanding clones of *Mycobacteriumtuberculosis* and their global distribution assessed by spoligotyping in an international study // J. Clin. Microbiol. – 2003. – Vol. 41(5). – P. 1963-1970.
- [63] Alland D., Kakut G., Moss A. et al. Transmission of tuberculosis in NewYorkCity. Ananalysis of by DNA fingerprinting and conventional epidemiological methods // N. Engl. J. Med. – 1994. – Vol. 330. – P. 1710-1716.
- [64] Hermans P.V., Messadi F., Guebrexabher H. et al. Analysis of the population structure of *Mycobacterium tuberculosis* in Ephiopia, Tunisia, and the Netherlands: usefulness of DNA typing for global tuberculosis epidemiology // J. Infect. Dis. – 1995. – Vol. 171. – P. 1504-1513.
- [65] Van Solingen D., L. Qian, P.E.W. de Haas, et al. Predominance of a single genotype of *M.tuberculosis* in countries of East Asia // J. Clin. Microbiol. – 1995. – Vol. 33. – P. 3234-3238.

- [66] European concerted action on new generation genetic markers and techniques for the epidemiology and control of tuberculosis. Beijing / Wgenotype *Mycobacterium tuberculosis* and drugresistance // Emerg. Infect. Dis. – 2006. – Vol. 12, N 5. – P. 736-743.
- [67] Bifani P.J.; Mathema B., Kurepina N.E., Kreiswirth B.N. Global dissemination of the *Mycobacterium tuberculosis* W-Beijing family strains // Trends Microbiol. – 2002. – Vol. 10. – P. 45-52.
- [68] Андреевская С.Н., Черноусова Л.Н., Смирнова Т.Г. и др. Трансмиссия штаммов микобактерий туберкулеза, обусловленная миграционными процессами в Российской Федерации (на примере миграции населения из Кавказского региона в Москву и Московскую область) // Пробл. туб. – 2006. – № 1. – С. 29-35.
- [69] Балабанова Я.М., Николаевский В.В., Ради М. и др. Преобладание штаммов *Mycobacterium tuberculosis* семейства Beijing и факторы риска их трансмиссии в Самарской области // Пробл. туб. – 2006. – № 2. – С. 31-37.
- [70] Нарвская О.В. Геномный полиморфизм *Mycobacterium tuberculosis* и его значение в эпидемическом процессе: Автореф. ... докт. мед. наук. – СПб., 2003. – 35 с.
- [71] Toungousova O.S., Mariandyshev A., Bjune G. et al. Molecular epidemiology and drugresistance of *Mycobacterium tuberculosis* isolates in the Archangel prison in Russia: predominance of the W-Beijing clone Family // Clin. Infect. Dis. – 2003. – Vol. 37. – P. 665-672.
- [72] Kruumer A., Hoffner S.E., Sillastu H. et al. Spread of drug-resistant pulmonary tuberculosis in Estonia // J. Clin. Microbiol. – 2001. – Vol. 39. – P. 3339-3345.
- [73] Agerton T., Valway S., Gore B. et al. Transmission of a highly drug-resistant strain of *M. tuberculosis* (strain W1): community outbreak and nosocomial transmission via contaminated bronchoscope // JAMA. – 1997. – Vol. 278. – P. 1073-1077.
- [74] Agerton T., Valway S., Blinkhoun R. et al. Spread of strain W, a highly drug resistant strain of *M. tuberculosis*, across the United States // Clin. Infect. Dis. – 1999. – Vol. 29. – P. 85-95.
- [75] Mokrousov I., Ly H.M., Otten T. et al. Origin and primary dispersal of the *Mycobacterium tuberculosis* Beijing genotype: clues from human phylogeography // Genom Res. – 2005. – Vol. 15(10). – P. 1357-1364.
- [76] Hanekom M., van der Spuy G.D., Streicher E. et al. A recently evolved sublineage of the *Mycobacterium tuberculosis* Beijing family is associated with an increased ability to spread and cause disease // J. Clin. Microbiol. – 2007. – Vol. 45, N 5. – P. 1483-1490.
- [77] Kong Y., Cave M.D., Zhang L. et al. Population-based study of deletions in five different genomic regions of *Mycobacterium tuberculosis* and possible clinical relevance of the deletions // J. Clin. Microbiol. – 2006. – Vol. 44. – P. 3940-3946.
- [78] Drobniewski F., Balabanova Y., Nikolayevsky V. et al. Drug-resistant tuberculosis, clinical virulence, and the dominance of the Beijing strain family in Russia // JAMA. – 2005. – Vol. 293. – P. 2726-2731.
- [79] Tsolaki A.G., Gagneux S., Pym A.S. et al. Genomic deletions classify the Beijing/W strains as a distinct genetic lineage of *Mycobacterium tuberculosis* // J. Clin. Microbiol. – 2005. – Vol. 43. – P. 3185-3191.
- [80] Anh D., Borgdorf M.W., Van L.N. et al. *Mycobacterium tuberculosis* Beijing genotype emerging in Vietnam // Emerg. Infect. Dis. – 2000. – Vol. 6. – P. 302-305.
- [81] Diaz R., Kremer K., de Haas P.E. et al. 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. – Vol. 2. – P. 743-750.
- [82] Van Solingen, D., L. Qian, P.E.W. de Haas et al. Predominance of a single genotype of *M. tuberculosis* in countries of East Asia // J. Clin. Microbiol. – 1995. – Vol. 33. – P. 3234-3238.
- [83] Lopez B., Aguilar D., Orozko H. et al. A marked difference in pathogenesis and immune response induced by different *Mycobacterium tuberculosis* genotypes // Clin. Exp. Immunol. – 2003. – Vol. 133. – P. 30-37.
- [84] Van Crevel R., Nelwan R.H., de Lenne W. et al. *Mycobacterium tuberculosis* Beijing genotype strains associated with febrile response to treatment // Emerg. Infect. Dis. – 2001. – Vol. 7. – P. 880-883.
- [85] Borgdorf M.W., van Deutekom H., de Haas P.E. et al. *Mycobacterium tuberculosis*, Beijing genotype strains not associated with radiological presentation of pulmonary tuberculosis // Tuberculosis (Edinburg). – 2004. – Vol. 84. – P. 337-340.
- [86] Sun Y.J., Lim T.K., Ong A.K. et al. Tuberculosis associated with *Mycobacterium tuberculosis* Beijing and non-Beijing genotypes: a clinical and immunological comparison // BMC Infect. Dis. – 2006. – Vol. 6. – P. 105.
- [87] Hanekom M., van der Spuy G.D., Gey N.C. et al. Evidence that the spread of *Mycobacterium tuberculosis* strains with the Beijing genotypes human population dependent // J. Clin. Microbiol. – 2007. – Vol. 45, N 7. – P. 2263-2266.
- [88] Сапожникова Н.В. Особенности течения туберкулеза легких в зависимости от биологических свойств возбудителя: Автореф. ... канд. мед. наук. – СПб., 2003.
- [89] Zhang M., Gong I., Yang Z. et al. Enhanced capacity of a widespread strain of *Mycobacterium tuberculosis* to grow in human macrophages // J. Infect. Dis. – 1999. – Vol. 179. – P. 1213-1217.
- [90] Маничева О.А., Ласунская Е.Б., Журавлев В.Ю. и др. Лекарственная чувствительность *Mycobacterium tuberculosis* в сопоставлении с их жизнеспособностью, цитотоксичностью, генотипом и течением процесса у больных туберкулезом органов дыхания // Пробл. туберк. и болезней легких. – 2008. – № 2. – С. 18-21.
- [91] Rad M.E., Bifani P., Martin C. et al. Mutations in putative mutator genes of *Mycobacterium tuberculosis* strains of the W-Beijing family // Emerg. Infect. Dis. – 2003. – Vol. 9. – P. 838-845.
- [92] Shafer RW, Singh SP, Larkin C, Small PM. Exogenous reinfection with multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* in an immunocompetent patient // Tubercle and Lung Disease. – 1995. – Vol. 76. – P. 575-577.
- [93] Coronado V.G., Beck-Sague C.M., Hutton M.D. et al. Transmission of multidrug-resistant *M. tuberculosis* among persons with human immunodeficiency virus infection in an urban hospital: epidemiologic and restriction fragment length polymorphism analysis // J. Infect. Dis. – 1993. – Vol. 168. – P. 1052-1055.
- [94] Small P.M., Shafer R.W., Hopewell P.C. et al. Exogenous reinfection with multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* in patients with advanced HIV infection // New Engl. J. Med. – 1993. – Vol. 328. – P. 1137-1144.

