

Изучение полиморфизма отдельных нуклеотидов KATG315 и KATG463 в клинических изолятах Mycobacterium Tuberculosis, полученных от больных туберкулезом легких в пенитенциарных заведениях

1 Белорусский государственный медицинский университет, Республика Беларусь
и Arak Medical University, пран

2 Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии, Республика Беларусь

3 ГУ Научно-исследовательский институт пульмонологии и фтизиатрии министерства
здравоохранения, Республика Беларусь

Испследованы 22 штамма резистентных к противотуберкулезным препаратам МБТ, выделенных в 2008 году от больных туберкулезом заключенных-пациентов Оршанской спец. больницы. Среди них 19 обладали множественной лекарственной устойчивостью (MDR) и 3 - широкой лекарственной устойчивостью (XDR). В исследование также были включены 2 стандартных штамма МБТ и 8 лекарственно-чувствительных к проводимой терапии.

Результаты ПДФРпозволили выявить мутацию в KatG315 у 21 (95,4%) и KatG463 у 10 (45,5%) из резистентных изолятов. С другой стороны, у всех 3 изолятов с XDR (100%) были выявлены мутации в KatG315, в то время как мутации в KatG463 обнаружены только в 1 (33,3%) случае. Таким образом, ПЦР-ПДФРанализ позволяет быстро и точно идентифицировать мутации в KatG315, а также возможные мутации в KatG463.

Ключевые слова: Mycobacterium tuberculosis, ПЦР-ПДФР, KatG315, KatG463.

Туберкулез – инфекционное заболевание, вызываемое Mycobacterium tuberculosis (МБТ). Туберкулез может поражать любой орган, однако наиболее часто развивается туберкулез легких [22].

Передача возбудителя туберкулеза осуществляется воздушно-капельным путем. Микобактерии находятся в капельках мокроты и слизи, выделяемыми больными активной формой легочного туберкулеза при кашле, чихании или разговоре. Наиболее заразными являются больные, выделяющие во внешнюю среду мокроту, содержащую микобактерии, т.е. бактериовыделители. После заражения активный туберкулез в течение жизни развивается только у 10% инфицированных здоровых лиц, причем у подавляющего большинства заболевших – в течение первых двух лет после инфицирования. Наличие сопутствующей ВпЧ-инфекции значительно повышает риск развития активной формы заболевания. Риск инфицирования, последующего развития и прогрессирования инфекции зависит от ряда факторов, таких как свойства возбудителя (жизнеспособность, заразность, вирулентность, инфицирующая доза) и особенности организма-хозяина (состояние иммунной системы, генетическая предрасположенность к инфекции, продолжительность и интенсивность предшествующего контакта), а также от взаимодействий между хозяином и микобактерией (локализация процесса, тяжесть заболевания). В целом, несмотря на то, что инфицированные Mycobacterium tuberculosis лица считаются менее восприимчивыми к последующему заражению, повторное заражение также может привести к развитию заболевания [2, 9, 34].

Во всем мире заболеваемость туберкулезом заключенных в тюрьмах более чем в 30 раз превышать таковую среди гражданского населения. При этом в тюрьмах смертность, обусловленная туберкулезом, выше в 5, а распространенность MDR-штаммов – в 10 раз [11]. Т.е. тюрьма является резервуаром лекарственно-устойчивого туберкулеза.

Заключенные также подвергаются риску более быстрого прогрессирования заболевания после заражения или вследствие реактивации латентной инфекции, что обусловлено наличием сопутствующей патологии, особенно ВпЧ-инфекции и наркомании;

плохим питанием, физическим и эмоциональным стрессом. Эта совокупность факторов риска способна вызвать и поддерживать высокий уровень заболеваемости туберкулезом на свободных территориях. [2].

Целью настоящего исследования являлась идентификация полиморфизма отдельных нуклеотидов гена KatG315 и KatG463 в клинических изолятах МБТ, полученных от больных туберкулезом легких заключенных тюрем Республики Беларусь, с оценкой их взаимосвязи с резистентностью к изониазиду.

