

УДК 577.217.5:577.218

И.А. АХМЕТОЛЛАЕВ, Г.А. ИСМАГУЛОВА, Ю.А. СКИБА,  
Д.В. ВОЛКОВ, Н.А. ЮРКЕВИЧ, Н.А. АЙТХОЖИНА

## МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОЕ ТИПИРОВАНИЕ ШТАММОВ *Mycobacterium tuberculosis* ПО ЛОКУСАМ MIRU04, MIRU10, MIRU31

(ДГП «Институт молекулярной биологии и биохимии  
им. М.А. Айтхожина» РГП «Центр биологических исследований» КН МОН РК)

Проведен анализ 33 изолятов *M.tuberculosis* из разных регионов Казахстана по трем вариативным локусам MIRU04, MIRU10, MIRU31. Определены характерные особенности генотипов исследованных изолятов. Полученные результаты были сопоставлены с данными, представленными в мировых базах данных. В Казахстане подобные исследования по генотипированию изолятов *M.tuberculosis* ранее не проводились.

Полученные в ходе исследования данные необходимы для молекулярно-генетического мониторинга генотипов *M. tuberculosis* с целью эпидемиологического контроля, определения рецидивов и прогнозирования возникновения новых агрессивных генотипов обуславливающих высокую вирулентность и мульти устойчивость к целому ряду основных медикаментозных препаратов таким, как группа *M. tuberculosis* объединенная под общим названием W- Beijing.

Туберкулёз – хроническое инфекционное заболевание, вызываемое грамположительной бактерией *Mycobacterium tuberculosis*. Согласно данным последнего глобального мониторинга, треть мировой популяции заражена этим патогеном [1]. По данным ВОЗ, глобальная среднегодовая смертность, обусловленная туберкулезом, составляет около 2 млн. случаев. Несмотря на применение краткосрочной химиотерапии и вакцинации с помощью вакцины БЦЖ всё шире распространяется явление лекарственной устойчивости возбудителя ко многим противотуберкулёзным препаратам, и возникают новые генетические популяции.

Достижения молекулярной биологии в сочетании с успехами в области молекулярной генетики микобактерий позволили разработать способы надежной дифференцировки штаммов *Mycobacterium tuberculosis* (*M. tuberculosis*) на уровне хромосомной ДНК, которые существенно повышают эффективность микробиологической диагностики и эпидемиологических исследо-

ваний при туберкулезе. В настоящее время применяется множество экспериментальных подходов, позволяющих группировать штаммы *M. tuberculosis* согласно их геномным характеристикам и проводить определение неизвестного штамма, относя его к той или иной генотипической группе.

На сегодняшний день в литературных источниках описано множество молекулярно-биологических методов для генотипирования штаммов *M. tuberculosis*. Возможность генотипирования микобактерий туберкулезного комплекса с использованием в качестве характеристического признака количества tandemных микобактериальных повторов (variable number of tandem repeats, VNTR) была впервые продемонстрирована в 1998 году [2].

Ещё большее по сравнению с VNTR распространение получил усовершенствованный метод - MIRU-VNTR, в основе которого лежит амплификация локусов, содержащих микобактериальные рассеянные (по геному) повторяющиеся элементы (mycobacterial interspersed repetitive units, MIRU). В геноме *M. tuberculosis* обнаружен 41 содержащий подобные повторы локус, но только 12 из них полиморфны в популяции и применимы в качестве маркеров. Комбинирование MIRU-VNTR и сполиготипирования с RFLP позволяет применять их для решения задач эволюционной генетики туберкулеза [3]. В настоящее время существует точка зрения, согласно которой MIRU-VNTR является лучшим из методов молекулярно-генетического типирования, основанных на амплификации генетического материала [4]. На настоящий момент времени с помощью MIRU-VNTR-типирования в сочетании с другими методами генотипирования были проанализированы геномные структуры огромного числа клинических штаммов *M. tuberculosis*, выделенных в различных регионах мира [5-9].