- [95] Small P., Embden J. Molecular epidemiology of tuberculosis /B. Bloom (Ed.) Tuberculosis: Pathogenesis, Protection and Control. – Washington D.C.: ASM press, 1994. – P. 569-582.
- [96] vanRie A., Warren R., Richardson M. et al. Exogenous reinfection as a cause of recurrent tuberculosis after curative treatment // *New Engl. J. Med.* – 1999. – Vol. 341. – P. 1174-1179.
- [97] Bandera A., Gori A., Catozzi L., et al. Molecular epidemiology study of exogenous reinfection in an area with a low incidence of tuberculosis // *J. Clin. Microbiol.* – 2000. – Vol. 39. – P. 2213-2218.
- [98] Marchal G. Recently transmitted tuberculosis is more frequent than reactivation of latent infection // *Int. J. Tuberc. Lung Dis.* – 1997. – Vol. 1. – P. 132-136.
- [99] Pfyffer G.E., Strassle A., Rose N. et al. Transmission of tuberculosis in the metropolitan area of Zurich: a 3 year survey based on DNA fingerprinting // *European Resp. J.* – 1998. – Vol. 11. – P. 804-808.
- [100] Glynn J.R., Vynnycky E., Fine P.E. Influence of sampling on estimates of clustering and recent transmission of *Mycobacterium tuberculosis* derived from DNA fingerprinting techniques // *Amer. J. Epidemiol.* – 1999. – Vol. 149. – P. 366-371.
- [101] Inigo J., Arce A., Palenque E. et al. Decreased tuberculosis incidence and declining clustered case rates, Madrid // *Emerg Infect Dis.* – 2008. – Vol. 14, N 10. – P. 1641-1643.
- [102] Gutierrez M., Vincent V., Aubert D. et al. Molecular fingerprinting of *M.tuberculosis* and risk factors for tuberculosis transmission in Paris, France, and surrounding area // *J. Clin. Microbiol.* – 1998. – Vol. 36. – P. 486-492.
- [103] VanDeutekom H., Gerritsen J., VanSolingen D. et al. A molecular epidemiological approach to studying the transmission of tuberculosis in Amsterdam // *Clin. Infect. Dis.* – 1997. – Vol. 25. – P. 1071-1077.
- [104] Chaves F., Drona F., Cave M. et al. A longitudinal study of transmission of tuberculosis in a large prison population // *Amer. J. Respir. Crit. Care Med.* – 1997. – Vol. 155. – P. 719-725.
- [105] Strassle A., Putnik J., Weber R. et al. Molecular epidemiology of *M.tuberculosis* strains isolated from patients in a HIV cohort in Switzerland // *J. Clin. Microbiol.* – 1997. – Vol. 35. – P. 374-378.
- [106] Horgen L., Sola C., Devallois A. et al. Follow up of *M.tuberculosis* transmission in the French West Indies by IS6110-DNA fingerprinting and DR-based spoligotyping. *FEMS // Immunol. Med. Microbiol.* – 1998. – Vol. 21. – P. 203-212.
- [107] DeRamos C., Soini H., Roscanni G. Extensive cross-contamination of specimens with *M.tuberculosis* in a reference laboratory // *J. Clin. Microbiol.* – 1999. – Vol. 37. – P. 916-919.
- [108] Francisc C., McNeerney R., Preston M. D., Guerra-Assunção J. A., Warry A. et al. Genome Medicine (2015) 7:51 DOI 10.1186/s13073-015-0164-0 Rapid determination of anti-tuberculosis drug resistance from whole-genome sequences
- [109] Köser C.U., Ellington M.J., Cartwright E.J.P., Gillespie S.H., Brown N.M., Farrington M., et al. Routine use of microbial whole genome sequencing in diagnostic and public health microbiology. *PLoS Pathog.* 2012; 8: e1002824.
- [110] Outhred A.C., Jelfs P., Suliman B., Hill-Cawthorne G., Crawford A.B.H., Marais B.J., et al. Added value of whole-genome sequencing for management of highly drug-resistant TB. *J Antimicrob Chemother.* 2014; 1–5.
- [111] Köser C.U., Bryant J.M., Becq J., Török M.E., Ellington M.J., Marti-Renom M.A., et al. Whole-genome sequencing for rapid susceptibility testing of *M. tuberculosis*. *N Engl J Med.* 2013; 369:290–2.
- [112] Witney A., Gould K., Arnold A., Coleman D., Delgado R., Dhillon J., et al. Clinical application of whole genome sequencing to inform treatment for multidrug resistant tuberculosis cases. *J Clin Microbiol.* 2015;53:1473–83.
- [113] Food US, Administration D. Xpert MTB/RIF assay 510(k) decision summary. Silver Spring, MD: US FDA; 2013 [http://www.accessdata.fda.gov/cdrh\\_docs/reviews/k131706.pdf](http://www.accessdata.fda.gov/cdrh_docs/reviews/k131706.pdf)
- [114] Ling D.I., Zwerling A.A., Pai M. GenoType MTBDR assays for the diagnosis of multidrug-resistant tuberculosis: a meta-analysis. *Eur Respir J.* 2008;32:1165–74.
- [115] Ajbani K., Nikam C., Kazi M., Gray C., Boehme C., Balan K., et al. Evaluation of genotype MTBDRsl assay to detect drug resistance associated with fluoroquinolones, aminoglycosides and ethambutol on clinical sediments. *PLoS One.* 2012; 7: e49433.
- [116] Jin J., Shen Y., Fan X., Diao N., Wang F., Wang S., et al. Underestimation of the resistance of *Mycobacterium tuberculosis* to second-line drugs by the new GenoType MTBDRsl test. *J Mol Diagn.* 2013; 15: 44–50.
- [117] Sandgren A., Strong M., Muthukrishnan P., Weiner B.K., Church G.M., Murray M.B. Tuberculosis drug resistance mutation database. *PLoS Med.* 2009; 6: e1000002.
- [118] Flandrois J.-P., Lina G., Dumitrescu O. MUBII-TB-DB: a database of mutations associated with antibiotic resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. *BMC Bioinformatics.* 2014; 15: 107.
- [119] Feuerriegel S., Köser C.U., Niemann S. Phylogenetic polymorphisms in antibiotic resistance genes of the *Mycobacterium tuberculosis* complex. *J Antimicrob Chemother.* 2014; 69: 1205–10.
- [120] Coll F., McNeerney R., Guerra-Assunção J.A., Glynn J.R., Perdigão J., Viveiros M., et al. A robust SNP barcode for typing *Mycobacterium tuberculosis* complex strains. *Nat Commun.* 2014; 5 :4812.
- [121] The mutation library used by the TB Profiler tool. [<http://pathogenseq.lshtm.ac.uk/rapidrrdata>]
- [122] Krzywinski M., Schein J., Birol I., Connors J., Gascoyne R., Horsman D., et al. Circos: an information aesthetic for comparative genomics. *Genome Res.* 2009; 19: 1639–45.