Материалы и методы

Сбор клинического материала. У 22 больных туберкулезом легких, находящихся на лечении в Оршанской спец. больнице, были собраны образцы мокроты для дальнейшего молекулярно-генетического исследования. Верификация диагноза «туберкулез легких» проводилась на основании комплексного обследования, включавшего клинический осмотр, данные рентгенографии органов грудной клетки, лабораторно-инструментальных и бактериологического исследований. Полученные образцы высевались на среду Левенштейна-Йенсена и Финн II, для идентификации видовой принадлежности выросших колоний использовались селективные среды и применялись стандартные биохимические методы анализа.

Определение чувствительности к антибиотикам. В качестве критериев для отнесения штаммов МБТ к категории чувствительных или устойчивых использовали пороговые значения минимальной ингибирующей концентрации (МпК) противотуберкулезных препаратов, препятствующей росту штамма МБТ при выращивании его на питательных средах с различными концентрациями препаратов. Данные о величине МпК в отношении штаммов МБТ, выделенных от больных, служили микробиологическим критерием определения величины пороговых концентраций.

В соответствии с оптическими стандартами мутности McFarland готовилась микробная суспензия с концентрацией 5×10^8 бактерий на мл, которая затем разводилась 1:10. Аликвота полученного раствора, объемом 0,2 мл, вносилась в среду Левенштейна-Йенсена содержащую различные противотуберкулезные препараты, либо без препаратов (контрольных пробирках). Пробирки с посевами инкубировались в течение 3-4 недель при еженедельном просмотре. Отмечалось время появления видимого роста, его обильность в контрольных и опытных пробирках, контаминация пробирок и т.д. Учет результатов определения лекарственной чувствительности проводился спустя 3 недели инкубирования.

Изолят считался устойчивым, если бактериальный рост имел место в присутствии изониазида в концентрации 1 мкг/мл, рифампицина – 40 мкг/мл, стрептомицина – 10 мкг/мл, этамбутола – 2 мкг/мл.

Также все изоляты тестировались на чувствительность к таким препаратам первого ряда, как рифампицин 40 мкг/мл, изониазид 1 мкг/мл, этамбутол 2 мкг/мл, стрептомицин 10 мкг/мл и второго ряда - канамицин 30 мкг/мл с использованием автоматического анализатора ВАСТЕС. При проведении анализа использовались скошенные питательные среды со штаммом M. Tuberculosis H37Rv в качестве положительного контроля.

Согласно рекомендаций ВОЗ (WHO Stop TB Department, 2006, см. <http://www.who.int/globalatlas/predefinedreports/tb/index.asp>), штаммы, резистентные по крайней мере к изониазиду и рифампицину, дополнительно тестировались на чувствительность к любому фторхинолону и, как минимум, к одному из трех инъекционных препаратов резерва (капреомицину, канамицину и амикацину) для выявления XDR-изолятов.

Выделение ДНК для ПЦР. Выделение чистой ДНК из изолятов проводилось модифицированным методом Chelex-100, который, как было установлено, позволял получить оптимальный материал для последующей очистки и длительного (около 1,5 лет) хранения [36]. Вносили 3-4 колонии из свежей полученной культуры в 270 мл ТАЕ-буфера (1х), нагревали на водяной бане при 95°C в течение 45 мин с последующим трехкратным центрифугированием при 14000 об/мин в течение 10 мин для полного удаления Chelex-100, препятствующего проведению ПЦР.

ПЦР-ПДФР. В ходе работы идентификация микробных изолятов дополнительно подтверждалась выявлением *katG*-гена при помощи метода ПЦР. Для обнаружения мутаций в *KatG315*, обуславливающих резистентность к изониазиду, использовался метод ПДФРс применением *HpaII*-расщепления (сайт рестрикции CCGG) по методу Leung E.T.Y. [16].

