

MYCOBACTERIUM AVIUM — АКТУАЛЬНЫЙ ВОЗБУДИТЕЛЬ МИКОБАКТЕРИОЗА ЧЕЛОВЕКА

Д.А. Старкова

ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург

Резюме. Микобактериоз — инфекционное заболевание животных и человека, возбудителями которого являются представители большой группы нетуберкулезных микобактерий, включающих *M. avium* complex. Несмотря на то, что передача *M. avium* от человека к человеку не доказана и микобактериоз носит спорадический характер, среди ВИЧ-инфицированных за последние десять лет наметилась тенденция к росту числа случаев диссеминированной формы заболевания, вызванного *M. avium*. Недостаток сведений о структуре популяции *M. avium* в России, отсутствие простых чувствительных методов микробиологической диагностики ограничивают возможности эпидемиологического мониторинга микобактериоза в нашей стране. Это диктует необходимость использования современных эффективных молекулярно-генетических методов исследования для выявления, видовой идентификации и типирования *M. avium*. Так, использование методов выявления инсерционного элемента IS901, анализа полиморфизма рестрикционных фрагментов гена *hsp65* и элемента IS1245 позволяет провести идентификацию и определение подвида *M. avium*. Исследование геномного полиморфизма штаммов *M. avium* для оценки структуры популяции возможно с помощью комплекса молекулярно-генетических методов VNTR-типирования, IS1245- и IS1311-RFLP-типирования.

Ключевые слова: микобактериоз, *Mycobacterium avium*, генотипирование.

MYCOBACTERIUM AVIUM AS AN ACTUAL PATHOGEN OF HUMAN MYCOBACTERIOSIS

Starkova D.A.

Abstract. Mycobacteriosis is an infectious disease of animals and humans caused by non-tuberculosis mycobacteria including *M. avium* complex. Despite the fact that the transmission of *M. avium* from human to human has not been proved, and mycobacteriosis has been sporadic, the number of cases of disseminated forms of disease caused by *M. avium* among HIV-positive patients during the last ten years was increasing. Limited knowledge about the structure of *M. avium* population in Russia and the lack of simple methods for the microbiological diagnosis make difficult the epidemiological monitoring of mycobacteriosis. This facilitates the use of modern, efficient molecular genetic methods for the species and subspecies identification and typing of *M. avium*. Thus, the detection of mobile element IS901, restriction fragment polymorphism analysis of *hsp65* gene and IS1245 allow the detection and subspecies identification of *M. avium*. The study of genomic polymorphisms of bacterial strains for the assessment of *M. avium* population structure became feasible due to a complex of molecular techniques: VNTR-typing, IS1245- and IS1311-RFLP-typing. (*Infekc. immun.*, 2013, vol. 3, N 1, p. 7–14)

Key words: mycobacteriosis, *Mycobacterium avium*, genotyping.

Микобактериоз (лат. mycobacteriosis) — инфекционное заболевание животных и человека, возбудителями которого являются представители большой группы нетуберкулезных микобактерий (НТМБ) — «других (нежели возбудители туберкулеза и лепры) микобактерий», согласно МКБ-10 (1993).

Среди основных клинических проявлений микобактериоза чаще всего встречается поражение легких, главным образом у пожилых лиц, имеющих хронические неспецифические заболевания легких, силикоз, а также у больных, излеченных от туберкулеза и микоза органов дыхания. У ВИЧ-инфицированных и больных

поступила в редакцию 10.07.2012
отправлена на доработку 16.07.2012
принята к печати 31.08.2012

© Старкова Д.А., 2013

Адрес для переписки:

Старкова Дарья Андреевна,
младший научный сотрудник
лаборатории молекулярной микробиологии
ФБУН НИИЭМ имени Пастера

197101, Санкт-Петербург, ул. Мира, 14,
ФБУН НИИЭМ имени Пастера.
Тел./факс: (812) 233-21-49.
E-mail: starkova_darya@mail.ru

СПИД в основном развиваются диссеминированные заболевания с неблагоприятным прогнозом [3, 13].

По данным различных авторов, потенциальными возбудителями микобактериоза человека являются от 10 до 24 видов НТМБ, среди которых наиболее часто встречаются представители *Mycobacterium avium* complex (MAC) [1, 3].

Классификация и номенклатура «нетуберкулезных» микобактерий

Микобактерии — неподвижные аэробные грамположительные палочки, которые характеризуются кислото- и щелочеустойчивостью при окраске карболовым фуксином, высоким содержанием липидов в клетке и, особенно, в клеточной стенке. Разновидности восков, входящих в ее состав, содержат растворимые в хлороформе миколовые кислоты с длинными разветвленными цепями (от 60 до 90 атомов углерода). Содержание Г+Ц в ДНК составляет 62–70% [37, 53].

Микобактерии, включая возбудителей туберкулеза и НТМБ, относят к единственному роду *Mycobacterium* семейства *Mycobacteriaceae*. В настоящее время род *Mycobacterium* включает более 130 видов, подвидов и комплексов, и их число продолжает расти [22].

Исторически сложилось подразделение микобактерий на типичные (классические возбудители туберкулеза человека и животных) и «атипичные» микобактерии, которые различают по морфологическим и биохимическим свойствам [59].