## REFERENCES

- [1] Shinnik T., Good R. *Mycobacterium* taxonomy // *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 1994. Vol. 13. P. 884-901.
- [2] Van Soolingen D., Hoogenboezem T., P.E.W. de Baas et al. A novel pathogenic taxon of the *Mycobacterium tuberculosis* complex, *canettii*, characterization of an exceptional isolate from Africa // *Int. J. Syst. Bacteriol.* 1997. Vol. 47. P. 1236-1245.
- [3] Imeada T. Deoxyribonucleic acid relatedness among selected strains of *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium bovis*, *Mycobacterium bovis* BCG, *Mycobacterium microti*, and *Mycobacterium africanum* // *Int. J. Syst. Bacteriol.* 1985. Vol. 35. P. 147-150.

- [4] Pinsi G., Signori C., Gelmi M. et al. Gas chromatographic assay of cellular fatty acids and alcohols for the identification of mycobacterium species // *New Microbiol.* 1999. N 22. P. 151-154.
- [5] Butler W.R., Guthertz L.S. Mycolic acids analysis by high-performance liquid chromatography for identification of Mycobacterium species // *Clin. Microbiol. Rev.* Vol. 14. P. 704-726.
- [6] Covert T.C., Rodgers M.R. // *Appl. Environ. Microbiol.* 1999. Vol. 65, N 6. P. 2492-2496.
- [7] Zhdanov V.M. *Jevolucija zaraznyh boleznej cheloveka. M.: Medicina, 1964. 364 s.*
- [8] Brosch R., S. V. Gordon, M. Marmiesse, et al. A new evolutionary scenario for the Mycobacterium tuberculosis complex // *Proc Natl AcadSci USA.* 2002. N 99. P. 3684-3689.
- [9] Sola C., Filliol I., Gutierrez M.C. et al. Spoligotype database of Mycobacterium tuberculosis: Biogeographic distribution of shared types and epidemiologic and phylogenetic perspectives // *Emerging infectious Diseases.* – 2001. Vol. 7, N 3. P. 390.
- [10] van Rei A., Warren R., Richardson M. et al. Exogenous reinfection as a cause of recurrent tuberculosis after curative treatment // *N. Engl. J. Med.* 1999. Vol. 341, N 16. P. 1174-1179.
- [11] Cole S., Brosch R., Parkhill J. et al. Deciphering the biology of M.tuberculosis from the complete genome sequence // *Nature.* – 1998. Vol. 393. P. 537-544.
- [12] Shaginjan I.A., Nesterenko L.N., Grishina T.D. i dr. Issledovanie genomnogo polimorfizma shtammov M.tuberculosis // *Zhurn. mikrobiol.* 1996. № 3. S. 65-68.
- [13] Kremer K., Arnold C., Cataldi et al. Discriminatory power and reproducibility of novel DNA typing methods for Mycobacterium tuberculosis Complex strains // *J. Clin. Microbiol.* 2005. Vol. 43. P. 5628-5638.
- [14] Eisenach K.D., Crawford J.T., Bates J.H. Genetic relatedness among strains of the Mycobacterium tuberculosis complex: analysis of restriction fragment heterogeneity using cloned DNA probes // *Am. Rev. Respir. Dis.* 1986. Vol. 133. P. 1065-1068.
- [15] Frothingham R., Meeker-O'Connell W. Genetic diversity in the Mycobacterium tuberculosis complex based on variable number of tandem DNA repeats // *Microbiology.* 1998. Vol. 144. P. 1189-1196.
- [16] Kamerbeek J., Schouls A., Kolk M. et al. Simultaneous detection and strain differentiation of M.tuberculosis for diagnosis and epidemiology // *J. Clin. Microbiol.* 1997. Vol. 35. P. 907-914.
- [17] Thierry D., Brisson-Noel A., Vincent-Levy-Frebault V. et al. Characterisation of a M.tuberculosis insertion sequence, IS6110, and its application in diagnosis // *J. Clin. Microbiol.* 1990. Vol. 28. P. 2668-2673.
- [18] J.D.A. van Embden, Cave M.D., Crawford J.T. et al. Strain identification of Mycobacterium tuberculosis by DNA fingerprinting: Recommendations for standardized methodology // *J. Clin. Microbiol.* 1993. Vol. 14. P. 406-409.