Для амплификации фрагмента гена *katG* длиной 620 п.о. использовались прямой праймер *katG904* (5'-AGCTCGTATGGCA CCGGAAC-3', 904–923) и обратный праймер *katG1523* (5'-TTGA CCTCCACCCGACTTG- 3', 1523–1502). В 50 мкл среды реакции содержалось 10 мкл очищенной ДНК, 5 мкл 10х Таq-буфера (содержащего (NH₄)₂SO₄ и 20 mM MgCl₂, Fermentas B34), 1 мкл смеси динуклеозид-трифосфатов (dNTPs) с 10 mM концентрацией каждого (Fermentas R0192), 1 Е Таq-полимеразы и 25 пМоль каждого праймера.

ПЦРамплификация проводилась в следующем режиме (94°C – 1 мин, 60°C – 1 мин, 72°C – 1 мин) — 45 циклов и 72°C 10 мин — 1 цикл.

Для обнаружения специфического ПЦР-продукта использовался электрофорез 10 мкл аликвоты в 1,5% агарозном геле на 1х ТАЕ-буфере в течение 1 часа. Образцы, содержащие фрагмент *katG* гена длиной 620 п.о., идентифицировались как МБТ.

Далее 12 мкл продуктов амплификации из каждого образца подвергались рестрикции при помощи 5 Е эндонуклеазы *HpaII* (Fermentas Restriction Enzymes). 20 мкл реакционной среды содержало также 2 мкл 10-кратного буфера Tango и 2,2 мкл дистиллированной воды (с 18,2 МΩ.см). Реакция проводилась при 37°C в течение 3 ч после чего ферментативная активность останавливалась при 65°C в течение 20 мин. Электрофорез проводился в 2,5% агарозном геле после окрашивания этидий-бромидом.

Секвенирование ДНК. Для подтверждения точечных мутаций, выявленных ПЦР-ПДФР, некоторые случайно выбранные образцы были подвергнуты ДНК-секвенированию. ПЦРс прямым праймером 5'-TTCCGGCCGGGTTCGACCAGT-3' и обратным 5'-CGGAA TTCCAGGGTGC GAATGACCT-3' проводилась при температуре отжи-га 62°C в течение 30 с. Продукты ПЦР, содержащие фрагменты длиной 975 п.о., отделялись методом электрофореза в 1,5% агарозном геле с этидий-бромидом и выделялись из геля с помощью набора для экстракции ДНК (Fermentas, K0513) согласно инструкции производителя.

Концентрация выделенной ДНК измерялась с помощью анализатора нуклеиновых кислот (DU 730, Life Science UV/Vis спектрофотометр).

Выделенный фрагмент *katG*-гена, размером 837 п. о. (571-1408) амплифицировался с использованием термоциклера «Rotor-Gene» (RG-3000, Corbett Research Inc.) и набора красящих разделителей термосеквеназы Cy5 (GE Healthcare 27-2682-01). При этом использовался олигонуклеотидный праймер, соответствующий фрагменту 5'-TGCGGTTCGAAACTAGCTGTGA -3' из геномной последовательности H37Rv *M. tuberculosis*. исследование выполнялось с помощью некоторых прикладных программ (например Integrated DNA Technologies , DNA Services Facility , Primer Design, и др.), а также DNAMAN (Quebec, Canada). Последовательная температура отжига для амплификации составляла 56°C в течение 60 сек, процедура проводилась с использованием

автоматического ДНК-секвенатора (Amersham auto sequencer). Для окончательного анализа результатов были использованы такие программы, как ALFwin Sequence Analyser module V2, Mega4 (2008, <http://www.megasoftware.net/>), NCBI-BLAST и BLASTP (Search nucleotide databases, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast>), DNAMAN (Quebec, Canada), а также BioEdit.

