

ЛЕКАРСТВЕННАЯ УСТОЙЧИВОСТЬ, ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ И ВИРУЛЕНТНОСТЬ *IN VITRO* ШТАММОВ *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* РАЗЛИЧНЫХ ГЕНОТИПОВ

О.А. Маничева¹, О.В. Нарвская², И.В. Мокроусов², А.А. Вязовая²,
В.Ю. Журавлев¹, А.О. Барнаулов¹, М.З. Догондзе¹, Т.Ф. Оттен¹,
Б.И. Вишнеvский¹

¹ ФГУ СПб НИИ фтизиопульмонологии Минздравсоцразвития РФ, Санкт-Петербурге

² Санкт-Петербургский НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербурге

Резюме. Исследованы лекарственная чувствительность, спектр мутаций, обуславливающих резистентность к рифампицину и изониазиду, жизнеспособность, цитотоксичность и проведено генотипирование 111 клинических изолятов *Mycobacterium tuberculosis* (МБТ). Сполиготипирование выявило 28 сполиготипов; наибольшее число штаммов принадлежало к генетическим семействам Beijing и LAM. Типирование 59 штаммов сполиготипа SIT1 (Beijing) позволило дифференцировать 19 вариантов IS6110-RFLP-профилей: 13 были индивидуальны, 6 — представлены кластерами. Кластеры A0 и B0 включали наибольшее число штаммов *M. tuberculosis* — 21 (35,6%) и 17 (28,8%) соответственно. Высокая частота МЛУ и ШЛУ штаммов Beijing была ассоциирована с мутациями *rpoB* Ser531→Leu и *katG* Ser315→Thr. Штаммы *M. tuberculosis* других генетических семейств (T, H, Ural, U) чаще проявляли лекарственную чувствительность. Уровень устойчивости к изониазиду *in vitro* МЛУ/ШЛУ штаммов МБТ различных генотипов, особенно LAM, был высоким при сочетании мутаций *katG* Ser315→Thr и *inhA*_T15. Показатели жизнеспособности и цитотоксичности штаммов МБТ изученных генотипов с разнообразными спектрами мутаций и фенотипической лекарственной устойчивости существенно не различались.

Ключевые слова: *Mycobacterium tuberculosis*, генотипы, лекарственная устойчивость, мутации, жизнеспособность, вирулентность.

DRUG RESISTANCE, VIABILITY AND VIRULENCE *IN VITRO* OF *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* STRAINS OF DIFFERENT GENOTYPES

Manicheva O.A., Narvskaya O.V., Mokrousov I.V., Vyazovaya A.A., Zhuravlev V.U., Barnaulov A.O., Dogonadze M.Z., Otten T.F., Vishnevskiy B.I.

Abstract. The drug resistance, mutation spectrum caused resistance to rifampicin and isoniazid, viability, cytotoxicity were studied as well as 111 clinical isolates of *Mycobacterium tuberculosis* (MBT) were genotyped. Spoligotyping revealed 28 spoligotypes; the greatest number of strains belonged to genetic families Beijing and LAM. The typing of 59 strains of spoligotype SIT1 (Beijing) allowed to differentiate 19 variants of IS6110-RFLP-profiles: 13 of them were individual and 6 were presented by clusters. The clusters A0 and B0 included the greatest number of *M. tuberculosis* strains — 21 (35,6%) and 17 (28,8%) accordingly. The high frequency of MLU and SLU of Beijing strains was associated with mutations *rpoB* Ser531→Leu and *katG* Ser315→Thr. The strains of *M. tuberculosis* belonged to another genetic families (T, H, Ural, U) have shown drug resistance more often. The level of resistance to isoniazid *in vitro* in MLU/SLU strains of MBT of different genotypes, especially, was high in case of mixed mutations such

поступила в редакцию 02.06.2011
принята к печати 28.06.2011

Адрес для переписки:

Маничева Ольга Алексеевна,
д.б.н., старший научный сотрудник
лаборатории микробиологии
ФГУ СПб НИИФ Минздравсоцразвития РФ

194064, Санкт-Петербург,
ул. Политехническая, 32.

Тел.: (812) 297-86-31.

Факс: (812) 297-16-26.