- [19] Kremer K., van Soolingen R., Frothingham R. et al. Comparison of methods based on different molecular epidemiological markers for typing of M.tuberculosis complex strains; interlaboratory study of discriminatory power and reproducibility // *J. Clin. Microbiol.* 1999. Vol. 37. P. 2715-2716.
- [20] Barnes P.F., Cave M.D. Molecular epidemiology of tuberculosis // *New Engl. J. Med.* 2003. Vol. 349. P. 1149-1156.
- [21] Brudey K., Driscoll J.R., Rigouts L. et al. Mycobacterium tuberculosis complex genetic diversity: mining the fourth international spoligotyping database (SpolDB4) for classification, population genetics and epidemiology // *BMC Microbiol.* 2006. Vol. 6: 23. 17 p.
- [22] Bishai W., Graham N.M., Harrington S. et al. Molecular and geographic patterns of tuberculosis transmission after 15 years of directly observed therapy // *JAMA.* 1998. Vol. 280, N 19. P. 1679-1684.
- [23] Van Soolingen, Borgdoff M., de Haas P.E.W. et al. Molecular epidemiology of tuberculosis in the Netherlands: a nationwide study from 1993 through 1997 // *J. Infect. Dis.* 1999. Vol. 180, N 30. P. 726-736.
- [24] Beck-sague C.S., Dooley S.W., Hutton M.D. et al. Hospital outbreak of multidrug-resistant Mycobacterium tuberculosis infections. Factors in transmission to staff and HIV-infected patients // *JAMA.* 1992. Vol. 268. –P. 1280-1286.
- [25] Gascoyne-Binzi D.M., Barlow R.E., Frothingham R. et al. Rapid identification of laboratory contamination with Mycobacterium tuberculosis using variable number tandem repeat analysis // *J. Clin. Microbiol.* 2001. Vol. 39, N 1. P. 69-74.
- [26] van Soolingen D., Hermans P., de Haas P.E.W. et al. The occurrence and stability of insertion sequences in M.tuberculosis complex strains: evaluation of insertion-sequences-dependent DNA polymorphism as a tool in the epidemiology of tuberculosis // *J. Clin. Microbiol.* 1991. Vol. 29. P. 2578-2586.
- [27] <http://genolist.pasteur.fr/Tubercul.ist>, [http://www.sanger.ac.uk/Projects/M\\_tuberculosis/](http://www.sanger.ac.uk/Projects/M_tuberculosis/)
- [28] Kirschner P., Springer B., Vogel U. et al. Genotypic identification of mycobacteria by nucleic acid sequence determination: report of a 2-year experience in a clinical laboratory // *J. Clin. Microbiol.* 1993. Vol. 31. P. 2882-2889.
- [29] Shaginjan I.A. *Genomnyj polimorfizm v jepidemiologicheskom analize baktrial'nyh infekcij: Avtoref. ... dokt. med. nauk. M., 1995. 48 s.*
- [30] Cave M., Eisenach K., McDermott P. et al. IS6110: conservation of sequence in the M.tuberculosis complex and its utilization in DNA fingerprinting // *Mol. Cell. Probes.* 1991. Vol. 5. P. 73-80.
- [31] McAdam R., Hermans P., van Soolingen et al. Characterization of M.tuberculosis Insertion sequence belonging to the IS3 family // *Mol. Microbiol.* 1990. Vol. 4. P. 1607-1613.
- [32] Glynn J.R., Whiteley J., Bifani P.J. et al. Worldwide occurrence of Beijing/W strains of Mycobacterium tuberculosis: a systematic review // *Emerging infectious Diseases.* 2002. Vol. 8, N 8. P. 843-849.
- [33] Alito A., Moreillo N., Scipioni S. et al. The IS6110 restriction fragment length polymorphism in particular multidrug-resistant M.tuberculosis strains may evolve too fast for reliable use in outbreak investigation // *J. Clin. Microbiol.* 1999. Vol. 37. P. 788-791.
- [34] Gillespie S., Dickens A. and McHugh T. False molecular clusters due to nonrandom association of IS6110 with M.tuberculosis // *J. Clin. Microbiol.* 2000. Vol. 38. P. 2081-2086.
- [35] Mokrousov I., Jiao W.W., Valcheva V. et al. Rapid detection of the Mycobacterium tuberculosis Beijing genotype and its ancient and modern sub-lineages by IS6110-based inverse PCR // *J. Clin. Microbiol.* 2006. Vol. 44. P. 2851-2856.