Результаты и обсуждение

используемые в исследовании 22 образца мокроты, принадлежали заключенным-мужчинам в возрасте 24-51, страдающими активным туберкулезом легких.

исследование выделенных из мокроты МБТ на чувствительность к противотуберкулезным препаратом выявило, что 19 (86,4%) изолятов характеризовались как MDR, а 3 (13,6%) – как XDR.

Также исследовались 8 чувствительных к противотуберкулезным препаратом изолятов, выделенных от случайно подобранных пациентов, не являющихся заключенными. В качестве позитивного контроля с мутацией в KatG463 использовался штамм *M. bovis*.

Для всех как резистентных, так и для чувствительных изолятов была проведена ПЦР использованием праймеров для амплификации фрагмента 620 п.о. Дальнейший ПДФР-анализ обнаружил мутации в KatG315 у 21 (95,4%) всех резистентных изолятов и в KatG463 у 10 (45,5%) из них. В изолятах с XDR мутации в KatG315 были выявлены во всех случаях (100%), в то время как в KatG463 – в 1 (33,3%). В группе чувствительных к изониазиду изолятов мутации в KatG315 выявлены не были, но в 3 случаях (37,5%) обнаруживались мутации в KatG463 (табл. 1, рис. 1). Стандартные штаммы *M. Tuberculosis H37Rv* и *Academia* не содержали мутаций ни в одном из этих кодонов.

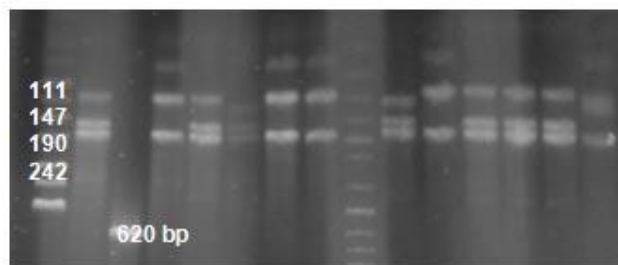
Таблица 1. Результаты ПЦР-ПДФРанализа на выявление полиморфизма отдельных нуклеотидов в кодонах 315 и 463 гена katG

Номер	пзоляты	Устойчивость	Ген katG	
			Мутации в кодоне 315	Мутации в кодоне 463
1	1Т	MDR	+	+
2	2Т	MDR	+	--
3	3Т	MDR	+	--
4	4Т	XDR	+	+
5	5Т	MDR	+	+
6	6Т	MDR	+	--
7	7Т	MDR	+	+
8	8Т	MDR	+	+
9	9Т	XDR	+	--
10	10Т	MDR	+	--
11	11Т	MDR	+	--
12	12Т	XDR	+	--
13	13Т	MDR	+	+
14	14Т	MDR	+	--
15	15Т	MDR	+	--
16	112t	MDR	+	+
17	113 t	MDR	--	--
18	115t	MDR	+	+

19	116t	MDR	+	--
20	118 t	MDR	--	+
21	119t	MDR	+	+
22	121t	MDR	+	--
23	H 232	Чувствительный	--	+
24	H 276	Чувствительный	--	--
25	H 264	Чувствительный	--	--
26	H 276	Чувствительный	--	--
27	H 910	Чувствительный	--	--
28	H 282	Чувствительный	--	+
29	H 256	Чувствительный	--	--
30	H 253	Чувствительный	--	+

Автоматическое ДНК-секвенирование ампликона KatG в отобранных случайным образом изолятах, резистентных к изониазиду, выявило 100% соответствие точечных мутаций таковым, обнаруженным методом ПЦР-ПДФР.

620 bp



¼/p>

Рисунок 1. Электрофорез продуктов ПЦР(стандартный штамм H37Rv и два резистентных изолята, образовавших фрагменты 620 п. о.) и ПДФР(стандартный штамм H37Rv, чувствительный H238 и 10 резистентных изолятов)

Примечание: Модели А и В — немутантный KatG315, модели С и D — мутантный KatG315. MDR-изолят 1452 — без мутаций в этом кодоне.