E-mail: olgamanicheva@rambler.ru

© Маничева О.А. и соавт., 2011

as *katG* Ser315→Thr и *inhA*_T15. The rates of viability and cytotoxicity of MBT strains of studied genotypes with different spectrum of mutations and phenotypic drug resistance were not substantially distinguished. (*Infekc. immun.*, 2011, vol. 1, N 4, p. 341–348)

Key words: *Mycobacterium tuberculosis*, genotype, drug resistance, mutations, viability, virulence.

Введение

Молекулярно-генетические исследования комплекса независимых хромосомных маркеров микобактерий выявили генетическую неоднородность глобальной и локальных популяций *Mycobacterium tuberculosis* — основного возбудителя туберкулеза человека [20]. Так, начиная с 1996 г. у штаммов *M. tuberculosis*, циркулирующих на территории Северо-Западного федерального округа (СЗФО), выявлено около 160 сполитотипов, представляющих более 20 генетических семейств и подсемейств (Beijing, LAM, T, H и др.) [5]. Доминирование на территории РФ штаммов микобактерий туберкулеза (МБТ) с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ) к основным противотуберкулезным препаратам (ПТП) — рифампицину и изониазиду — диктует необходимость изучения связи важнейших биологических свойств возбудителя — жизнеспособности, лекарственной чувствительности и вирулентности с принадлежностью штаммов *M. tuberculosis* к определенному генетическому семейству.

Цель работы — изучить фенотипическую и генотипическую лекарственную устойчивость, жизнеспособность и вирулентность *in vitro* штаммов *M. tuberculosis* различных генотипов.

Материалы и методы

Культивирование штаммов МБТ осуществляли общепринятым методом, делая посев исследуемого материала на питательные среды Левенштейна–Йенсена и Финна 2. Жизнеспособность выделенных штаммов МБТ считали низкой при массивности роста менее 20 колоний и длительности роста более 30 дней, высокой — более 100 колоний и менее 30 дней, средней — при других сочетаниях показателей роста [2]. Чувствительность культур МБТ к определенным концентрациям ПТП (рифампицину, изониазиду, стрептомицину, этамбутолу, препаратам второго ряда) определяли общепринятым непрямым методом абсолютных концентраций на среде Левенштейна–Йенсена [6]. При наличии устойчивости к одному (любому) из ПТП штаммы МБТ считали монорезистентными, двум и более препаратам — полирезистентными, одновременно устойчивые к рифампицину и изониазиду — мультирезистентными (МЛУ). Широкоую лекарственную устойчивость (ШЛУ) определяли как устойчивость штаммов МБТ к изониазиду, рифампицину, фторхинолонам и к одному из инъекци-

онных ПТП — канамицину (амикацину) или капреомицину [15, 21].

ДНК из чистых культур МБТ получали с помощью коммерческого набора для выделения нуклеиновых кислот (проба НК, НПО «ДНК-Технология», Россия) или смеси SDS, протеиназы К и СТАВ²/NaCl [12]. Генотипирование штаммов осуществляли с помощью методов сполитотипирования [17] и IS6110-RFLP [12]. Профили сигналов гибридизации оценивали визуально и сравнивали с представленными в постоянно обновляемых локальной базе лаборатории молекулярной микробиологии СПб НИИЭМ имени Пастера и международной базе сполитотипов SpolDB4.0 [9]. Детекцию мутаций в генах *rhoB* (ассоциированы с устойчивостью к рифампицину), *katG*, *inhA* и *ahpC-oxuR* (ассоциированы с устойчивостью к изониазиду) осуществляли у 91 штамма с помощью тест-системы «ТБ-БИОЧИП» (Регистрационное удостоверение № ФС 03262004/0889–04) ИМБ РАН методом мультиплексной ПЦР с включением флуоресцентной метки.

Для оценки цитотоксичности использовали свежевыделенные, чаще 3-недельные культуры МБТ, пассированные не более 5 раз на среде Левенштейна–Йенсена. За 4 суток до заражения культуры МБТ пересеивали на бульон Миддлбрука 7Н9 (Becton Dickinson) с добавлением 1,26 г/л панкреатического гидролизата казеина и 0,02% Tween 80, а также ростовой добавки OADC (Becton Dickinson или Oxoid). Специальными методами (осаждение конгломератов, перемешивание и обработка ультразвуком дважды в день) добивались высокого содержания в суспензии одиночных клеток — 80–85%.