- [36] Cronin W.A., Golub J.E., Magderetal L.S. Epidemiological usefulness of spoligotyping for secondary typing of *Mycobacterium tuberculosis* isolates with low copy number of IS6110 // *J. Clin. Microbiol.* 2001. Vol. 39. P. 3709-3711.
- [37] Van Embden J.D.A., van Gorkom., Kremer K. et al. Genetic variation and evolutionary origin of direct repeat locus of *Mycobacterium tuberculosis* complex bacteria // *Journal of Bacteriology.* 2000. Vol. 182, N 9. P. 2393-2401.
- [38] Salmoniere Y., Li H., Torrea G. et al. Evaluation of spoligotyping in a study of the transmission of *M.tuberculosis* // *J. Clin. Microbiol.* 1997. Vol. 35. P. 2210-2214.
- [39] Niemann S., Richter E., Rusch-Gerdes S. Stability of *M.tuberculosis* IS6110 restriction fragment length polymorphism patterns and spoligotypes determined by analyzing serial isolates from patients with drug-resistant tuberculosis // *J. Clin. Microbiol.* 1999. Vol. 37. P. 409-412.
- [40] Mazars E., Lesjean S., Gilbert M. et al. High-resolution minisatellite-based typing as a portable approach to global analysis of *Mycobacterium tuberculosis* molecular epidemiology // *PNAS.* 2001. Vol. 98, N 4. P. 1901-1906.
- [41] Kinsht V.N. Molekuljarno-jepidemiologičeskij analiz shtammov *Mycobacterium tuberculosis*, cirkulirujushih v Zapadnosibirskom regione: Avtořef. ... kand. med. nauk. Novosibirsk, 2002. 21 s.
- [42] Surikova O.V., Vojtih D.V., Kuz'micheva G.A. i dr. Diferenciacija mikobakterij tuberkuleza semejstva W-Beijing, rasprostranennyh na territorii Rossijskoj Federacii, na osnove VNTR-tipirovanija // *Molekuljarnaja genetika, mikrobiologija i virusologija.* 2005. № 3. S. 22-29.
- [43] Sola C., I. Filliol, E. Legrand et al. Genotyping of the *Mycobacterium tuberculosis* complex using MIRUs: association with VNTR and spoligotyping for molecular epidemiology and evolutionary genetics // *Infection, Genetics and Evolution.* 2003. N 3. P. 125-133.
- [44] Gopaul K.K., Brown T.J., Gibsonetal A.L. Progression toward an improved DNA amplification-based typing technique in the study of *Mycobacterium tuberculosis* epidemiology // *J. Clin. Microbiol.* 2006. Vol. 44, N 7. P. 2492-2498.
- [45] Van Deutekom, Supply P., P.E. de Haas et al. Molecular typing of *Mycobacterium tuberculosis* by mycobacterial interspersed repetitive unit-variable-number tandem repeat analysis, a more accurate method for identifying epidemiological links between patients with tuberculosis // *J. Clin. Microbiol.* 2005. Vol. 43. P. 4473-4479.
- [46] Cowan L.S., Diem L., Monson T. et al. Evaluation of a two-step approach for large-scale, prospective genotyping of *Mycobacterium tuberculosis* isolates in the United States // *J. Clin. Microbiol.* 2005. Vol. 43. P. 688-695.
- [47] Allix-Beguec C., Fauville-Dufaux M., Supply P. Three-year population-based evaluation of standardized *Mycobacterial Interspersed Repetitive-Unit-Variable-Number Tandem-Repeat Typing of Mycobacterium tuberculosis* // *J. Clin. Microbiol.* 2008. Vol. 46, N 4. P. 1398-1406.
- [48] Wild I., Werely C., Beyers N. et al. Oligonucleotide (GTG)<sub>5</sub> as a marker for strain identification in *M.tuberculosis* // *J. Clin. Microbiol.* 1994. Vol. 32. P. 1318-1321.
- [49] Crawford J.T., Braden C.R., Schable B.A., Onorato I.M. National Tuberculosis Genotyping and Surveillance Network: design and methods // *Emerg. Infect. Dis.* 2002. Vol. 8. P. 1192-1196.
- [50] Fraser C.M., Eisen J. // *Emerg. Infect. Dis.* 2000. Vol. 6. P. 505-512.
- [51] Skuce R.A., McCorry T.P., McCarroll J.F. et al. Discrimination of *Mycobacterium tuberculosis* complex bacteria using novel VNTR-PCR targets // *Micribiology.* 2002. Vol. 148. P. 519-528.
- [52] Scott A.N., Menzies D., Tannebaum T. et al. Sensitivities and specificities of spoligotyping and mycobacterial interspersed repetitive unit-variable-number tandem repeat typing methods for studying molecular epidemiology of tuberculosis // *J. Clin. Microbiol.* 2005. Vol. 43. P. 89-94.
- [53] Supply F., Allix C., Lesjean S. et al. Proposal for standardization of optimized *Mycobacterial Interspersed Repetitive Unit-Variable-Number Tandem Repeat Typing of Mycobacterium tuberculosis* // *J. Clin. Microbiol.* 2006. Vol. 44, N 12. P. 4498-4510.
- [54] Oelemann M.C., Diel R., Vatin V. et al. Assessment of an optimized *Mycobacterial Interspersed Repetitive Unit-Variable-Number Tandem Repeat Typing* system combined with spoligotyping for population-based molecular epidemiology studies of tuberculosis // *J. Clin. Microbiol.* 2007. Vol. 45, N 3. P. 691-697.
- [55] Allix C., Supply P., Fauville-Dufaux M. Utility of fast *Mycobacterial Interspersed Repetitive Unit-Variable-Number Tandem Repeat* genotyping in mycobacteriological analysis // *Clin. Infect. Dis.* 2004. Vol. 39. P. 783-789.
- [56] Sola C., Horgen L., Maisetti J. et al. Spoligotyping followed by double-repetitive PCR as rapid alternative to IS6110 fingerprinting for epidemiological studies of tuberculosis // *J. Clin. Microbiol.* 1998. Vol. 36. P. 1122-1124.
- [57] Filipenko M.L., Norkina O.V., Nikonova A.A. i dr. Genotipirovanie izoljatov *M.tuberculosis* v Sibirskom regione // *Problemy infekcionnoj patologii v regionah Sibiri, Dal'nego Vostoka i Krajnego Severa: tezisy dokladov Vtoroj nauchnoj konferencii s mezhdunarodnym uchastiem.* Novosibirsk, 2002. 194 s.
- [58] Garsiade Viedma D. Rapiddetectionofresistancein*Mycobacteriumtuberculosis*: areviewdiscussingmolecularapproaches // *Clin. Microbiol. Infect.* 2003. Vol. 9, N 5. P. 349-359.
- [59] Bodmer T., Zurcher G., Imboden P., Telenti A. Mutation position and type of substitution in the  $\beta$ -subunit of the RNA polymerase influence in-vitro activity of rifamycinsinrifampicin-resistant *Mycobacterium tuberculosis* // *J. Antimicrob. Chemother.* 1995. Vol. 35. P. 345-348.
- [60] Mathema B., Kurepina N.E., Bifani P.J., Kreiswirth B.N. Molecular epidemiology of tuberculosis: current insights // *Clin. Microbiol. Rev.* 2006. Vol. 19, N 4. P. 658-685.
- [61] Qian L., van Embden J.D., Zanden A.G. et al. Retrospective analysis of the Beijingfamily of *Mycobacterium tuberculosis* in preservedlungtissues // *J. Clin. Microbiol.* 1999. Vol.37(2). P. 471-474.
- [62] FilliolI., DriscollJ.R., vanSoolingenD. etal. Snapshot of moving and expanding clones of *Mycobacterium tuberculosis* and their global distribution assessed by spoligotyping in an international study // *J. Clin. Microbiol.* 2003. Vol. 41(5). P. 1963-1970.
- [63] Alland D., Kakut G., Moss A. et al. Transmission of tuberculosis in NewYorkCity. Ananalysis of by DNA fingerprinting and conventional epidemiological methods // *N. Engl. J. Med.* 1994. Vol. 330. P. 1710-1716.