За последнее десятилетие особую роль в эпидемиологии туберкулеза приобрела отдельная группа *M. tuberculosis*, известная как W-Beijing штаммы. Члены семейства W-Beijing широко распространены в Азиатском регионе, странах бывшего Советского Союза и, согласно данным многих исследователей, представляют доминирующий клон в этих регионах [10, 11]. W-Beijing штаммы часто имеют множественную лекарственную устойчивость, выявляются в очагах инфекции и характеризуются быстрым и обширным распространением [10, 12, 13]. Помимо этого, часто обнаруживаются при исследовании рецидивирующих случаев заболевания [14], обладают высокой вирулентностью и приспособляемостью, в том числе и благодаря способности угнетать иммунный ответ хозяина [15, 16].

При MIRU-VNTR типировании W-Beijing семейства по 12 локусам среди штаммов, циркулирующих по России, наибольшим аллельным полиморфизмом характеризуются локусы 10, 26, 31 [17], хотя типирование по данным повторам не всегда обладает достаточной дискриминативной способностью (HGI 0.8837) [18], в таком случае используют дополнительные локусы, такие как ETR (A-E), QUB 1 Ia, QUB 1 Ib, QUB 18, QUB 26, QUB 11451. Исходя из сказанного выше, быстрая идентификация членов этого семейства микобактерии туберкулеза в любой популяции с использованием оптимальной комбинаций специфических генетических маркеров, даст возможность своевременно и эффективно провести необходимые лечебные и противоэпидемические мероприятия клиницистами, эпидемиологами и представителями органов здравоохранения.

#### Материалы и методы

В качестве объектов исследований использовали изоляты из коллекции Национального центра проблем туберкулеза, г.Алматы. ДНК из культур микобактерий выделяли с использованием ранее описанного метода [19]. Качество выделенной ДНК анализировали в 1% агарозном геле в присутствии бромистого этидия.

Полимеразную цепную реакцию проводили в смеси объемом 20 мЛ, содержащей 2 единицы Taq-полимеразы (Eurogenetic), 10 mM TrisHCl pH 8.3, 50 mM KCl, 0.01% Tween-20, по 25 μM dATP, dGTP, dCTP, dTTP (Сибэнзим, Россия), 2.5 mM MgCl<sub>2</sub>, 1 μM праймера и 200 ng ДНК [20]. Амплификацию проводили в программируемом тер-

мостате Thermo Hybrid в следующих условиях: 1 цикл - стадия денатурации при 94°C 5 минут, затем 30 циклов: 94°C 30 с, 33°C - 30 с, 72°C - 30 с. Продукты реакции разделяли в 1,5 % агарозном геле в присутствии бромистого этидия. Гели документировали в Gel-Doc (Bio Rad).

#### Результаты и их обсуждение.

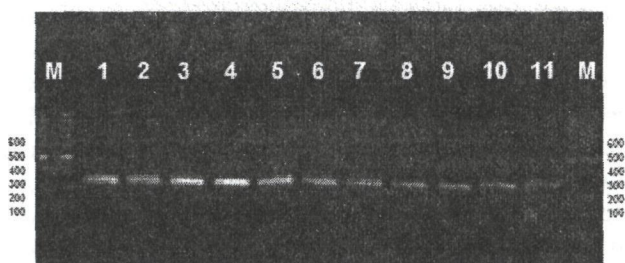
#### Молекулярное генотипирование казахстанских изолятов *M. tuberculosis* по локусу MIRU04