К «типичным» представителям рода микобактерий относят бактерии *Mycobacterium tuberculosis* complex. Данная группа включает возбудителей туберкулеза человека и животных (*M. tuberculosis*, *M. africanum*, *M. canettii*, *M. bovis*, *M. caprae*, *M. pinnipedii*, *M. microti*). Несмотря на различия фенотипических характеристик и вариабельность круга «хозяев» среди млекопитающих, они представляют один из наиболее ярких примеров генетической гомогенности (99,7–99,9% гомологии) и консерватизма важнейших структурных генов, включая гены, кодирующие многие внутриклеточные ферменты, 65-kD протеин теплового шока, 16-kD антиген и другие белки [53, 54].

Для «атипичных микобактерий» в 90-е годы XX столетия был предложен более нейтральный термин — «нетуберкулезные микобактерии» (НТМБ). К НТМБ относят сапрофитные и потенциально патогенные виды. НТМБ свободно живут в почве, воде, на полях и пастбищах, за что получили название потенциально патогенных МБ окружающей среды или убиквитарных (вездесущих) МБ, которые относительно контагиозны и слабопатогенны для лабораторных животных [63].

В настоящее время восемь видов медленно растущих НТМБ: *M. avium*, *M. intracellulare*, *M. chimaera*, *M. colombiense*, *M. arosiense*, *M. boche-durhonense*, *M. marseillense* и *M. timonense* относят к MAC [12].

Экология *Mycobacterium avium* complex

Mycobacterium avium complex — группа медленно растущих кислотоустойчивых микобактерий, которые являются типичными обитателями окружающей среды [18]. Вместе с тем, MAC являются оппортунистическими патогенами диких и домашних животных (свиней и др.), птиц и человека. Особенно широко MAC представлены в природных источниках соленой и пресной воды, а также в питьевой воде, водопроводной воде, госпитальных системах водоснабжения [25, 27, 28, 30, 43, 55] и биопленках, которые MAC легко формируют благодаря своим гидрофобным свойствам и устойчивости к широкому спектру дезинфектантов и антибиотиков [31, 51, 56]. Биопленки, возможно, являются основной причиной распространения микобактерий в питьевой воде [23].

Имеются данные о выделении MAC из аэрозолей, которые образуются в результате скопления мельчайших капель воды, что способствует поддержанию жизнеспособности микробных клеток. Такие аэрозоли образуются как над природными источниками пресной воды (реки, озера), так и над искусственными (закрытые плавательные бассейны и др.). Будучи устойчивыми к хлору, бактерии MAC в составе аэрозолей представляют угрозу для обслуживающего персонала современных водно-развлекательных и оздоровительных комплексов, поскольку могут вызывать повреждения дыхательных путей различного характера [24]. Сырые помещения также являются источниками MAC [5].

Ранее считалось, что один из типичных представителей MAC — *M. avium* — является возбудителем «птичьего» туберкулеза (отсюда и наименование возбудителя) и редких заболеваний других животных. Типовой штамм *M. avium* ATCC 25291 был выделен от больной курицы [60]. В качестве потенциального возбудителя болезней человека *M. avium* стали рассматривать несколько десятилетий назад [26]. Еще Е. Runyon (1943 г.) установил, что в комплексе «родственных» микобактерий имеются вирулентные, вызывающие заболевания у кур, кроликов и человека (*M. avium*), и авирулентные (*M. intracellulare*). Последние, как было показано впоследствии, вирулентны для животных и человека.

В настоящее время в пределах вида *M. avium* выделяют несколько подвидов, которые имеют специфические геномные паттерны, ассоции-

рованные с определенным кругом хозяев, экологическими и географическими характеристиками штаммов. Наибольшее клиническое значение имеют микроорганизмы *M. avium* subsp. *hominissuis*, вызывающие микобактериоз у людей (в том числе, у ВИЧ-инфицированных) и свиней. *M. avium* subspp. *avium*, *silvaticum* и *paratuberculosis* поражают в основном птиц и/или диких и домашних животных [12, 23, 60].

Микобактериоз: эпидемиология и клинические проявления

За последние десять лет наметилась тенденция к росту числа случаев заболевания микобактериозом, вызванного *M. avium*, что связывают с такими факторами как рост распространенности иммуносупрессивных состояний, в особенности ВИЧ-инфекции, «предрасположенность» (обусловленная генетически), повышение вирулентности возбудителя, а также появление новых диагностических тестов [33, 40, 62].

В США расчетный показатель распространенности инфекции, вызванной НТМБ, составляет 1,8 случаев на 100 000 человек, среди которых инфекции, вызванные МАС, составляют более 60% всех случаев (1,1 случай на 100 000 человек) [39]. МАС-инфекция относится к числу наиболее распространенных СПИД-ассоциированных суперинфекций. Последние наблюдения показывают, что МАС-инфекция — самое частое осложнение при СПИД: у 20% больных, несмотря на профилактическое лечение, в течение года развивается диссеминированная форма МАС-инфекции, а у нелеченных больных этот показатель в два раза выше [3, 52].

В нашей стране случаи заболевания микобактериозом до сравнительно недавнего времени носили спорадический характер, что не позволяло составить их эпидемиологическую характеристику. Однако немногочисленные исследования свидетельствуют, что, например, на территориях Санкт-Петербурга и Ленинградской области возбудители микобактериоза по видовому составу существенно не различались — более 80% заболеваний вызывали МАС. На других территориях отмечалось уменьшение удельного веса МАС и увеличение удельного веса других видов НТМБ [3].