Для изучения индукции гибели макрофагов клетки ТНР-1, дифференцированные с помощью 10 нМ РМА (phorbol-miristate-acetat, Sigma), заражали в соотношении 50 микобактерий/1 макрофаг. Концентрация клеток МБТ/лунку — 3×10^4 . Через 96 ч оценивали жизнеспособность макрофагов с помощью теста окрашивания генцианвиолетом [10]. Использовали 96-луночные планшеты, по 12–24 лунки на 1 штамм. Опыт повторяли 2–3 раза. Цитотоксичность штамма оценивали в сравнении с лабораторным штаммом H37Rv как: высокую, если процент гибели макрофагов был достоверно выше, чем у штамма H37Rv; среднюю — при значениях, колеблющихся в пределах доверительного интервала средних значений лабораторного штамма; низкую — при достоверно меньших значениях.

ТАБЛИЦА 2. ХАРАКТЕРИСТИКА ЛЕКАРСТВЕННОЙ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ ШТАММОВ МБТ РАЗЛИЧНЫХ ГЕНОТИПОВ

Генетическое семейство	Число штаммов										всего
	чувствительных		монорезистентных		полирезистентных		МЛУ		ШЛУ		
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	
Beijing	10	16,4	1	1,6	3	4,9	30	49,2	17	27,9	61
LAM	10	40,0	3	12,0	2	8,0	8	32,0	2	8,0	25
T	7	58,3	4	33,3	1	8,3					12
H	3	42,9			1	14,3	3	42,9			7
Ural	2	66,7			1	33,3					3
X	1										1
U (возможно T)	1										1
Не определено	1										1
Всего	35	31,5	8	7,2	8	7,2	41	36,9	19	17,1	111

Примечание. Различия между Beijing и LAM по суммарному числу МЛУ/ШЛУ штаммов достоверны: $\chi^2 = 9,296$, $p = 0,003$.

90,5 и 94,2% соответственно. У штаммов с иными профилями IS6110-RFLP (суммарно) доля МЛУ/ШЛУ была существенно меньше и составляла 52,4%, что отличалось как от A0 ($\chi^2 = 5,71$, $p = 0,016$), так и от B0 ($\chi^2 = 6,06$, $p = 0,018$).

Мутации в генах *rpoB* и *katG315*, *inhA*, *ahpC*, ассоциированные с ЛУ МБТ к основным ПТП — рифампицину и изониазиду — определяли у 91 (50 МЛУ/ШЛУ, 8 полирезистентных, 6 монорезистентных, 27 чувствительных) из 111 штаммов различных генотипов с известными параметрами фенотипической лекарственной чувствительности. У 55 (60,4%) из 91 штамма МБТ различных генотипов была выявлена хотя бы одна из мутаций в упомянутых генах. У остальных 36 штаммов мутации выявлены не были. Из них 27 (75,0%) штаммов были фенотипически чувствительными не только к рифампицину и изониазиду, но и к остальным препаратам первого и второго ряда; 6 штаммов были монорезистентны к стрептомицину и 3 штамма полирезистентны (устойчивы к стрептомицину и этамбутолу или канамицину).

В целом выявлена хорошая корреляция результатов определения лекарственной чувствительности штаммов, полученных культуральным методом, и с помощью биочипов. Несовпадение результатов обнаружено в четырех случаях (4,4%): мутации устойчивости к изониазиду не были выявлены у трех штаммов Beijing (моно-, полирезистентный и МЛУ), фенотипически устойчивых к 1 мкг/мл препарата в культуральной среде; у одного полирезистентного штамма Beijing, чувствительного к рифампицину (40 мкг/мл), была обнаружена замена *rpoB* 516Asp→Tyr.

У подавляющего большинства — 40 (80,0%) из 50 МЛУ/ШЛУ штаммов МБТ различных генотипов (Beijing — 36, LAM — 2, H — 2) выявлена замена *rpoB* Ser531→Leu, которая сопровождалась дополнительной мутацией Leu533→Pro у двух МЛУ штаммов Beijing (табл. 3).