Локус MIRU04 принадлежит семейству тандемных повторов, варьирующих по количеству содержащихся в них копий [21]. Его хромосомная локализация обозначается как 580 по музейному штамму H37RV. Локус MIRU04 имеет 6 вариаций аллелей с повторяющейся единицей, равной 77 пар оснований. По литературным данным показано наличие этих повторов в разных геномах *M. tuberculosis* в количестве от 1 до 6 на локус. Степень аллельного разнообразия этого локуса равна 0.55. По данным Ковалева [18], локус MIRU04 с аллельной вариацией, равной двум повторяющимся единицам, распространен в W-Beijing, Уральской и Африканской группах. Музейный штамм H37RV характеризуется наличием аллельной вариации, равной 3 повторам. Самым распространенным для MIRU04 является аллель с двумя повторами. Остальные аллельные вариации встречаются реже. Так, например, аллельный вариант 3 с тремя повторами на локус характерен для Гренландии, Гондураса, Японии, Нидерландов, Аргентины, Канады и Греции. Аллельный вариант 4 встречается в Индии, в то время как аллельный вариант 5 распространен в Зимбабве, Коморских островах, Танзании. Локус 6 имеет место в генотипах изолятов *M. tuberculosis*, полученных в Великобритании. Для *M. bovis* характерно наличие аллельного варианта с четырьмя повторами для локуса MIRU04, в то время как для *M. tuberculosis* группы Africanum характерна аллельная вариация с тремя повторяющимися единицами.

В результате проведения генотипирования казахстанских изолятов *M. tuberculosis* праймерами к локусу MIRU04 были получены генетические профили для 33 изолятов. На рисунке 1 представлены результаты электрофоретического разделения продуктов амплификации ДНК *M. tuberculosis* по локусу MIRU04. Матрица соотношения аллельных вариантов казахстанских изолятов *M. tuberculosis* по MIRU04 представлена в таблице 1.

Таблица 1. Матрица состояния аллельных вариантов локуса MIRU04 33 казахстанских изолятов *M. tuberculosis*

№ изолята	аллель	№ изолята	аллель	№ изолята	аллель	№ изолята	аллель
3	2	18	2	41	2	58	2
4	2	20	2	44	2	62	2
5	2	22	2	45	2	64	2
6	2	23	2	48	2	68	2
7	2	24	2	49	2	79	2
8	2	25	2	50	2	83	2
15	2	26	2	53	2	85	2
16	2	27	2	57	2	94	2
17	2						



Дорожки 1-11 различные изоляты микобактерии;  
М – маркер 100 п.о.

Рисунок 1. Электрофоретическое разделение продуктов амплификации ДНК *M. tuberculosis* по локусу MIRU-04

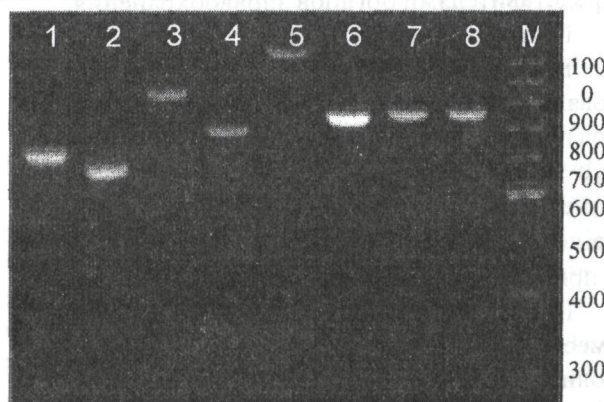
Как видно из таблицы, все исследуемые изоляты имеют аллель с двумя повторяющимися единицами. Частота встречаемости этого аллеля равна соответственно 1.0. Это говорит о том, что все исследуемые образцы, полученные из разных областей Казахстана, имеют один тип локуса MIRU04 и могут относиться к группе под общим названием Beijing. Сходные результаты, по данным, приведенным в работе Николаевско-го [22], были при генотипировании изолятов, циркулирующих на территории Украины. По их данным, из 72 изолятов, полученных в Одесском противотуберкулезном диспансере, 72 имели 2 повтора в локусе MIRU04. Это говорит о высокой степени консервативности этого локуса с корреляцией на географическую локализацию. Однако использование локуса MIRU04 для определения генетической дивергенции казахстанских изолятов *M. tuberculosis* малоинформативно из-за уникальной встречаемости второго аллеля во всех генотипах.