- [64] Hermans P.V., Messadi F., Guebrexabher H. et al. Analysis of the population structure of *Mycobacterium tuberculosis* in Ephiopia, Tunisia, and the Netherlands: usefulness of DNA typing for global tuberculosis epidemiology // *J. Infect. Dis.* 1995. Vol. 171. P. 1504-1513.
- [65] Van Solingen D., L. Qian, P.E.W. de Haas, et al. Predominance of a single genotype of *M.tuberculosis* in countries of East Asia // *J. Clin. Microbiol.* 1995. Vol. 33. P. 3234-3238.
- [66] European concerted action on new generation genetic markers and techniques for the epidemiology and control of tuberculosis. Beijing / Wgenotype *Mycobacteriumtuberculosis* and drugresistance // *Emerg. Infect. Dis.* 2006. Vol. 12, N 5. P. 736-743.
- [67] Bifani P.J.; Mathema B., Kurepina N.E., Kreiswirth B.N. Global dissemination of the *Mycobacterium tuberculosis* W-Beijingfamilystrains // *Trends Microbiol.* 2002. Vol. 10. P. 45-52.
- [68] Andreevskaja S.N., Chernousova L.N., Smirnova T.G. i dr. Transmissija shtammov mikobakterij tuberkuleza, obuslovlennaja migracionnymi processami v Rossijskoj Federacii (na primere migracii naselenija iz Kavkazskogo regiona v Moskvu i Moskovskuju oblast') // *Probl. tub.* 2006. № 1. S. 29-35.
- [69] Balabanova Ja.M., Nikolaevskij V.V., Radi M. i dr. Preobladanie shtammov *Mycobacteriumtuberculosis* semejstva Beijing i faktory riska ih transmissii v Samarskoj oblasti // *Probl. tub.* 2006. № 2. S. 31-37.
- [70] Narvskaja O.V. Genomnyj polimorfizm *Mycobacteriumtuberculosis* i ego znachenie v jepidemicheskom processe: Avtoref. ... dokt. med. nauk. SPb., 2003. 35 s.
- [71] Tounousova O.S., Mariandyshev A., Bjune G. et al. Molecularepidemiology and drugresistance of *Mycobacterium tuberculosis* isolates in the Archangel prison in Russia: predominance of the W-Beijing clone Family // *Clin. Infect. Dis.* 2003. Vol. 37. P. 665-672.
- [72] Kruumer A., Hoffner S.E., Sillastu H. et al. Spread of drug-resistant pulmonary tuberculosis in Estonia // *J. Clin. Microbiol.* 2001. Vol. 39. P. 3339-3345.
- [73] Agerton T., Valway S., Gore B. et al. Transmission of a highly drug-resistant strain of *M.tuberculosis* (strain W1): community outbreak and nosocomial transmission via contaminated bronchoscope // *JAMA.* 1997. Vol. 278. P. 1073-1077.
- [74] Agerton T., Valway S., Blinkhoun R. et al. Spread of strain W, a highly drug resistant strain of *M.tuberculosis*, across the United States // *Clin. Infect. Dis.* 1999. Vol. 29. P. 85-95.
- [75] Mokrousov I., Ly H.M., Otten T. et al. Origin and primarydispersal of the *Mycobacteriumtuberculosis* Beijinggenotype: cluesfromhumanphylogeography // *Genom Res.* 2005. Vol.15(10). P. 1357-1364.
- [76] Hanekom M., van der Spuy G.D., Streicher E. et al. A recently evolved sublineage of the *Mycobacterium tuberculosis* Beijingfamily is associated with an increased ability to spread and cause disease // *J. Clin. Microbiol.* 2007. Vol. 45, N 5. P. 1483-1490.
- [77] Kong Y., Cave M.D., Zhang L. et al. Population-based study of deletionsinfive differentgenomicregions of *Mycobacterium tuberculosis* and possibleclinical relevance of the deletions // *J. Clin. Microbiol.* 2006. Vol. 44. P. 3940-3946.
- [78] Drobniowski F., Balabanova Y., Nikolayevsky V. et al. Drug-resistant tuberculosis, clinical virulence, and the dominance of the Beijing strain family in Russia // *JAMA.* 2005. Vol. 293. P. 2726-2731.
- [79] Tsolaki A.G., Gagneux S., Pym A.S. et al. Genomic deletions classify the Beijing/W strains as a distinct genetic lineage of *Mycobacteriumtuberculosis* // *J. Clin. Microbiol.* 2005. Vol. 43. P. 3185-3191.
- [80] Anh D., Borgdorf M.W., Van L.N. et al. *Mycobacterium tuberculosis* Beijinggenotypeemergingin Vietnam // *Emerg. Infect. Dis.* 2000. Vol. 6. P. 302-305.
- [81] Diaz R., Kremer K., de Haas P.E. et al. 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. Vol. 2. P. 743-750.
- [82] Van Solingen, D., L. Qian, P.E.W. de Haas et al. Predominance of a single genotype of *M.tuberculosis* in countries of East Asia // *J. Clin. Microbiol.* 1995. Vol. 33. P. 3234-3238.
- [83] Lopez B., Aguilar D., Orozko H. et al. A marked difference in pathogenesis and immune response indused by different *Mycobacterium tuberculosis* genotypes // *Clin. Exp. Immunol.* 2003. Vol. 133. P. 30-37.
- [84] Van Crevel R., Nelwan R.H., de Lenne W. et al. *Mycobacterium tuberculosis* Beijing genotype strains associated with febrile response to treatment // *Emerg. Infect. Dis.* 2001. Vol. 7. P. 880-883.
- [85] Borgdorf M.W., van Deutekom H., de Haas P.E. et al. *Mycobacteriumtuberculosis*, Beijinggeno types trains notaasociated with radiological presentation of pulmonary tuberculosis // *Tuberculosis (Edinburg).* 2004. Vol. 84. P. 337-340.
- [86] Sun Y.J., Lim T.K., Ong A.K. et al. Tuberculosis associated with *Mycobacteriumtuberculosis* Beijing and non- Beijing genotypes: a clinical and immunological comparison // *BMC Infect. Dis.* 2006. Vol. 6. P. 105.
- [87] Hanekom M., van der Spuy G.D., Gey N.C. et al. Evidence that the spread of *Mycobacterium tuberculosis* strains with the Beijing genotypes human population dependent // *J. Clin. Microbiol.* 2007. Vol. 45, N 7. P. 2263-2266.
- [88] Sapozhnikova N.V. Osobennosti techenija tuberkuleza legkih v zavisimosti ot biologicheskikh svojstv vozбудitelja: Avtoref. ... kand. med. nauk. SPb., 2003.
- [89] Zhang M., Gong I., Yang Z. et al. Enhanced capacity of a widespread strain of *Mycobacterium tuberculosis* to grow in human macrophages // *J. Infect. Dis.* 1999. Vol. 179. P. 1213-1217.
- [90] Manicheva O.A., Lasunskaja E.B., Zhuravlev V.Ju. i dr. Lekarstvennaja chuvstvitel'nost' *Mycobacteriumtuberculosis* v sopostavlenii s ih zhiznesposobnosot'ju, citotoksichnost'ju, genotipom i techeniem processa u bol'nyh tuberkulezom organov dyhanija // *Probl. tuberk. i boleznej legkih.* 2008. № 2. S. 18-21.
- [91] Rad M.E., Bifani P., Martin C. et al. Mutationsinputativemutatorgenes of *Mycobacterium tuberculosis* strains of the W-Beijing family // *Emerg. Infect. Dis.* 2003. Vol. 9. P. 838-845.
- [92] Shafer RW, Singh SP, Larkin C, Small PM. Exogenous reinfection with multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* in an immunocompetent patient // *Tubercle and Lung Disease.* 1995. Vol. 76. P. 575-577.