Мутация в гене *katG* Ser315→Thr выявлена у всех МЛУ/ШЛУ штаммов различных генотипов, причем у 12 из них была также мутация *inhA*_T15 (Beijing — 3, LAM — 8, H — 1) и у двух (Beijing) — дополнительная замена Ile335→Val в гене *katG* (табл. 3).

У 10 МЛУ/ШЛУ штаммов наблюдали замены в кодонах 516, 526, 511 и 533 гена *rpoB* (табл. 3). Среди них встречались мутации His526→Leu, а также Asp516→Val/Tyr, Leu533→Pro; двойные мутации His526→Asn и Leu511→Pro, а также Asp516→Tyr и Leu511→Arg. У всех штаммов этой группы определена замена *katG* Ser315→Thr, причем у некоторых из них дополнительно выявлены мутации *katG* Ile335→Val, *inhA*_G8, но чаще — *inhA*_T15 (у 6 из 7 штаммов LAM).

Сочетание мутаций *katG* Ser315→Thr и *inhA*_T15 достоверно повышало уровень устойчивости к изониазиду у МЛУ/ШЛУ штаммов МБТ различных генотипов (Beijing — 3, LAM — 8, H — 1). Так, у 9 (75,0%) из 12 штаммов с таким сочетанием мутаций и лишь у 3 (8,8%, все штаммы Beijing) из 34 штаммов, не имевших мутации *inhA*_T15, выявлена резистентность к препарату в высокой концентрации (10 мкг/мл) ($\chi^2 = 16,86$, $p < 0,001$).

МЛУ/ШЛУ штаммы LAM ($n = 9$) были неоднородны по спектру мутаций устойчивости к рифампицину, и у 8 из них замена *katG* Ser315→Thr сочеталась с *inhA*_T15 (табл. 3).

Исследование жизнеспособности 111 штаммов МБТ не выявило достоверных различий в числе культур с высокими, средними и низкими показателями ни между генетическими семействами, ни между различными кластерами семейства Beijing. В целом преобладали культуры с высокой скоростью и массивностью роста, составляя от 44,0 до 45,9% от общего числа штаммов семейств LAM ($n = 25$) и Beijing ($n = 61$) соответственно.

Среди штаммов МБТ с различным спектром лекарственной чувствительности чаще выяв-

ТАБЛИЦА 3. МУТАЦИИ, АССОЦИИРОВАННЫЕ С РЕЗИСТЕНТНОСТЬЮ К РИФАМПИЦИНУ И ИЗОНИАЗИДУ У МЛУ/ШЛУ ШТАММОВ МБТ РАЗЛИЧНЫХ ГЕНОТИПОВ

Мутация	Число штаммов МЛУ/ШЛУ			
	Beijing (n = 39)	LAM (n = 9)	H (n = 2)	Всего
<i>rpoB</i> Ser531→Leu <i>katG</i> Ser315→Thr	30		1	31
<i>rpoB</i> Ser531→Leu, Leu533→Pro <i>katG</i> Ser315→Thr	1			1
<i>rpoB</i> Ser531→Leu <i>katG</i> Ser315→Thr, inhA_T15	3	2	1	6
<i>rpoB</i> Ser531→Leu <i>katG</i> Ser315→Thr, Ile335→Val	1			1
<i>rpoB</i> Ser531→Leu, Leu533→Pro <i>katG</i> Ser315→Thr, Ile335→Val	1			1
<i>rpoB</i> His526→Leu <i>katG</i> Ser315→Thr, inhA_T15		2		2
<i>rpoB</i> His526→Asn, Leu511→Arg <i>katG</i> Ser315→Thr	1			1
<i>rpoB</i> His526→Leu, Leu533→Pro <i>katG</i> Ser315→Thr		1		1
<i>rpoB</i> Asp516→Val <i>katG</i> Ser315→Thr	1			1
<i>rpoB</i> Asp516→Val <i>katG</i> Ser315→Thr, inhA_T15		2		2
<i>rpoB</i> Asp516→Tyr, Leu511→Arg <i>katG</i> Ser315→Thr, inhA_T15		2		2
<i>rpoB</i> Leu533→Pro <i>katG</i> Ser315→Thr, inhA_G8	1			1
Всего	39	9	2	50

ляли изоляты с высоким уровнем жизнеспособности: от 40,0% среди чувствительных до 75,0% среди устойчивых к одному препарату. Доля штаммов с высокой жизнеспособностью была практически одинаковой как в случае МЛУ, так и ШЛУ и составляла, соответственно, 48,8 и 47,4%. Во всех случаях доля штаммов с низкими показателями была меньше суммарной доли штаммов с высокими и средними значениями показателя жизнеспособности, варьируя от 0 до 41,5%.