По данным D. O'Grain и соавт., у ВИЧ-инфицированных *M. avium* является более частой причиной заболевания, нежели *M. intracellulare* [44]. Отчасти это можно объяснить тем, что входными воротами для *M. avium* служит не только респираторный (как в случае с *M. intracellulare*), но и желудочно-кишечный тракт. Этот микроорганизм, попадая с пищей или водой в полость рта, способен сохраняться в кислой среде желудка и поражать слизистую кишечника, вызывая бактериемию и вторичное поражение костного мозга и селезенки [41].

Лекарственная чувствительность *M. avium*

Известно, что лечение инфекций, вызванных *M. avium*, является достаточно сложным вследствие природной множественной лекарственной устойчивости (МЛУ) к большинству противотуберкулезных и других антибактериальных препаратов, обычно не применяющихся для терапии туберкулеза. Поэтому лечение микобактериоза зачастую требует использования комбинации из нескольких препаратов, хирургического вмешательства или сочетания обоих методов. Попытки лечения больных с диссеминированными процессами, вызванными МАС, в большинстве случаев оказываются безуспешными [3].

Природная МЛУ *M. avium* обусловлена низкой проницаемостью клеточной стенки для лекарственных препаратов, поэтому условия, способствующие нарушению ее целостности, приводят к повышению лекарственной чувствительности микроба. Показано, что между лекарственной чувствительностью, вирулентностью и морфотипами колоний (прозрачность и цвет на среде с Конго красным) *M. avium* существует зависимость, ассоциированная с полиморфизмом мутаций в генах *pks12* (Maa1979), *mtrAB* и Maa2520 [10, 48].

Микробиологическая диагностика микобактериоза, обусловленного МАС

Верификация диагноза микобактериоза требует неоднократного выделения чистой культуры микобактерий с последующей идентификацией возбудителя.

Для выявления бактерий МАС и дифференциации их от остальных НТМБ и *M. tuberculosis* complex проводится обычная лабораторная обработка клинического материала и микробиологическое исследование, которое включает следующие этапы:

1. микроскопическое исследование (мазок из мокроты, окраска по Цилю–Нельсену и аурамином-родамином);
2. посев на питательные среды: Левенштейна–Йенсена, Финна II и Миддлбрука 7Н10, а также — элективные;
3. идентификация выделенной культуры (оценка скорости роста, пигментообразования, биохимических свойств);
4. определение лекарственной чувствительности выделенной культуры [2, 3].

Выявление и идентификация возбудителя до вида в рамках микробиологического исследования длительна и осуществляется с помощью набора малодоступных и недостаточно специфичных биохимических тестов. И лишь

недавно для этой цели стали использовать новейшую ДНК-стриповую технологию (тест-система GenoType *Mycobacterium*, Hain Lifescience, Германия) [3].

Характеристика генома *M. avium*

В настоящее время полностью закончено секвенирование генома лабораторного штамма *M. avium* 104 (subsp. *hominissuis*). Нуклеотидная последовательность хромосомной ДНК данного штамма включает 5 475 491 пару нуклеотидов, что составляет около 5313 генов, которые входят в состав функциональных групп, занимающих 88% потенциальной кодирующей емкости генома. Из них 5120 генов кодируют белки, 50 генов — стабильную РНК. Информация о полной нуклеотидной последовательности (сиквенсе) генома штамма *M. avium* 104 доступна в GenBank. Также закончено секвенирование геномов *M. avium avium* ATCC 25291 и *M. avium paratuberculosis* K-10.

Имеющиеся в составе генома последовательно расположенные открытые рамки считывания (Open Reading Frame, ORF) определяют как «геномные острова» (genomic island, GI) [7, 14]. Геномные острова кодируют мобильные элементы (IS-последовательности, профаги); регуляторные элементы транскрипции, особенно семейства TetR, регулирующие экспрессию гена устойчивости к тетрациклину; различные опероны гена *mce*, обеспечивающего проникновение в клетки млекопитающих; опероны гена *drrAB*, кодирующие устойчивость к антибиотикам доксорубину и даунорубину, что является серьезной проблемой при лечении инфекций, вызванных *M. avium* у больных СПИД [6, 11, 14, 16].

Экспрессию ключевых антигенов и факторов вирулентности, которые необходимы для выживания микроорганизма в окружающей среде, регулируют два главных типа геномных перестроек: инсерции/делеции геномных островов и геномные инверсии [14].

Карта расположения геномных островов референс-штамма *M. avium* 104 представлена на рисунке (см. III обложку).

Генетическое разнообразие *M. avium* обусловлено полиморфизмом кодирующих и некодирующих последовательностей генома.

Так, для видовой идентификации в качестве генетической мишени используют видоспецифический участок гена *hsp65* — одного из основных факторов патогенности *Mycobacterium*, кодирующего белок теплового шока (heat shock protein) молекулярной массой 65 kDa [15, 42].

А. Telenti и соавт. (1993 г.) описали оригинальный метод рестрикционного анализа для идентификации микобактерий — PCR-restriction enzyme analysis (PRA) — *hsp65*. Амплифицированный в ходе ПЦР участок гена *hsp65* обраба-

тывают рестриктазами *BstEII* и *HaeIII*; полученные фрагменты рестрикции анализируют с помощью электрофореза в агарозном геле. Это позволяет идентифицировать виды микобактерий, отличающиеся друг от друга набором фрагментов рестрикции [57].