- [93] Coronado V.G., Beck-Sague C.M., Hutton M.D. et al. Transmissin of multidrugresistant *M.tuberculosis* among persons with human immunodeficiency virus infection in an urban hospital: epidemiologic and restriction fragment length polymorphism analysis // *J. Infect. Dis.* 1993. Vol. 168. P. 1052-1055.
- [94] Small P.M., Shafer R.W., Hopewell P.C. et al. Exogenous reinfection with multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* in patients with advanced HIV infection // *New Engl. J. Med.* 1993. Vol. 328. P. 1137-1144.
- [95] Small P., Embden J. Molecular epidemiology of tuberculosis /B. Bloom (Ed.) *Tuberculosis: Pathogenesis, Protection and Control.* – Washington D.C.: ASM press, 1994. – P. 569-582.
- [96] vanRie A., Warren R., Richardson M. et al. Exogenous reinfection as a cause of recurrent tuberculosis after curative treatment // *New Engl. J. Med.* 1999. Vol. 341. P. 1174-1179.
- [97] Bandera A., Gori A., Catozzi L., et al. Molecular epidemiology study of exogenous reinfection in an area with a low incidence of tuberculosis // *J. Clin. Microbiol.* 2000. Vol. 39. P. 2213-2218.
- [98] Marchal G. Recently transmitted tuberculosis is more frequent than reactivation of latent infection // *Int. J. Tuberc. Lung Dis.* 1997. Vol. 1. P. 132-136.
- [99] Pfyffer G.E., Strassle A., Rose N. et al. Transmission of tuberculosis in the metropolitan area of Zurich: a 3 year survey based on DNA fingerprinting // *European Resp. J.* 1998. Vol. 11. P. 804-808.
- [100] Glynn J.R., Vynnycky E., Fine P.E. Influence of sampling on estimates of clustering and recent transmission of *Mycobacterium tuberculosis* derived from DNA fingerprinting techniques // *Amer. J. Epidemiol.* 1999. Vol. 149. P. 366-371.
- [101] Inigo J., Arce A., Palenque E. et al. Decreased tuberculosis incidence and declining clustered case rates, Madrid // *Emerg Infect Dis.* 2008. Vol. 14, N 10. P. 1641-1643.
- [102] Gutierrez M., Vincent V., Aubert D. et al. Molecular fingerprinting of *M.tuberculosis* and risk factors for tuberculosis transmission in Paris, France, and surrounding area // *J. Clin. Microbiol.* 1998. Vol. 36. P. 486-492.
- [103] VanDeutekom H., Gerritsen J., VanSolingen D. et al. A molecularepidemiological approach to studying the transmission of tuberculosis in Amsterdam // *Clin. Infect. Dis.* 1997. Vol. 25. P. 1071-1077.
- [104] Chaves F., Drona F., Cave M. et al. A longitudinal study of transmission of tuberculosis in a large prison population // *Amer. J. Respir. Crit. Care Med.* 1997. Vol. 155. P. 719-725.
- [105] Strassle A., Putnik J., Weber R. et al. Molecular epidemiology of *M.tuberculosis* strains isolated from patients in a HIV cohort in Switzerland // *J. Clin. Microbiol.* 1997. Vol. 35. P. 374-378.
- [106] Horgen L., Sola C., Devallois A. et al. Follow up of *M.tuberculosis* transmission in the French West Ondles by IS6110-DNA fingerprinting and DR-based spoligotyping. *FEMS // Immunol. Med. Microbiol.* 1998. Vol. 21. P. 203-212.
- [107] DeRamos C., Soini H., Roscanni G. Extensive cross-contamination of specimens with *M.tuberculosis* in a reference laboratory // *J. Clin. Microbiol.* 1999. Vol. 37. P. 916-919.
- [108] Francesc C., McNerney R., Preston M. D., Guerra-Assunção J. A., Warry A. et al. *Genome Medicine* (2015) 7:51 DOI 10.1186/s13073-015-0164-0 Rapid determination of anti-tuberculosis drug resistance from whole-genome sequences
- [109] Köser C.U., Ellington M.J., Cartwright E.J.P., Gillespie S.H., Brown N.M., Farrington M., et al. Routine use of microbial whole genome sequencing in diagnostic and public health microbiology. *PLoS Pathog.* 2012; 8: e1002824.
- [110] Outhred A.C., Jelfs P., Suliman B., Hill-Cawthorne G., Crawford A.B.H., Marais B.J., et al. Added value of whole-genome sequencing for management of highly drug-resistant TB. *J Antimicrob Chemother.* 2014: 1–5.
- [111] Köser C.U., Bryant J.M., Becq J., Török M.E., Ellington M.J., Marti-Renom M.A., et al. Whole-genome sequencing for rapid susceptibility testing of *M. tuberculosis*. *N Engl J Med.* 2013; 369:290–2.
- [112] Witney A., Gould K., Arnold A., Coleman D., Delgado R., Dhillon J., et al. Clinical application of whole genome sequencing to inform treatment for multidrug resistant tuberculosis cases. *J Clin Microbiol.* 2015;53:1473–83.
- [113] Food US, Administration D. Xpert MTB/RIF assay 510(k) decision summary. Silver Spring, MD: US FDA; 2013 [http://www.accessdata.fda.gov/cdrh\\_docs/reviews/k131706.pdf](http://www.accessdata.fda.gov/cdrh_docs/reviews/k131706.pdf)
- [114] Ling D.I., Zwerling A.A., Pai M. GenoType MTBDR assays for the diagnosis of multidrug-resistant tuberculosis: a meta-analysis. *Eur Respir J.* 2008;32:1165–74.
- [115] Ajbani K., Nikam C., Kazi M., Gray C., Boehme C., Balan K., et al. Evaluation of genotype MTBDRsl assay to detect drug resistance associated with fluoroquinolones, aminoglycosides and ethambutol on clinical sediments. *PLoS One.* 2012; 7: e49433.
- [116] Jin J., Shen Y., Fan X., Diao N., Wang F., Wang S., et al. Underestimation of the resistance of *Mycobacterium tuberculosis* to second-line drugs by the new GenoType MTBDRsl test. *J Mol Diagn.* 2013; 15: 44–50.
- [117] Sandgren A., Strong M., Muthukrishnan P., Weiner B.K., Church G.M., Murray M.B. Tuberculosis drug resistance mutation database. *PLoS Med.* 2009; 6: e1000002.
- [118] Flandrois J.-P., Lina G., Dumitrescu O. MUBII-TB-DB: a database of mutations associated with antibiotic resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. *BMC Bioinformatics.* 2014; 15: 107.
- [119] Feuerriegel S., Köser C.U., Niemann S. Phylogenetic polymorphisms in antibiotic resistance genes of the *Mycobacterium tuberculosis* complex. *J Antimicrob Chemother.* 2014; 69: 1205–10.
- [120] Coll F., McNerney R., Guerra-Assunção J.A., Glynn J.R., Perdigo J., Viveiros M., et al. A robust SNP barcode for typing *Mycobacterium tuberculosis* complex strains. *Nat Commun.* 2014; 5 :4812.
- [121] The mutation library used by the TB Profiler tool. [<http://pathogenseq.lshtm.ac.uk/rapidrrdata>]
- [122] Krzywinski M., Schein J., Birol I., Connors J., Gascayne R., Horsman D., et al. Circos: an information aesthetic for comparative genomics. *Genome Res.* 2009; 19: 1639–45.