Соотношение числа штаммов с высокой, средней и низкой жизнеспособностью было сходным у изолятов с мутациями и без них (данные не приводятся). И в том и в другом случае доля штаммов с высокой массивностью и скоростью роста была наибольшей.

Высокую способность активировать гибель макрофагов проявляли 36,4% штаммов, среднюю — 22,7%, и низкую — 40,9% из 111 исследованных культур МБТ. Между различными генетическими семействами не обнаружено достоверных различий в соотношении числа штаммов с высокой, средней или низкой цитотоксичностью. Как правило, доля изолятов с высокой цитотоксичностью была несколько меньше или равна доле культур с низким ее показателем. Соответственно: Beijing — 32,8

и 42,6%, LAM — 41,7 и 45,8%, T — по 33,3%. Небольшое число изолятов, принадлежащих к другим семействам (7 и менее) не позволяло объективно оценить соотношение числа штаммов с разной степенью цитотоксичности. Следует отметить, что во всех случаях доля штаммов МБТ с высокими и средними (в сумме) показателями была больше доли изолятов с низкой способностью к активации гибели макрофагов.

Вместе с тем, внутри семейства Beijing у кластера A0 в сравнении с B0 отмечали некоторое преобладание доли штаммов с низкой цитотоксичностью — 52,4% против 17,6% ($\chi^2 = 3,493$, $p = 0,062$). Из 21 штамма с иным IS6110-RFLP-профилем 6 (28,6%) обладали высокой способностью активировать гибель макрофагов, 5 (23,8%) — средней и 10 (47,6%) — низкой.

Доля штаммов с низкой цитотоксичностью была несколько больше у изолятов с МЛУ/ШЛУ, чем у чувствительных, моно- и полирезистентных штаммов: 50,0 и 47,4% против 37,1, 12,5 и 33,3%. Однако, эти различия не достоверны ($p = 0,398$ и $p = 0,104$ соответственно), что связано с небольшим числом моно- и полирезистентных штаммов. Следует отметить, что 47 (78,3%) из 60 штаммов с МЛУ/ШЛУ принадлежали семейству Beijing.

При сопоставлении показателей цитотоксичности и жизнеспособности было выявлено, что среди штаммов с высокой способностью вызывать гибель макрофагов преобладали изоляты с высокой жизнеспособностью — 64,3%. При низких значениях цитотоксичности чаще наблюдали и низкие параметры массивности и скорости роста МБТ — 41,5% против 14,3% в первом случае ($\chi^2 = 8,36$, $p = 0,015$).

Обсуждение

Популяция МБТ на Северо-Западе России по результатам сполиготипирования неоднородна, причем около половины циркулирующих штаммов МБТ принадлежат к эпидемиологически значимому генотипу Beijing [4, 5]. Поэтому в настоящее исследование были включены МБТ различных генотипов, среди которых преобладали штаммы семейств Beijing (сполиготип SIT1) — 54,9% и LAM различных сполиготипов — 22,5%.

Обращает на себя внимание разнообразие характеристик фенотипической лекарственной устойчивости штаммов различных генотипов. Так, доля МЛУ/ШЛУ (суммарно) штаммов Beijing (77,0%) существенно превышала такую штаммов LAM (40,0%). Высокая частота встречаемости штаммов Beijing с МЛУ/ШЛУ сопровождалась большим удельным весом мутаций — *rpoB* Ser531→Leu и *katG* Ser315→Thr, обуславливающих резистентность к высоким концентрациям рифампицина и изониазида *in vitro*. Напротив, другие семейства отличала большая доля чувствительных штаммов и разнообразие спектра мутаций, ассоциированных с устойчивостью к данным препаратам. Для штаммов семейства LAM было характерно сочетание различных мутаций, обуславливающих мультирезистентность, с мутацией *inhA* (*inhA*_T15). Комплекс этой мутации с *katG* Ser315→Thr фенотипически проявлялся устойчивостью к высокой концентрации изониазида (10 мкг/мл) *in vitro* в 75,0% случаев.