Также для идентификации *M. avium* и других НТМБ используют анализ полиморфизма структурных генов *rpoB* (контролирует синтез бета-субъединицы РНК-полимеразы), *gyrB* (ответствен за синтез бета-субъединицы фермента ДНК-гиразы), *secA1* (кодирует белок Sec1, обеспечивающий транспорт белков через цитоплазматическую мембрану), *recA* (принимает участие в процессах рекомбинации ДНК, индукции SOS-ответа и SOS-репарации), *sodA* (кодирует фермент супероксиддисмутазу), ген *16S rRNA* (несет информацию о последовательности рибосомной РНК) и область ITS гена *16S rRNA* (транскрибируемая последовательность ДНК, разделяющая активные участки гена *16S-23S rRNA*) [4, 21].

Для анализа геномного полиморфизма штаммов в пределах вида и подвида *M. avium* в качестве генетических маркеров используют инсерционные последовательности — мобильные IS-элементы (англ. insertion sequence — встраиваемая последовательность): *IS901*, *IS900*, *IS1245*, *IS131* [8, 17, 36, 45].

IS1245. Мобильный элемент *IS1245* (427 bp) — представитель семейства инсерционных элементов *IS256* [38], впервые описанный С. Guerrero с соавт. в 1995 г., является специфичным для генома *M. avium* и кодирует фермент транспозазу [29]. *IS1245* представлен множественными копиями, что свидетельствует о наличии «горячих точек» (сайтов интеграции) для их встраивания. Данный элемент имеет высокую степень сходства с последовательностью элемента *IS1311* (85%) [19, 35]. Круг «хозяев» *IS1245* ограничивается подвидами *M. avium* и не характерен для *M. intracellulare* [47]. В составе хромосомы у подавляющего большинства клинических изолятов *M. avium*, как правило, присутствуют от трех до 27 копий *IS1245*, идентичных по нуклеотидной последовательности, что свидетельствует о миграции элемента путем репликативной транспозиции. Однако встречаются штаммы, лишенные данного элемента [9].

Использование *IS1245* в качестве мишени для анализа ДНК *M. avium* методом RFLP (англ. Restriction Fragment Length Polymorphism — полиморфизм длин рестрикционных фрагментов) является таким же эффективным, как и *IS6110*, который успешно применяется для генотипирования штаммов *M. tuberculosis* [60].

При помощи RFLP-анализа с использованием инсерционных элементов *IS1245* и *IS901*, были обнаружены значительные различия между изолятами *M. avium*, полученными от раз-

ных источников [61]. Так, штаммы, выделенные от птиц, характеризовались малым числом копий IS1245 и присутствием элемента IS901, тогда как изоляты, полученные от человека и свиней, напротив, были представлены полиморфными многокопийными паттернами IS1245 (более восьми) и отсутствием элемента IS901. Полученные данные легли в основу положения о существовании двух эволюционно различных подвидов *M. avium*, обозначенных как *M. avium avium* (изоляты от птиц) и *M. avium hominissuis* (изоляты от человека и свиней) [20, 21, 50]. Более того, были продемонстрированы значительные различия в вирулентности этих генетически близкородственных подвидов. Установлено, что изоляты *M. avium* subsp. *avium* от больных птиц и некоторых животных (IS901⁺) являются гораздо более вирулентными, чем изоляты *M. avium* subsp. *hominissuis* от ВИЧ-инфицированных больных (IS901⁻) [36, 46]. Вирулентность штаммов, содержащих элемент IS901, была подтверждена экспериментально [20, 45, 46].

IS1311. Мобильный элемент IS1311, также относящийся к семейству IS256 [38], встречается у подвидов *M. avium avium*, *M. avium hominissuis* и *M. avium paratuberculosis* [63], *M. intracellulare*, *M. malmoense* и *M. scrofulaceum* [35]. Принимая во внимание достаточно широкий круг «хозяев» этого элемента, можно предположить, что IS1311 представляет собой более «древний» элемент [63].

Использование обоих элементов (IS1245 и IS1311) для генотипирования методом RFLP повышает степень дискриминации исследуемых штаммов [34].

Существуют также более короткие повторяющиеся последовательности, которые могут использоваться для дифференциации внутри подвидов MAC.

Специфические повторяющиеся тандемные повторы. Последовательности Variable Number Tandem Repeat (VNTR), называемые Mycobacteria Interspersed Repetitive Units (MIRU) были описаны у *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. leprae* и MAC. Характерными свойствами MIRU, которые позволяют отличить их от других тандемных повторов, является наличие регуляторных элементов, таких как иницирующие кодоны и стоп-кодоны. Большинство MIRU перекрывают терминирующие или иницирующие кодоны и их фланкирующие гены. Полиморфизм локусов тандемных повторов возникает в результате любых изменений нуклеотидной последовательности отдельных нуклеотидов или целого ряда тандемных повторов и используется в качестве вторичного маркера для тонкой дифференциации штаммов MAC. У клинических штаммов *M. avium* описаны также тандемные повторы MATR (англ. *Mycobacterium avium* tandem repeat, MATR) [32, 58].

Таким образом, использование методов выявления инсерционного элемента IS901, анализа полиморфизма рестрикционных фрагментов гена *hsp65* и элемента IS1245 позволяет провести идентификацию и определение подвида *M. avium*. Исследование геномного полиморфизма штаммов *M. avium* для оценки структуры популяции возможно с помощью комплекса молекулярно-генетических методов VNTR-типирования, IS1245- и IS1311-RFLP-типирования [49].