#### Молекулярное генотипирование казахстанских изолятов *M. tuberculosis* по локусу MIRU10

Локус MIRU10 также принадлежит семейству тандемных повторов, варьирующих по ко-

личеству копий. В хромосоме музейного штамма H37RV этот локус находится в позиции 960. Локус MIRU10 имеет 10 вариаций аллелей с тандемным повтором равным 53 парам оснований в количестве от 1 до 10 на локус [21]. Степень аллельного разнообразия этого локуса равна 0,746. Музейный штамм H37RV характеризуется наличием аллельной вариации, равной 3 повторам. В группе Beijing характерно преобладание 3 аллельного варианта. Для MIRU10 характерно наличие гетерогенности в популяциях, при этом некоторые из них имеют почти все аллельные вариации этого локуса. Так, изоляты *M. tuberculosis* из Нидерландов имеют 2, 3, 4, 5 и 6 аллельных вариантов. У изолятов, полученных в Аргентине, распространены аллели 2, 5 и 6. В Индии - аллели 4, 5 и 6. Северная Корея представлена только 3 аллельным вариантом локуса MIRU10.

В данной работе по локусу MIRU10 было проанализировано 33 изолята из разных областей Казахстана. На рисунке 2 представлены результаты амплификации геномной ДНК *M. tuberculosis* для MIRU10.



Дорожки 1-8 различные изоляты микобактерии; М – маркер 100 п.о.

Рисунок 2. Электрофоретическое разделение продуктов амплификации геномной ДНК *M. tuberculosis* для локуса MIRU10.

На представленной электрофореграмме видно, что праймеры F-MIRU10 и R-MIRU10 фланкируют ампликоны размером 590 п.о., 643 п.о., 696 п.о., 749 п.о., 855 п.о. и фрагмент размером 1014 п.о.. Надо отметить, что фрагмент размером 1014 п.о., соответствующий 10-аллельной вариации, достаточно редкий аллель, который по последним литературным данным встречается в основном в популяциях, принадлежащих уральской группе, изолятам, встречающимся на Укра-

ине, а также присутствует у *M. tuberculosis* группы Africanum.

В таблице 2 представлена матрица состояния аллельных вариантов локуса MIRU10, полученная в результате генотипирования 33 казахстанских изолятов *M. tuberculosis*.

В таблице 3 представлены частоты встречаемости аллелей рассчитанные с помощью метода Multi-Populations Descriptive Statistics, используемого в программном пакете анализа генетического разнообразия и генетических дистанций.

Таблица 2. Матрица состояния аллельных вариантов локуса MIRU10 33 казахстанских изолятов *M. tuberculosis*

№ изолята	аллель	№ изолята	аллель	№ изолята	аллель	№ изолята	аллель
3	7	18	3	41	4	58	3
4	4	20	2	44	4	62	4
5	5	22	7	45	5	64	3
6	2	23	2	48	4	68	3
7	4	24	4	49	4	79	4
8	5	25	3	50	3	83	3
15	3	26	4	53	3	85	7
16	2	27	10	57	5	94	7
17	6						

Таблица 3. Частота встречаемости аллелей исследованных изолятов по локусу MIRU10.

Аллель	Кол-во	Частота
1	0	0
2	4	0,121212
3	9	0,272727
4	10	0,30303
5	4	0,121212
6	1	0,030303
7	4	0,121212
8	0	0
9	0	0
10	1	0,030303

Как видно из полученных результатов, из всех полученных аллельных вариантов наиболее встречаемым аллелем является аллель 4 с частотой встречаемости 0,303. Аллели 6 и 10 наименее встречаемы в исследованных изолятах *M. tuberculosis*. Аллели с числом повторяющихся единиц 1, 8 и 9 отсутствуют в геномах проанализированных образцов. Аллели 2, 5 и 7 присутствуют в равных значениях с частой встречаемости 0,1212.

Молекулярное генотипирование казахстанских изолятов *M. tuberculosis* по локусу MIRU31

В вариабельном локусе MIRU31 (в геноме H37RV имеет название 3192) присутствуют от 1 до 6 повторов, равных 53 парам оснований каждый, что соответствует 6 аллельным вариантам [21]. Степень аллельного разнообразия этого локуса равна 0.7. В штамме H37RV присутствуют три повтора.