Жизнеспособность МБТ, то есть соотношение массивности и скорости роста микроорганизма при выделении его из патологического материала, в целом не коррелировала ни с генотипом, ни со спектром лекарственной чувствительности, ни с типом мутаций. Во всех случаях преобладали штаммы с высокими и средними (суммарно) показателями. Этот феномен вполне объясним, если рассматривать жизнеспособность не столько как биологическое свойство возбудителя туберкулеза, сколько как результат взаимодействия двух субъектов: организма хозяина и конкретной популяции МБТ. Исход этого взаимодействия определяется генотипическими и фенотипическими особенностями как хозяина, так и патогена. Для заболевшего туберкулезом индивида выделяемый им штамм

МБТ является заведомо вирулентным, что объясняет факт превалирования изолятов МБТ с высокой жизнеспособностью, а также и корреляцию этого показателя с течением туберкулезного процесса, в частности диссеминированного туберкулеза легких [3].

Цитотоксичность — способность МБТ активировать гибель макрофагов, также не зависела от генотипа, характеристик лекарственной чувствительности и спектра мутаций штамма микроорганизма. В целом доля изолятов с низкой цитотоксичностью была чуть больше доли культур МБТ с высокими показателями. Однако число штаммов с низкой способностью активировать гибель макрофагов было всегда меньше суммарного числа изолятов с высокими и средними показателями. Гибель клеток может быть результатом апоптоза, пироптоза, пиронекроза. По данным литературы вирулентные МБТ способны как индуцировать, так и ингибировать гибель клеток хозяина, преимущественно путем апоптоза [8]. Так, у МБТ выявлены гены, ответственные за ингибицию апоптоза: *nuoG*, *SecA2*, *pknE* [14, 16, 23]. Кроме того, МБТ способны влиять на апоптоз, индуцируемый посредством Fas-лиганда и цитокина TNF α . Один из механизмов вирулентности МБТ — повреждение мембран митохондрий, ведущее к некрозу клетки [11]. Баланс между гибелью и выживанием клеток хозяина определяется как особенностями инфицированных клеток, так и свойствами патогена. В частности, этот баланс в определенной мере зависит от степени бактериальной нагрузки. Заражение макрофагов вирулентными МБТ в соотношении бактерия : макрофаг ≥ 25 , стимулирует TNF α -независимый апоптоз и приводит в конечном счете к некрозу [18]. При высокой внутриклеточной бактериальной нагрузке гибель макрофагов происходит путем, отличным классического апоптоза, пироптоза и пиронекроза. При этом нарушается проницаемость лизосом, высвобождаются гидролазы, повреждаются митохондрии и клетка погибает. Этот механизм приводит к выходу МБТ во внеклеточное пространство и распространению возбудителя [19]. В работе одного из авторов настоящей статьи показана прямая корреляция способности МБТ вызывать гибель макрофагов при высокой бактериальной нагрузке и тяжести течения туберкулезного процесса [1]. Полученные нами результаты подтверждают данные литературы о значимости цитотоксических свойств МБТ как одного из факторов вирулентности. Способность МБТ вызывать гибель клеток человека реализуются в условиях макроорганизма с его индивидуальными особенностями. В конечном итоге она зависит от экспрессии генов возбудителя в ответ на воздействие макроорганизма, чем можно объяснить отсутствие корреляции этих свойств

с принадлежностью возбудителя к какому-либо генетическому семейству, а также со спектром чувствительности и типом мутаций. Следует отметить, что вопрос о соотношении апоптоз/некроз при меньших соотношениях бактерия/клетка остается открытым.