Заключение

Хотя передача *M. avium* от человека к человеку не доказана, и микобактериоз носит спорадический характер, среди ВИЧ-инфицированных за последние десять лет наметилась тенденция к росту числа случаев заболевания, вызванного *M. avium*. Трудности этиологической диагностики микобактериоза и высокая естественная резистентность возбудителя приводят к развитию хронических деструктивных поражений легких. При этом у ВИЧ-инфицированных и больных СПИД, несмотря на профилактическое лечение, нередко развивается диссеминированная форма инфекции с неблагоприятным прогнозом. В этой связи за рубежом возросло число публикаций, касающихся данной проблемы, однако в отечественной литературе подобные работы носят единичный характер.

Недостаток сведений о структуре популяции *M. avium* в России, отсутствие простых чувствительных методов микробиологической диагностики ограничивают возможности эпидемиологического мониторинга микобактериоза в нашей стране. Это диктует необходимость использования современных эффективных молекулярно-генетических методов исследования для выявления, видовой идентификации и типирования *M. avium*.

Список литературы

1. Литвинов В.И., Макарова М.В., Краснова М.А. Нетуберкулезные микобактерии // М.: МНПЦБТ. — 2008. — С. 256.
2. Оттен Т.Ф., Бактериологическая и биохимическая идентификация микобактерий: метод. рекомендации. — СПб.: 1994. — 20 с.
3. Оттен Т.Ф., Васильев А.В. Микобактериоз. — СПб.: Медицинская пресса, 2005. — 224 с.
4. Adekambi T., Drancourt M. Dissection of phylogenetic relationships among 19 rapidly growing Mycobacterium species by 16S rRNA, hsp65, sodA, recA and rpoB gene sequencing // Int. J. Syst. Evol. Microbiol. — 2004. — Vol. 54. — P. 2095–2105.
5. Andersson M.A., Nikulin M., Koljalg U., Andersson M.C., Rainey F., Reijula K. Bacteria, molds, and toxins in water-damaged building materials // Appl. Environ. Microbiol. — 1997. — Vol. 63, N 2. — P. 387–393.