Ранее было установлено, что резистентность МБТ к изониазиду обусловлена мутацией в генах, кодирующих либо собственно белки-мишени для препарата, либо их активаторы. Примерно в 47- 58% изолятов она обусловлена мутациями в кодоне 315 гена KatG (кодирующем каталазу-пероксидазу), в 21-34% изолятов – в inhA-гене (кодирующем енол-АСР-редуктазу) и в 10-15% – в ahpC-гене (кодирующем алкил-гидропероксид-редуктазу) [12].

В нашей работе данные ПЦРподтвердили результаты предварительно проведенного культурального исследования и теста на чувствительность к противотуберкулезным препаратом в отношении выявления МБТ и устойчивых к изониазиду изолятов. Большинство таких изолятов (99%) диагностированных как MDR, так и XDR, в отличие от чувствительных штаммов, имели мутацию в KatG315. Данный кодон имел выраженные отличия между резистентными, чувствительными и стандартными штаммами, но в пределах одной группы (резистентные MDR, либо XDR) не различался. Мы предположили,

что чувствительные к изониазиду штаммы в кодоне 315 содержат аллель дикого типа (AGC).

В то же время мутация в KatG463 обнаружена у 3 (37,5%) чувствительных и 10 (45,5%) резистентных изолятов (среди которых 9 обладали MDR, а 1 XDR). Это позволило заключить, что кодон 463 не имеет значения в формировании резистентности к изониазиду. Этот факт подтверждают исследования, проведенные другими авторами (H. R. V. van Doorn et al. [6], E. T. Y. Leung [16] и M. Zhang [39]).

В таблице 2 приведены данные, отображающие взаимосвязь мутаций в KatG315 с резистентностью к изониазиду. Как видно, распространенность данных мутаций среди устойчивых штаммов *M. tuberculosis* в различных регионах не одинакова. п. Мокроусов и соавт. высказали предположение, что частота этих мутаций коррелирует с распространенностью туберкулеза в человеческой популяции [18]. Действительно, в некоторых регионах со средней или низкой распространенностью туберкулеза, наличие данной мутации сравнительно редко (например, Сингапур, Финляндия). Однако это предположение опровергается данными других авторов [23, 28], которые выявляют более чем 90% частоту встречаемости мутаций в KatG315 резистентных штаммов на фоне относительно невысокой распространенности туберкулеза среди населения.

Таблица 2. Распространенность туберкулеза и частота мутаций в KatG315 среди резистентных изолятов в различных странах мира

Страна	Распространенность туберкулеза по данным ВОЗ, случаев/100000 населения в год	Мутации в KatG315 резистентных изолятов	Количество резистентных изолятов	Год проведения исследования	Ссылка
Сьерра-Леоне	977	54%	50	1997	Dobner P. [5]
ЮАм/td>	528	64%	39	1996	Victor T.C. [35]
ЮАм/td>	528	64%	124	1997	Haas W.H. [10]
ЮАм/td>	528	97,5%	79	2000	Kiepiela P. [14]
Китай	221	51%	142	2003	Leung E.T.Y. [16]
Перу	187	79%	19	1998	Escalante P. [7]
Россия	125	93%	204	2002	Мокроусов п. [18]
Россия	125	91,7%	24	1998	Marttila H.J. [17]
Корея	123	73%	26	1995	Rouse D.A. [25]
Латвия	60	94%	51	2002	Tracevska T.J. [32]
Бразилия: Рио Гранде, Рио де Жанейро,	55	87.1, 60.9 и 60%	69	2003	Silva M.S.N. [29]