Обнаруженный нами факт, что среди представителей всех генетических семейств, в том числе и Beijing, встречаются штаммы как с высокими, так и низкими значениями показателей жизнеспособности и цитотоксичности совпадает с данными литературы о разной степени вирулентности и фитнеса штаммов Beijing [13, 22]. На модели туберкулеза с использованием мышей BALB/c Aguilar D. и соавт. [7] показали, что вирулентность штаммов МБТ коррелирует с их трансmissивностью, причем в одной сублинии есть нетрансмиссивные и трансmissивные изоляты. У больных туберкулезом органов дыхания сочетание высокой цитотоксичности, жизнеспособности, МЛУ и принадлежности к Beijing выделяемых МБТ чаще встречается при наиболее тяжелой клинико-рентгенологической картине процесса [1]. Таким образом, исследование взаимодействия хозяин–патоген необходимо проводить комплексно с учетом различных свойств возбудителя туберкулеза в тесной связи с молекулярно-эпидемиологическими и клиническими данными.

Список литературы

1. Барнаулов А.О. Клиническое значение и эффективность лечения туберкулеза легких в зависимости от степени цитотоксичности возбудителя: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. — СПб., 2010. — 22 с.
2. Вишнеvский Б.И. Влияние внутривенной гормонально-химиотерапии на жизнеспособность микобактерий туберкулеза // Проблемы туберкулеза. — 1971. — № 8. — С. 21–25.
3. Корецкая Н.М., Ярыгина И.В. Сравнительная характеристика диссеминированного туберкулеза легких у больных, выделяющих микобактерии туберкулеза с высокой и низкой жизнеспособностью // Проблемы туберкулеза и болезней легких. — 2007. — № 2. — С. 17–20.
4. Нарвская О.В. Геномный полиморфизм *Mycobacterium tuberculosis* и его значение в эпидемическом процессе: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. — СПб., 2003. — 35 с.
5. Нарвская О.В., Мокроусов И.В. Молекулярная характеристика популяции *Mycobacterium tuberculosis* на Северо-Западе России // Совершенствование медицинской помощи больным туберкулезом: материалы Всерос. науч.-практ. конф. 21–23 октября 2010 года. — СПб., 2010. — С. 56–57.
6. О совершенствовании противотуберкулезных мероприятий в Российской Федерации: Приказ Минздрава РФ от 21.03.2003 г. № 109.
7. Aguilar D., Hanekom M., Mata D., Gey van Pittius N., Helden P. van, Warren R., Hernandez-Pando R. *Mycobacterium tuberculosis* strains with the Beijing genotype demonstrate variability in virulence associated with transmission // *Tuberculosis*. — 2010. — Vol. 90. — P. 319–325.
8. Briken V., Miller J. Living in the edge: inhibition of host cell apoptosis by *Mycobacterium tuberculosis* // *Future Microbiol.* — 2008. — Vol. 3. — P. 415–422.
9. Brudey K., Driscoll J., Rigouts L., Prodinger W., Gori A., Al-Hajj S., Allix C., Aristimuño L., Arora J., Baumanis V., Binder L., Cafrune P., Cataldi A., Cheong S., Diel R., Ellermeier C., Evans J., Fauville-Dufaux M., Ferdinand S., Garcia de Viedma D., Garzelli C., Gazzola L., Gomes H.M., Guttierrez M., Hawkey P., van Helden P., Kadival G., Kreiswirth B., Kremer K., Kubin M., Kulkarni S., Liens B., Lillebaek T., Ho M., Martin C., Mokrousov I., Narvskaia O., Ngeow Y., Naumann L., Niemann S., Parwati I., Rahim Z., Rasolofon-Razanamparany V., Rasolonalona T., Rossetti M., Rüsç-Gerdes S., Sajduda A., Samper S., Shemyakin I., Singh U., Somoskovi A., Skuce R., Soolingen D. van, Streicher E., Suffys P., Tortoli E., Tracevska T., Vincent V., Victor T., Warren R., Yap S., Zaman K., Portaels F., Rastogi N., Sola C. *Mycobacterium tuberculosis* complex genetic diversity: mining the fourth international spoligotyping database (SpolDB4) for classification, population genetics and epidemiology // *BMC Microbiol.* — 2006. — Vol. 6. — P. 23.
10. Castro-Garza J., Barrios-García H., Cruz-Vega D., Said-Fernández S., Carranza-Rosales P., Molina-Torres C., Vera-Cabrera L. Use of a colorimetric assay to measure differences in cytotoxicity of *Mycobacterium tuberculosis* strains // *J. Med. Microbiol.* — 2007. — Vol. 56. — P. 733–737.
11. Chen M., Gan H., Remold H. A mechanism of virulence: virulent *Mycobacterium tuberculosis* strain H37Rv, but not attenuated H37Ra, causes significant mitochondrial inner membrane disruption in macrophages leading to necrosis // *J. Immunol.* — 2006. — Vol. 176, N 6. — P. 3707–3716.
12. Embden J. van, Cave M., Crawford J., Dale J., Eisenach K., Gicquel B., Hermans P., Martin C., McAdam R., Shinnick T. Strain identification on *Mycobacterium tuberculosis* by DNA fingerprinting: recommendations for a standardized methodology // *J. Clin. Microbiol.* — 1993. — Vol. 31. — P. 406–409.
13. Groll A. von, Martin A., Stehr M., Singh M., Portaels F., Silva P. da, Palomino J. Fitness of *Mycobacterium tuberculosis* strains of the W-Beijing and Non-W-Beijing genotype // *PLoS ONE*. — 2010. — Vol. 5, N 4. — E. 10191.
14. Hinchey J., Lee S., Jeon B., Basaraba R., Venkataswamy M., Chen B., Chan J., Braunstein M., Orme I., Derrick S., Morris S., Jacobs W., Porcelli S. Enhanced priming of adaptive immunity by a proapoptotic mutant of *Mycobacterium tuberculosis* // *J. Clin. Invest.* — 2007. — Vol. 117. — P. 2279–2288.