На рисунке 3 представлены результаты электрофоретического разделения продуктов амплификации ДНК *M. tuberculosis* по локусу MIRU31

На представленной электрофореграмме видно наличие ампликонов размером 598 п.о., 651 п.о., 757 п.о., соответствующие аллельным вариантам 2, 3, и 5 соответственно.

В таблице 4 и таблице 5 представлены результаты состояния аллельных ампликонов и частота встречаемости аллелей по локусу MIRU31.

Как видно из полученных данных, самым распространенным в казахстанских изолятах является аллель с двумя повторяющимися единицами с частотой встречаемости в исследуемых генотипах 0,364. Вторыми по встречаемости в генотипах являются аллели с 5 повторами на локус, далее следуют аллели с 3 tandemными по-

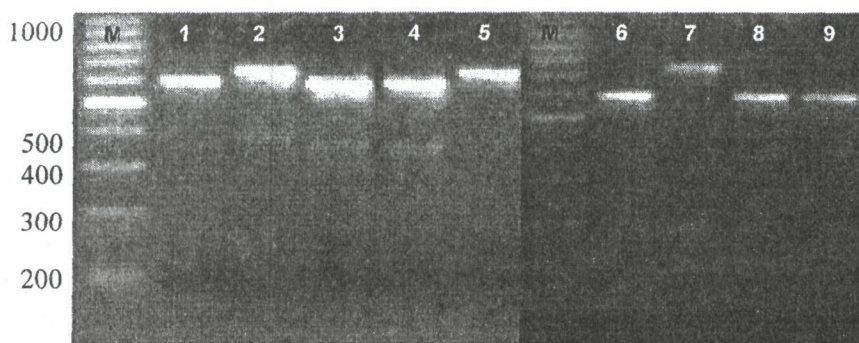


Рисунок 3. Электрофоретическое разделение продуктов амплификации геномной ДНК *M. tuberculosis* для локуса MIRU31.

Дорожки 1-9 различные изоляты микобактерии; М - маркер 100 п.о

Таблица 4. Матрица состояния аллельных вариантов локуса MIRU31 33 казахстанских изолятов *M. tuberculosis*

№ изолята	аллель	№ изолята	аллель	№ изолята	аллель	№ изолята	аллель
3	2	18	5	41	5	58	1
4	2	20	3	44	3	62	1
5	3	22	2	45	2	64	4
6	2	23	3	48	3	68	4
7	2	24	2	49	5	79	2
8	3	25	5	50	5	83	5
15	5	26	2	53	3	85	2
16	5	27	3	57	5	94	2
17	2						

Таблица 5. Частота встречаемости аллелей исследованных изолятов по локусу MIRU31.

Аллель	Кол-во	Частота
1	2	0,060606
2	12	0,363636
3	8	0,242424
4	2	0,060606
5	9	0,272727
6	0	0

вторами. Для аллелей 5 и 3 характерна частота встречаемости 0,273 и 0,242 соответственно. Аллели 1 и 4 одинаково встречаются в казахстанских изолятах и имеют частоту встречаемости 0,06. Аллель 6 не представлен среди проанализированных казахстанских изолятов.

Таким образом, нами была проведена работа по молекулярно-генетическому типированию 33 изолятов *Mycobacterium tuberculosis*, взятых из разных регионов Казахстана, при помощи метода MIRU-VNTR анализа по трем вариабельным локусам MIRU04, MIRU10, MIRU31. В ходе исследования полиморфизма ДНК микобактерии по локусу MIRU04, было показано, что все ис-

следуемые изоляты имеют аллель с двумя повторяющимися единицами. Частота встречаемости этого аллеля равна 1,00. Это говорит о том, что все исследуемые образцы, полученные из разных областей Казахстана, имеют один тип локуса MIRU04 и могут относиться к группе под общим названием Beijing. Полученные данные свидетельствуют о высокой степени консервативности этого локуса с корреляцией на географическую локализацию. Локус MIRU04 малоинформативен для определения генетической дивергенции изолятов *M. tuberculosis* внутри казахстанской популяции из за уникальной встречаемости второго аллеля во всех генотипах.