Сан-Паулу					
Япония	29	90%	38	2007	Sekiguchi J. [28]
Иран	28	73%	21	2008	Zakerbostanabad S. [37]
Польша	27	69%	83	2004	Sajduda A. [26]
Сингапур	25	26%	160	1999	Lee A.S.G. [15]
Испания	24	94%	46	2000	Piatek A.S. [23]
Голландия	5,9	50%	295	2000	Soolingen V.D. [31]
Германия	5	54%	50	1997	Dobner P. [5]
Финляндия	4,2	30,7%	19	1996	Marttila H.J. [17]
Страна	Распространенность туберкулеза по данным ВОЗ, случаев/100000 населения в год	Мутации в KatG315 резистентных изолятов	Количество резистентных изолятов	Год проведения исследования	Ссылка
США	3,2	96% (MDR), 44% (монорезистентные)	26(MDR), 8 (резистентные к изониазиду)	2000	Piatek A.S. [23]

Высказывается и предположение о взаимосвязи мутаций в KatG315 и МпК противотуберкулезного препарата. Так, Soolingen V.D. и соавт. обнаружили, что для 89% исследуемых ими изолятов с мутациями в 315 кодоне величина МпК составляла 5 - 10 мкг/мл. Это позволило авторам сделать заключение об ассоциации данной мутации с относительно высокими уровнями лекарственной устойчивости [31]. С этими данными перекликаются и результаты нашего исследования, обнаружившего мутации в KatG315 у 100% высокорезистентных изолятов с XDR и у 97,7% MDR-изолятов. Сходные данные приводят в своей работе Piatek A.S. и соавт., выявившие, что мутации, связанные с устойчивостью к изониазиду, намного чаще встречаются среди MDR-изолятов (94%), чем в группе изолятов с одиночной лекарственной устойчивостью (44%, $p < 0,001$) [23].

Здесь следует отметить, что к развитию MDR может привести неправильное применение изониазида (прием его пациентами в дозах ниже терапевтической), вызывающее активацию регуляторного гена *whiB7*. Транскриптивный регулятор *whiB7* контролирует гены в пределах крупного блока генов антибиотикорезистентности – резистомов и посредством их активации приводит к уменьшению проницаемости клеточной стенки в отношении изониазида (и некоторых других антибиотиков), вследствие чего возникает необходимость применения более высоких доз препарата для достижения клинического эффекта (Nguyen et al., 2006).

В заключение следует отметить, что частота изолятов с мутантными KatG315 может быть ассоциирована с географическими условиями региона, распространенностью туберкулеза в популяции человека, уровнем резистентности (МпК изониазида), а также

режимом назначения противотуберкулезных препаратов и особенностями их приема пациентами.

Полученные результаты исследования демонстрируют высокую распространенность мутаций в KatG315-гене в изолятах *M. tuberculosis*, выделенных от пациентов пенитенциарных учреждений в РБ. У штаммов, обладающих лекарственной устойчивостью, данная мутация наблюдалась в 97,7-100% случаев. Результаты работы позволяют предложить метод ПЦР-ПДФРк применению с целью быстрого и высокоспецифичного выявления резистентных форм МБТ.