6. Arruda S., Bomfim G., Knights R., Huima-Byron T., Riley L.W. Cloning of an *M. tuberculosis* DNA fragment associated with entry and survival inside cells // *Science*. — 1993. — Vol. 261. — P. 1454–1457.
7. Bannantine J.P., Baechler E., Zhang Q., Li L.L., Kapur V. Genome scale comparison of *Mycobacterium avium* subsp. paratuberculosis with *Mycobacterium avium* subsp. *avium* reveals potential diagnostic sequences // *J. Clin. Microbiol.* — 2002. — Vol. 40. — P. 1303–1310.
8. Bartos M., Hlozek P., Svastova P., Dvorska L., Bull T., Matlova L., Parmova I., Kuhn I., Stubbs J., Moravkova M., Kintr J., Beran V., Melicharek I., Oceppek M., Pavlik I. Identification of members of *Mycobacterium avium* species by Accu-Probes, serotyping, and single IS900, IS901, IS1245 and IS901-flanking region PCR with internal standards // *J. Microbiol. Methods*. — 2006. — Vol. 64. — P. 333–345.
9. Beggs M.L., Stevanova R., Eisenach K.D. Species identification of *Mycobacterium avium* complex isolates by a variety of molecular techniques // *J. Clin. Microbiol.* — 2000. — Vol. 38. — P. 508–512.
10. Cangelosi G.A., Do J.S., Freeman R., Bennett, Semret M., Behr M.A. The two-component regulatory system *mtrAB* is required for morphotypic multidrug resistance in *Mycobacterium avium* // *Antimicrob. Agents Chemother.* — 2006. — Vol. 50, N 2. — P. 461–468.
11. Casali N., Konieczny M., Schmidt M.A., Riley L.W. Invasion activity of a *Mycobacterium tuberculosis* peptide presented by the *Escherichia coli* AIDA autotransporter // *Infect. Immun.* — 2002. — Vol. 70. — P. 6846–6852.
12. Cayrou C., Turenne C., Behr M.A., Drancourt M. Genotyping of *Mycobacterium avium* complex organisms using multispacer sequence typing // *Microbiology*. — 2010. — Vol. 156, N 3. — P. 687–694.
13. CDC. Guidelines for the Control of Nontuberculous *Mycobacteria* in the Northern Territory. — Northern Territory Government: 2002. — Режим доступа: http://www.health.nt.gov.au/library/scripts/objectifyMedia.aspx?file=pdf/10/88.pdf&siteID=1&str_title=Nontuberculous+mycobacteria.pdf. — Загл. с экрана.
14. Chia-wei Wu, Glasner J., Collins M., Naser S., Talaat A.M. Whole-Genome Plasticity among *Mycobacterium avium* subspecies: insights from comparative genomic hybridizations // *J. Bacteriol.* — 2006. — Vol. 188, N 2. — P. 711–723.
15. Chimara E., Ferrazoli L., Ueky S.Y., Martins M.C., Durham A.M., Arbeit R.D., Leão S.C. Reliable identification of mycobacterial species by PCR-restriction enzyme analysis (PRA)-*hsp65* in a reference laboratory and elaboration of a sequence-based extended algorithm of PRA-*hsp65* patterns // *BMC Microbiology*. — 2008. — Vol. 8. — P. 48.
16. Choudhuri B.S., Bhakta S., Barik R., Basu J., Kundu M., Chakrabarti P. Overexpression and functional characterization of an ABC (ATP-binding cassette) transporter encoded by the genes *drxA* and *drxB* of *Mycobacterium tuberculosis* // *Biochem. J.* — 2002. — Vol. 367. — P. 279–285.
17. Collins D.M., Cavaignac S., de Lisle G.W. Use of four DNA insertion sequences to characterize strains of the *Mycobacterium avium* complex isolated from animals // *Mol. Cell. Probes*. — 1997. — Vol. 11. — P. 373–380.
18. Covert T.C., Rodgers M.R., Reyes A.L., Stelma G.N. Occurrence of nontuberculous mycobacteria in environmental samples // *Appl. Environ. Microbiol.* — 1999. — Vol. 65, N 6. — P. 2492–2496.
19. Devallois A., Rastogi N. Computer-assisted analysis of *Mycobacterium avium* fingerprints using insertion elements IS1245 and IS1311 in a Caribbean setting // *Res. Microbiol.* — 1997. — Vol. 148. — P. 703–713.
20. Dvorska L., Bull T.J., Bartos M., Matlova L., Svastova P., Weston R.T., Kintr J., Parmova I., Van Soelingen D., Pavlik I. A standardized restriction fragment length polymorphism (RFLP) method for typing *Mycobacterium avium* isolates links IS901 with virulence for birds // *J. Microbiol. Methods*. — 2003. — Vol. 55. — P. 11–27.
21. Ellingson J.L., Stabel J.R., Bishai W.R., Frothingham R., Miller J.M. Evaluation of the accuracy and reproducibility of a practical PCR panel assay for rapid detection and differentiation of *Mycobacterium avium* subspecies // *Mol. Cell. Probes*. — 2000. — Vol. 14. — P. 153–161.
22. Euzéby J.P. List of Prokaryotic Names with Standing in Nomenclature. — Режим доступа: <http://www.bacterio.cict.fr>. — Загл. с экрана.
23. Falkinham III J.O. Nontuberculous mycobacteria in the environment // *Clin. Chest Med.* — 2002. — Vol. 23. — P. 529–551.
24. Falkinham III J.O., George K.L., Ford M.A., Parker B.C. Collection and characteristics of mycobacteria in aerosols // Morey P.R., Feeley Sr J.C., Otten J.A. Biological contaminants in indoor environments, American Society for Testing and Materials. — 1990. — P. 71–81.
25. Falkinham III J.O., Norton C.D., Le Chevallier M.W. Factors influencing numbers of *Mycobacterium avium*, *Mycobacterium intracellulare* and other mycobacteria in drinking water distribution systems // *Appl. Environ. Microbiol.* — 2001. — Vol. 67, N 3. — P. 1225–1231.
26. Field S., Fisher D., Cowie R. *Mycobacterium avium* complex pulmonary diseases in patients without HIV infection // *Chest*. — 2004. — Vol. 126. — P. 566–581.
27. George K.L., Parker B.C., Gruft H., Falkinham III J.O. Epidemiology of infection by nontuberculous mycobacteria. Growth and survival in natural waters // *Am. Rev. Respir. Dis.* — 1980. — Vol. 122. — P. 89–94.
28. Goslee S., Wolinsky E. Water as a source of potentially pathogenic mycobacteria // *Am. Rev. Respir. Dis.* — 1976. — Vol. 113. — P. 287–292.
29. Guerrero C., Bernasconi C., Burki D., Bodmer T., Telenti A. A novel insertion element from *Mycobacterium avium*, IS1245, is a specific target for analysis of strain relatedness // *J. Clin. Microbiol.* — 1995. — Vol. 33, N 2. — P. 304–307.