По локусу MIRU10 в Казахстане *M. tuberculosis* представлен двумя основными группами генотипов. Первая группа образована изолятами с аллельным вариантом, содержащим 4 повторяющихся единицы на локус. Эта группа имеет широкое географическое распространение и представлена в европейских странах, странах Южной Америки, Монголии, Индии, Африканском континенте и странах Океании. Вторую по величине группу образуют генотипы с числом

повторяющихся единиц, равным трем. Общее название этой группы Beijing. Эта группа имеет основное распространение в таких странах как Китай, Таиланд, Малайзия, а также присутствует практически по всему миру в разных соотношениях. Равными по частоте встречаемости являются генотипы с числом повторов 2, 5 и 7. Генотипы с аллелем 2 распространены в Гренландии, Чили, Японии и Голландии. Генотип с аллелем 5 представлен в Голландии, Аргентине и Италии. Аллель 7 встречается в генотипах *M. tuberculosis*, распространенных только в Великобритании. Аллель 6 в Казахстане представлен в достаточно небольшом количестве, но в Аргентине он имеет широкое распространение. Аллель 10 редко встречается в генотипах, но по последним литературным данным имеет место в популяциях, принадлежащих уральской группе и изолятам, встречающимся на Украине, а также присутствует у *M. tuberculosis Africanum*. Доминирующее положение совпадающих по локусу MIRU10 генотипов казахстанских штаммов с генотипами группы Beijing (аллельный вариант, равный трем повторам) и генотипами с аллельным вариантом, равным четырем повторам, скорее всего, объясняется тем, что территория Казахстана с древних времен и по нынешний день была и является связующей между Европой и Азией, вследствие чего происходит дрейф генотипов между странами.

По полученным данным частот встречаемости аллелей локуса MIRU31 можно сказать, что в Казахстане наиболее распространены генотипы *M. tuberculosis* с двумя повторяющимися единицами. В мировых генотипах *M. tuberculosis* аллель 2 локуса MIRU31 распространен слабо и встречается редко, в основном в Монголии, Тунисе, Гондурасе, Зимбабве, Таити, в России на Урале. Аллель 5 представлен в генотипах, встречающихся в Индии, Нидерландах, Северной Африки, Китае и Тайланде. В Казахстане аллель с тремя повторяющимися единицами встречается со средней частотой, однако этот аллель широко распространен практически во всех странах Старого и Нового света. Редкие в казахстанских изолятах аллели с числом повторов 1 и 4 распространены в Великобритании, Саудовской Аравии, Африканском континенте. Помимо того, что аллель 6 не был найден в исследуемых изолятах, он также достаточно редкий и в мировых

генотипах *M. tuberculosis*. Аллель 6 распространен лишь в Танзании, Коморских островах и Голландии. Из этого следует, что аллель 2 локуса MIRU31 характеризует генотипы казахстанского происхождения и может быть маркерным для идентификации казахстанских изолятов *M. tuberculosis*.