**Т. А. Муминов, Б. Т. Жакипбаева, А. Даулетбакова**

С. Д. Асфендияров атындағы Қазақ ұлттық медицина университеті, Алматы, Қазақстан

**ҚОЗДЫРҒЫШТЫ ГЕНЕТИКАЛЫҚ СИПАТТАУ ӘДІСТЕРІ ЖӘНЕ ОЛАРДЫҢ  
ТУБЕРКУЛЕЗ ЭПИДЕМИОЛОГИЯСЫ МЕН КЛИНИКАСЫНДАҒЫ МАҢЫЗДЫЛЫҒЫ  
(ӘДЕБИ ШОЛУ)**

**Аннотация.** Шолуда туберкулез микробактериясын генетикалық сипаттаудың заманауи әдістері мен олардың туберкулезге қатысты эпидемиологиялық және клиникалық зерттеулердегі маңыздылығына баға берілген. МБТ (IS6110-RFLP) хромосамасындағы ДНҚ-нің IS6110 көшірмелері саны мен мобильді реттіліктерінің таралуын талдауға негізделген геномдық дактилоскопия (фингепринтинг) немесе рестрикционды фрагменттер ұзындықтарының полиморфизмі әдісі мен сполиготиптеу әдістерін зерттеу, микобактериялар штаммдарын MIRU- мен VNTR-типтеу және олардың антибактериалды препараттарға тұрақтылығын тіркеу бойынша әдеби мәліметтер берілген.

**Түйін сөздер:** эпидемиология, туберкулез, саусақ іздері, талдау әдістері, ауру түрлері.

**Сведения об авторах:**

Муминов Т.А. – профессор кафедры физиопульмонологии Казахского национального медицинского университета им. С. Д. Асфендиярова, tamiminov@mail.ru

Жакипбаева Б.Т. – профессор кафедры эпидемиологии Казахского национального медицинского университета им. С. Д. Асфендиярова

Даулетбакова А. – ассистент кафедры эпидемиологии Казахского национального медицинского университета им. С. Д. Асфендиярова

---

---

## **Publication Ethics and Publication Malpractice in the journals of the National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan**

For information on Ethics in publishing and Ethical guidelines for journal publication see <http://www.elsevier.com/publishingethics> and <http://www.elsevier.com/journal-authors/ethics>.

Submission of an article to the National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan implies that the described work has not been published previously (except in the form of an abstract or as part of a published lecture or academic thesis or as an electronic preprint, see <http://www.elsevier.com/postingpolicy>), that it is not under consideration for publication elsewhere, that its publication is approved by all authors and tacitly or explicitly by the responsible authorities where the work was carried out, and that, if accepted, it will not be published elsewhere in the same form, in English or in any other language, including electronically without the written consent of the copyright-holder. In particular, translations into English of papers already published in another language are not accepted.

No other forms of scientific misconduct are allowed, such as plagiarism, falsification, fraudulent data, incorrect interpretation of other works, incorrect citations, etc. The National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan follows the Code of Conduct of the Committee on Publication Ethics (COPE), and follows the COPE Flowcharts for Resolving Cases of Suspected Misconduct ([http://publicationethics.org/files/u2/New\\_Code.pdf](http://publicationethics.org/files/u2/New_Code.pdf)). To verify originality, your article may be checked by the Cross Check originality detection service <http://www.elsevier.com/editors/plagdetect>.

The authors are obliged to participate in peer review process and be ready to provide corrections, clarifications, retractions and apologies when needed. All authors of a paper should have significantly contributed to the research.

The reviewers should provide objective judgments and should point out relevant published works which are not yet cited. Reviewed articles should be treated confidentially. The reviewers will be chosen in such a way that there is no conflict of interests with respect to the research, the authors and/or the research funders.

The editors have complete responsibility and authority to reject or accept a paper, and they will only accept a paper when reasonably certain. They will preserve anonymity of reviewers and promote publication of corrections, clarifications, retractions and apologies when needed. The acceptance of a paper automatically implies the copyright transfer to the National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan.

The Editorial Board of the National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan will monitor and safeguard publishing ethics.

Правила оформления статьи для публикации в журнале смотреть на сайте:

[www.nauka-nanrk.kz](http://www.nauka-nanrk.kz)

**ISSN 2518-1467 (Online), ISSN 1991-3494 (Print)**

<http://www.bulletin-science.kz/index.php/ru/>

Редакторы *М. С. Ахметова, Д. С. Аленов, Т. М. Апендиев*  
Верстка на компьютере *Д. Н. Калкабековой*

Подписано в печать 10.10.2017.

Формат 60x881/8. Бумага офсетная. Печать – ризограф.

15,4 п.л. Тираж 2000. Заказ 5.