15. Jarand J., Shean K., O'Donnell M., Loveday M., Kvasnovsky C., Walt M. van der, Adams S., Willcox P., O'Grady J., Zumla A., Dheda K. Extensively drug-resistant tuberculosis (XDR-TB) among health care workers in South Africa // *Trop. Med. Int. Health.* — 2010. — Vol. 15, N 10. — P. 1179–1184.
16. Jayakumar D., Jacobs W., Narayanan S. Protein kinase E of *Mycobacterium tuberculosis* has a role in the nitric oxide stress response and apoptosis in a human macrophage model of infection // *Cell Microbiol.* — 2007. — Vol. 10, N 2. — P. 365–374.
17. Kamerbeek J., Schouls L., Kolk A., Agterveld M. van, Soolingen D. van, Kuijper S., Bunschoten A., Molhuizen H., Shaw R., Goyal M., Embden J. van. Simultaneous detection and strain differentiation of *Mycobacterium tuberculosis* for diagnosis and epidemiology // *J. Clin. Microbiol.* — 1997. — Vol. 35, N 4 — P. 907–914.
18. Lee J., Remold H., Jeong M., Kornfeld H. Macrophage apoptosis in response to high intracellular burden of *Mycobacterium tuberculosis* is mediated by a novel caspase-independent pathway // *J. Immunol.* — 2006. — Vol. 176. — P. 4267–4274.
19. Lee J., Repasy T., Papavinasundaram K., Sasseti C., Kornfeld H. *Mycobacterium tuberculosis* induces an atypical cell death mode to escape from infected macrophages // *PLoS ONE.* — 2011. — Vol. 6, N 3. — E. 18361.
20. Mathema B., Kurepina N., Bifania P., Kreiswirth B. Molecular epidemiology of tuberculosis: current insights // *Clin. Microbiol. Rev.* — 2006. — Vol. 19, N 4. — P. 658–685.
21. Migliori G., Loddenkemper R., Blasi F., Raviglione M. 125 years after Robert Koch's discovery of the tubercle bacillus: the new XDR-TB threat. Is «science» enough to tackle the epidemic? // *Eur. Respir. J.* — 2007. — Vol. 29, N 3. — P. 423–427.
22. Theus S., Eisenach K., Fomukong N., Silver R., Cave M. Beijing family *Mycobacterium tuberculosis* strains differ in their intracellular growth in THP-1 macrophages // *Int. J. Tuberc. Lung Dis.* — 2007. — Vol. 10. — P. 1087–1093.
23. Velmurugan K., Chen B., Miller J., Azogue S., Gurses S., Hsu T., Glickman M., Jacobs Jr., Porcelli S., Briken V. *Mycobacterium tuberculosis* *nuoG* is a virulence gene that inhibits apoptosis of infected host cells // *PLOS Pathogens.* — 2007. — Vol. 3, N 7. — E. 110.