Проведенное исследование является пилотным и выполнено с целью апробации MIRU-VNTR анализа для генотипирования штаммов *Mycobacterium tuberculosis*, циркулирующих на территории Республики Казахстан. Данное исследование является уникальным для Казахстана, поскольку ранее подобные работы не проводились, а, следовательно, отсутствует какая-либо информация о генотипическом распределении штаммов на территории Республики Казахстан.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Dye C, Scheele S, Dolin P, Pathania V and Raviglione M.C., «Consensus statement. Global burden of tuberculosis: estimated incidence, prevalence, and mortality by country. WHO Global Surveillance and Monitoring Project». *Jama*, 1999. 282(7): p. 677-86.
2. Frothingham R. and Meeker-O'Connell W.A., «Genetic diversity in the Mycobacterium tuberculosis complex based on variable numbers of tandem DNA repeats». *Microbiology*, 1998. 144 ( Pt 5): p. 1189-96.
3. Sola C, Filliol I., Legrand E., Lesjean S., Locht C, Supply P. and Rastogi N., «Genotyping of the Mycobacterium tuberculosis complex using MIRUs: association with VNTR and spoligotyping for molecular epidemiology and evolutionary genetics». *Infect Genet Evol*, 2003. 3(2): p. 125-33.
4. Kremer K., Arnold C, Cataldi A., et al, «Discriminatory power and reproducibility of novel DNA typing methods for Mycobacterium tuberculosis complex strains». *J Clin Microbiol*, 2005. 43(11): p. 5628-38.
5. Sun Y.J., Bellamy R., Lee A.S., Ng S.T., Ravindran S., Wong S.Y., Locht C, Supply P. and Paton N.I., «Use of mycobacterial interspersed repetitive unit-variable-number tandem repeat typing to examine genetic diversity of Mycobacterium tuberculosis in Singapore». *J Clin Microbiol*, 2004. 42(5): p. 1986-93.
6. Sun Y.J., Lee A.S., Ng S.T., et al, «Characterization of ancestral Mycobacterium tuberculosis by multiple genetic markers and proposal of genotyping strategy». *J Clin Microbiol*, 2004. 42(11): p. 5058-64.
7. Zozio T., Allix C, Gunal S., Saribas Z., Alp A., Durmaz R., Fauville-Dufaux M., Rastogi N. and Sola C., «Genotyping of Mycobacterium tuberculosis clinical isolates in two cities of Turkey: description of a new family of genotypes that is phylogeographically specific for Asia Minor». *BMC Microbiol*, 2005. 5: p. 44.
8. Garcia de Viedma D., Alonso Rodriguez N., Andres S., Ruiz Serrano M.J. and Bouza E., «Characterization of clonal complexity in tuberculosis by mycobacterial interspersed repetitive unit-variable-number tandem repeat typing». *J Clin Microbiol*, 2005. 43(11): p. 5660-4.