30. Ichiyama S., Shimokata K., Tsukamura M. The isolation of *Mycobacterium avium* complex from soil, water, and dusts // *Microbiol. Immunol.* — 1988. — Vol. 32, N 7. — P. 733–739.
31. Iivanainen E., Katila M.L., Martikainen P.J. *Mycobacteria* in drinking water networks: occurrence in water and loose deposits, formation of biofilms // Abstracts of the European Society of Mycobacteriology. — Lucerne, Switzerland, 1999.
32. Inagaki T., Nishimori K., Yagi T., Ichikawa K., Makoto Moriyama M., Nakagawa T., Shibayama T., Uchiya K., Nikai T., Ogawa K. Comparison of a Variable-Number Tandem-Repeat (VNTR) method for typing *Mycobacterium avium* with *Mycobacterial Interspersed Repetitive-Unit-VNTR* and *IS1245* Restriction Fragment Length Polymorphism Typing // *J. Clin. Microbiol.* — 2009. — Vol. 47, N 7. — P. 2156–2164.
33. Iseman M. Medical management of pulmonary disease caused by *Mycobacterium avium* complex // *Clin. Chest Med.* — 2003. — Vol. 23. — P. 633–641.
34. Johansen T.B., Djonje B., Jensen M.R., Olsen I. Distribution of *IS1311* and *IS1245* in *Mycobacterium avium* subspecies revisited comparison of Variable-Number Tandem-Repeat (VNTR) method // *J. Clin. Microbiol.* — 2005. — Vol. 43, N 5. — P. 2500–2502.
35. Keller A.P., Beggs M.L., Amthor B., Bruns F., Meissner P., Haas W.H. Evidence of the presence of *IS1245* and *IS1311* or closely related insertion elements in nontuberculous mycobacteria outside of the *Mycobacterium avium* complex // *J. Clin. Microbiol.* — 2002. — Vol. 40. — P. 1869–1872.
36. Kunze Z.M., Wall S., Appelberg R., Silva M.T., Portaels F., McFadden J.J. *IS901*, a new member of a widespread class of atypical insertion sequences, is associated with pathogenicity in *Mycobacterium avium* // *Mol. Microbiol.* — 1991. — Vol. 5. — P. 2265–2272.
37. Levy-Frebault V.V., Portaels F. Proposed minimal standards for the genus *Mycobacterium* and for description of new slowly growing *Mycobacterium* species // *Int. J. Syst. Bacteriol.* — 1992. — Vol. 42. — P. 315–323.
38. Mahillon J., Chandler M. Insertion sequences // *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* — 1998. — Vol. 62, N 3. — P. 725–774.
39. Mani A.K., Kane G. Pulmonary *Mycobacterium avium* — intracellulare complex infection in the immunocompetent host // *Pulmonary disease board review manual.* — 2003. — Vol. 11, Part 1. — 12 p.
40. Martín-Casabona N., Bahrmand A.R., Bennedsen J., Thomsen V.O., Curcio M., Fauville-Dufaux M., Feldman K., Havelkova M., Katila M.L., Köksalan K., Pereira M.F., Rodrigues F., Pfyffer G.E., Portaels F., Urgell J.R., Rüschi-Gerdes S., Tortoli E., Vincent V., Watt B; Spanish Group for Non-Tuberculosis Mycobacteria. Nontuberculous mycobacteria: patterns of isolation. A multicountry retrospective survey // *Int. J. Tuberc. Lung Dis.* — 2004. — Vol. 8. — P. 1186–1193.
41. McGarvey J., Bermudes L. Phenotypic and genomic analyses of the *Mycobacterium avium* complex reveal differences in gastrointestinal invasion and genomic composition // *Infect. Immun.* — 2001. — Vol. 69. — P. 7242–7249.
42. McNabb A., Eisler D., Adie K., Amos M., Rodrigues M., Stephens G., Black W.A., Isaac-Renton J. Assessment of Partial Sequencing of the 65-Kilodalton heat shock protein gene (*hsp65*) for routine identification of *Mycobacterium* species isolated from clinical sources // *J. Clin. Microbiol.* — 2004. — Vol. 42, N 7. — P. 3000–3011.
43. Moulin G.C., Stottmeier K.D., Pelletier P.A., Tsang A.Y., Hedley-Whyte J. Concentration of *Mycobacterium avium* by hospital hot water systems // *JAMA.* — 1988. — Vol. 260, N 11. — P. 1599–1601.
44. O'Brien D., Currie B., Krause V. Nontuberculous mycobacterium disease in Northern Australia: a case series and review of the literature // *Clin. Infect. Dis.* — 2000. — Vol. 31. — P. 958–968.
45. Pavlik I., Svastova P., Bartl J., Dvorska L., Rychlik I. Relationship between *IS901* in *Mycobacterium avium* complex strains isolated from birds, animals, humans, and the environment and virulence for poultry // *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* — 2000. — Vol. 7. — P. 212–217.
46. Pedrosa J., Florido M., Kunze Z.M., Castro A.G., Portaels F., McFadden J., Silva M.T., Appelberg R. Characterization of the virulence of *Mycobacterium avium* complex (MAC) isolates in mice // *Clin. Exp. Immunol.* — 1994. — Vol. 98. — P. 210–216.
47. Pestal-Caron M., Arbeit R.D. Characterization of *IS1245* for strain typing of *Mycobacterium avium* // *J. Clin. Microbiol.* — 1998. — Vol. 36, N 7. — P. 1859–1863.
48. Philalay J.S., Palermo C.O., Hauge A.K., Rustad T.R., Cangelosi G.A. Genes required for intrinsic multidrug resistance in *Mycobacterium avium* // *Antimicrob. Agents Chemother.* — 2004. — Vol. 48, N 9. — P. 3412–3418.
49. Radomski N., Thibault V.C., Karoui C., de Cruz K., Cochard T., Gutiérrez C., Supply P., Biet F., Boschirolì M.L. Determination of genotypic diversity of *Mycobacterium avium* subspecies from human and animal origins by mycobacterial interspersed repetitive unit-variable-number tandem-repeat and *is1311* restriction fragment length polymorphism typing // *J. Clin. Microbiol.* — 2010. — Vol. 48, N 4. — P. 1026–1034.
50. Ritacco V., Kremer K., van der Laan T., Pijnenburg J.E., de Haas P.E., Van Soolingen D. Use of *IS901* and *IS1245* in RFLP typing of *Mycobacterium avium* complex: relatedness among serovar reference strains, human and animal isolates // *Int. J. Tuberc. Lung Dis.* — 1998. — Vol. 2. — P. 242–251.
51. Rodgers M.R., Blackstone B.J., Reyes A.L., Covert T.C. Colonisation of point of use water filters by silver resistant nontuberculous mycobacteria // *J. Clin. Pathol.* — 1999. — Vol. 52. — P. 629–632.
52. Rossi M., Flepp M., Telenti A., Schiffer V., Egloff N., Bucher H., Vernazza P., Bernasconi E., Weber R., Rickenbach M., Furrer H. Disseminated *M. avium* complex infection in the Swiss HIV cohort study: de-

