

Хаммадов Н.И.

Определение видовой принадлежности туберкулезных микобактерий, инфицирующих человека и крупный рогатый скот
ФГБНУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной
и биологической безопасности», г. Казань, Россия

Среди множества микроорганизмов, вызывающих патологический процесс в организме млекопитающих, особое место занимают микобактерии. Туберкулёз вызывают бактерии рода *Mycobacterium*, который насчитывает более 100 видов, большинство из которых сапрофиты. Важность в туберкулезной патологии имеют микобактерии, входящие в группу *Mycobacterium tuberculosis complex*. Общепринято, что бактерии этой группы (*M. tuberculosis*, *M. bovis* и *M. africanum*) одинаково успешно инфицируют и человека, и крупный рогатый скот (КРС), однако часть научного сообщества утверждает, что на практике КРС инфицируется только *M. bovis*, а человек только *M. tuberculosis* и *M. africanum*.

Целью данной работы был сравнительный анализ видов и генетических линий туберкулезных микобактерий, идентифицированных у человека и крупного рогатого скота, методом сполиготипирования.

Материалы и методы. Объектом исследования служил биологический материал от крупного рогатого скота, а также больных туберкулёзом пациентов противотуберкулезного диспансера. Подготовка проб для лабораторных исследований проводилась по ГОСТ 26072-89. Для выделения нуклеиновых кислот использовали набор реагентов «ДНК-сорб-В» (ЗАО «ИнтерЛабСервис»). В работе использовались ресурсы Национального центра биотехнологической информации (NCBI) и программные утилиты «BLAST» и «Vector NTI 9.1.0». Для установления видовой принадлежности микобактерий и определения их точных линий использовали метод сполиготипирования.

Результаты. Представлена оценка варибельности участков внутри прямых повторов (спейсеров), которые в лабораторной диагностике используются при сполиготипировании микобактерий и идентификации возбудителей туберкулёза. Сопоставление встречаемости комбинаций различных спейсеров у анализируемых микобактерий, после предварительной индикации *Mycobacterium tuberculosis complex* в исследуемом материале, со сполито-профилем известных микобактерий, дает ответ на вопрос о принадлежности исследуемых микобактерий к конкретной генетической линии. Исследованные в данной работе изоляты были идентифицированы микроскопическими, бактериологическими и молекулярно-генетическими (ПЦР) методами. По результатам сполиготипирования была определена принадлежность выделен-

ных микроорганизмов к генетическим линиям *M. tuberculosis* Beijing, *M. tuberculosis* LAM и *M. tuberculosis* Haarlem. Получить доступ к используемым в сполиготипировании праймерам и идентифицировать споллиго-профиль исследуемого образца можно, используя установленные нами специфичные споллиго-профили различных видов и генетических линий бактерий группы *M. tuberculosis complex*, по ссылке <http://vnivi.ru/images/spoligo.xls>. Споллиготипирование образцов ДНК, полученных из органов животных, еще раз подтвердило их принадлежность к виду *M. bovis*, так как исследованные изоляты микобактерий имели общие для вида *M. bovis* изменения в локусах прямых повторов (отсутствие 3-го, 9-го, 16-го и последних пяти спейсеров). Тем не менее, все 4 изолята *M. bovis* генетически отличались друг от друга. Споллиготипирование образцов ДНК, полученных от людей, подтвердило их принадлежность к виду *M. Tuberculosis*. Результаты показали, что 16 изолятов относились к группе *Beijing*, 2 изолята – к латиноамериканской группе *LAM* и 3 изолята – к европейской группе *Haarlem*.

Выводы. Установлено, что *M. bovis* был идентифицирован лишь у крупного рогатого скота, а *M. tuberculosis* – только у людей, несмотря на то, что имеется немало сообщений о перекрестном инфицировании людей *M. bovis* и животных *M. tuberculosis*. Возбудитель туберкулеза *M. tuberculosis*, идентифицированный у работников сельскохозяйственных предприятий, не был подтвержденным этиологическим фактором инфицирования крупного рогатого скота ни в одном из случаев. Методом споллиготипирования определена принадлежность выделенных у человека микобактерий к генетическим линиям *M. tuberculosis* Beijing, *M. tuberculosis* LAM и *M. tuberculosis* Haarlem.