9. Vanu S., Gordon S.V., Palmer S., Islam R., Ahmed S., Alam K.M., Cole S.T. and Brosch R., «Genotypic analysis of *Mycobacterium tuberculosis* in Bangladesh and prevalence of the Beijing strain». *J Clin Microbiol*, 2004. 42(2): p. 674-82.
10. Glynn J. R., Whiteley J., Bifani P. J., Kremer K., van Soolingen D. Worldwide occurrence of Beijing/W strains of *Mycobacterium tuberculosis*: a systematic review // *Emerg. Infect. Dis.* - 2002. - V. 8, № 8. - P. 843-849.
11. Richardson M., van Lill S.W., van der Spuy G.D., Munch Z., Booysen C.N., Beyers N., van Helden P.D. and Warren R.M., «Historic and recent events contribute to the disease dynamics of Beijing-like *Mycobacterium tuberculosis* isolates in a high incidence region». *Int J Tuberc Lung Dis*, 2002. 6(11): p. 1001-11.
12. van Soolingen D., Qian L., de Haas P.E., et al, «Predominance of a single genotype of *Mycobacterium tuberculosis* in countries of east Asia». *J Clin Microbiol*, 1995. 33(12): p. 3234-8.
13. Bifani P.J., Mathema B., Kurepina N.E. and Kreiswirth B.N., «Global dissemination of the *Mycobacterium tuberculosis* W-Beijing family strains». *Trends Microbiol*, 2002.10(1): p. 45-52.
14. Lan N. T., Lien H. T., Tung le B., Borgdorff M. W., Kremer K., van Soolingen D. *Mycobacterium tuberculosis* Beijing genotype and risk for treatment failure and relapse, Vietnam // *Emerg. Infect. Dis.* - 2003. - V. 9, № 12.-P. 1633-1635.
15. Lopez B., Aguilar, D., Orozco, H., Burger, M., Espitia, C., Ritacco, V., Barrera, L., Kremer, K., Hernandez-Pando, R., Huygen, K., and D. van Soolingen. A marked difference in pathogenesis and immune response induced by different *Mycobacterium tuberculosis* genotypes. // *Clin. Exp. Immunol.* -2003.-V. 133.-P. 30-37.
16. Manca C., Tsenova L., Bergtold A., Freeman S., Tovey M., Musser J. M., Barry C E., 3rd, Freedman V. H., Kaplan G. Virulence of a *Mycobacterium tuberculosis* clinical isolate in mice is determined by failure to induce Th1 type immunity and is associated with induction of IFN-alpha /beta // *PNAS.* - 2001. -V. 98, №10.-P. 5752-5757.
17. Mokrousov I., Narvskaya, O., Limeschenko, E., Yuzovaya, A., Otten, T., Vyshnevskiy, B. Analysis of the Allelic Diversity of the *Mycobacterial Interspersed Repetitive Units* in *Mycobacterium tuberculosis* Strains of the Beijing Family: Practical Implications and Evolutionary Considerations // *J. Clin. Microbiol.* 2004. V. 42. - P. 2438-2444.
18. Kovalev S. Y., Kamaev, E. Y., Kravchenko, M. A., Kurepina, N. E., Skorniakov, S. N. Genetic analysis of *Mycobacterium tuberculosis* strains isolated in Ural region, Russian Federation, by MIRU-VNTR genotyping // *Int. J. Tuberc. Lung. Dis.* 2005. V. 9, № 7: P.746-752.
19. Hirsh A.E., Tzolaki A.G., DeRiemer K., Feldman M.W. and Small P.M., «Stable association between strains of *Mycobacterium tuberculosis* and their human host populations». *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004.101(14): P. 4871-6.
20. Sreevatsan S., Pan X., Stockbauer K.E., Connell N.D., Kreiswirth B.N., Whittam T.S. and Musser J.M., «Restricted structural gene polymorphism in the *Mycobacterium tuberculosis* complex indicates evolutionarily recent global dissemination». *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997. 94(18): P. 9869-74.
21. Philippe Le Fleche High resolution, on-line identification of strains from the *Mycobacterium tuberculosis* complex based on tandem repeat typing // *BMC Microbiology*, 2002. 2:37 doi:10.1186/1471-2180-2-37.
22. Николаевський В.В. Оптимізація стратегії генотипування штамів *Mycobacterium tuberculosis* в Одеській області України: порівняння методів споліготипування та vnt // *Одеський медичний журнал* - №3(89)2005

### Резюме

Қазақстанның өртүрлі аудандарынан алынған *M.tuberculosis*-тің 33 изоляттарына 3 вариабелді локустар бойынша талдау жүргізілді. Зерттелген изоляттардың генотиптерінің қасиеті анықталды. Алынған нәтижелер өлемдік мөлiметтер базасындағы мөлiметтермен салыстырылды. Бұрын Қазақстанда мұндай *M.tuberculosis* изоляттарын генотиптеу зерттеулері жүргізілмеген болатын.

Зерттеулер барысында алынған мөлiметтер эпидемиологиялық бақылау мақсатында *M.tuberculosis* генотиптерінің молекулярлы-генетикалық мониторингі үшін, рецидивті анықтау және жоғары вирулентті жана агрессивті генотиптердің пайда болуын және W-Beijing деп жалпы аталатын *M.tuberculosis* топтары сияқты негізгі медикаментозды препараттарға мульти төзімділігін болжау үшін қажет.

### Summary

Three variable loci MIRU04, MIRU10 and MIRU31 were analyzed in 33 isolates of *M.tuberculosis* from different regions of Kazakhstan. Characteristic peculiarities of genotypes were identified in the researched isolates. The collected results were compared with the data of world data bases. In Kazakhstan this kind of research on *M.tuberculosis* isolates genotyping was not conducted earlier.

The collected information is important for molecular-genetic monitoring of *M.tuberculosis* genotypes for epidemiological control, relapse identification and prediction of new aggressive genotypes appearance that cause high virulence and multi resistance to many basic medicinal substances; for example, W-Beijing the group of *M.tuberculosis*.