- clining incidence, improved prognosis and discontinuation of maintenance therapy // *Swiss Med. Wkly.* — 2001. — Vol. 131. — P. 471–478.
53. Shinnick T.M., Good R.C. Mycobacterial taxonomy // *Europ. J. Clin. Microbiol.* — 1994. — Vol. 13, N 11. — P. 884–901.
54. Sreevatsan S., Pan X., Stockbauer K.E., Connell N.D., Kreiswirth B.N., Whittam T.S., Musser J.M. Restricted structural;gene polymorphism in the Mycobacterium tuberculosis complex indicates evolutionarily recent global dissemination // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 1997. — Vol. 94. — P. 9869–9874.
55. Stine T.M., Harris A.A., Levin S., Rivera N., Kaplan R.L. A pseudoepidemic due to atypical mycobacteria in a hospital water supply // *JAMA.* — 1987. — Vol. 258, N 6. — P. 809–811.
56. Taylor R.H., Falkinham III J.O., Norton C.D., LeChevalier M.W. Chlorine, chloramine, chlorine dioxide, and ozone susceptibility of Mycobacterium avium // *Appl. Environ. Microbiol.* — 2000. — Vol. 66. — P. 1702–1705.
57. Telenti A., Marchesi F., Balz M., Bally F., Bottger E.C., Bodmer T. Rapid identification of mycobacteria to the species level by polymerase chain reaction and restriction enzyme analysis // *J. Clin. Microbiol.* — 1993. — Vol. 31. — P. 175–178.
58. Thibault V.C., Grayon M., Boschirolu M., Hubbans C., Overduin P., Stevenson K., Gutierrez M.C., Supply P., Biet F. New variable-number tandem-repeat markers for typing Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis and M. avium strains: comparison with IS900 and IS1245 restriction fragment length polymorphism typing // *J. Clin. Microbiol.* — 2007. — Vol. 45, N 8. — P. 2404–2410.
59. Timpe A., Runyon E.N. The relationship of «atypical» acid-fast bacteria to human diseases // *J. Lab. Clin. Med.* — 1954. — N 44. — P. 202–209.
60. Turenne C.Y., Wallace R., Behr M.A. Mycobacterium avium in the postgenomic era // *Clin. Microb. reviews.* — 2007. — Vol. 20, N 2. — P. 205–229.
61. Van Soolingen D., Bauer J., Ritacco V., Leao S.C., Pavlik I., Vincent V., Rastogi N., Gori A., Bodmer T., Garzelli C., Garcia M.J. IS1245 restriction fragment length polymorphism typing of Mycobacterium avium isolates: proposal for standardization // *J. Clin. Microbiol.* — 1998. — Vol. 36. — P. 3051–3054.
62. Wallace R., Glassroth J., Griffith D. Diagnosis and treatment of disease caused by nontuberculous mycobacteria // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* — 1997. — Vol. 156. — P. 1–25.
63. Whittington R., Marsh I., Choy E., Cousins D. Polymorphisms in IS1311, an insertion sequence common to Mycobacterium avium and M. avium subsp. paratuberculosis, can be used to distinguish between and within these species // *Mol. Cell. Probes.* — 1998. — Vol. 12. — P. 349–358.

ИЛЛЮСТРАЦИЯ К СТАТЬЕ Д.А. СТАРКОВОЙ
«*Mycobacterium avium* — АКТУАЛЬНЫЙ
ВОЗБУДИТЕЛЬ МИКОБАКТЕРИОЗА ЧЕЛОВЕКА»
(с. 7–14)

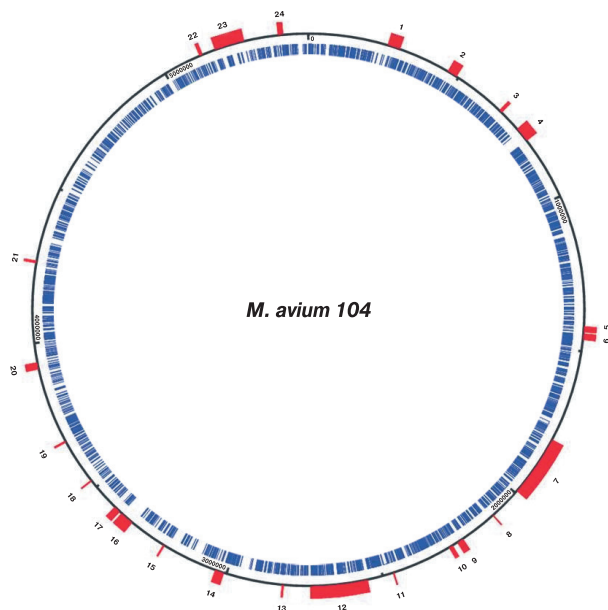


Рисунок. Карта расположения геномных островов референс-штамма *M. avium* 104 [Chia-wei Wu, Glasner J., Collins M., Naser S., Talaat A.M.]

Геномные острова штамма *M. avium* 104 — прямоугольники красного цвета. Кодрующие участки (с учетом делеций) штамма *M. avium* 104 — внутреннее кольцо (синего цвета)