Литература

1. Aerts, A., Habouzit, M., Mschiladze, L., et al. Pulmonary Tuberculosis in Prisons of the Ex-USSR State Georgia: Results of a nation-wide prevalence survey among sentenced inmates // *International Journal of Tuberculosis and Lung Disease*. 2000. № 4(12). P. 1104–1110.
2. Bone, A., Aerts, A., Grzemska, M. et al. Tuberculosis Control In Prisons, A Manual For Programme Managers. // WHO/CDS/TB/2000.281. - Koestler Award Trust for the Artist, 2000. P.15–37.
3. Chaves, F., Drona, F., Cave, M.D. et al. A longitudinal study of transmission of tuberculosis in a large prison population // *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 1997. Vol. 155(2). P. 719–725.
4. Chiang, C.Y., Yu, M.C., Bai, K.J. et al. Screening for pulmonary tuberculosis among prisons in Taiwan // *International Journal of Tuberculosis and Lung Disease*. 1999. № 3(9). P. 176.
5. Dobner, P., Rusch-Gerdes, S., Bretzel, G. et al. Usefulness of Mycobacterium tuberculosis genomic mutations in the genes katG and inhA for the prediction of isoniazid resistance // *Int. J. Tuberc. Lung Dis*. 1997. Vol. 1. P. 365–369.
6. Doorn, H.R.V. The Susceptibility of Mycobacterium tuberculosis to Isoniazid and the Arg3Leu Mutation at Codon 463 of katG Are Not Associated // *Journal of clinical microbiology*. 2001. Vol. 39. № 4. P. 1591–1594.
7. Escalante, P., Ramaswamy, S., Sanabria, H. et al. Genotypic characterization of drug-resistant Mycobacterium tuberculosis isolates from Peru. // *Tuberc. Lung Dis*. 1998. Vol. 79. P. 111–118.
8. Ferreira, M.M., Ferrazoli, L., Palaci, M. et al. Tuberculosis and HIV infection among female inmates in Sao Paulo, Brazil: a prospective cohort study // *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes and Human Retrovirology*. 1996. Vol. 13(2). P. 177–183.
9. Fine, P.E., Small, P.M. Exogenous reinfection in tuberculosis // *New England Journal of Medicine*. 1999. Vol. 341(16). P. 1226–1227.
10. Haas, W.H., Schilke, K., Brand, J. et al. Molecular analysis of katG gene mutations in strains of Mycobacterium tuberculosis complex from Africa // *Antimicrob. Agents Chemother*. 1997. Vol. 41. P. 1601–1603.
11. Haldal, E., de Colombani, P. Tuberculosis and prisons // World Health Organization, Regional Office For Europe. 2007. - EUR/TB/FS10.
12. Hillemann, D. Evaluation of the GenoType MTBDRplus Assay for Rifampin and Isoniazid Susceptibility Testing of Mycobacterium tuberculosis Strains and Clinical Specimens // *J. Clinical Microbiol*. 2007. Vol. 45. P. 2635–2640.
13. Karibushi, B., Kabanda, G. Tuberculose dans les prisons du Rwanda // *International Journal of Tuberculosis and Lung Disease*. 1999. № 3(9). P. 19.
14. Kiepiela, P., Bishop, K.S. Genomic mutations in the katG, inhA and aphC genes are useful for the prediction of isoniazid resistance in Mycobacterium tuberculosis isolates from Kwazulu Natal, South Africa // *Tuber Lung Dis*. 2000. Vol. 80. P. 47–56.

15. Lee, A. S. G., Lim, I. H. K., Tang, L. L. H. et al. Contribution of *katA* analysis to detection of isoniazid-resistant *Mycobacterium tuberculosis* in Singapore // *Antimicrob. Agents Chemother.* 1999. Vol. 43. P. 2087–2089.
16. Leung, E.T.Y., Kai-Man Kam, Agatha Chiu et al. Detection of *KatG* Ser315Thr substitution in respiratory specimens from patients with isoniazid-resistant *Mycobacterium tuberculosis* using PCR-RFLP // *Journal of Medical Microbiology.* 2003. Vol. 52. P. 999–1003.
17. Marttila, H.J., Soini, H., Eerola, E. et al. A Ser315Thr Substitution in *KatG* Is Predominant in Genetically Heterogeneous Multidrug-Resistant *Mycobacterium tuberculosis* Isolates Originating from the St. Petersburg Area in Russia. // *Antimicrob Agents Chemother.* 1998. Vol. 42. P. 2443–2445.
18. Mokrousov, I., Otten, T., Filipenko, M. High Prevalence of *KatG* Ser315Thr Substitution among Isoniazid-Resistant *Mycobacterium tuberculosis* Clinical Isolates from Northwestern Russia, 1996 to 2001. // *Antimicrob Agents Chemother.* 2002. Vol. 46. P. 1417–1424.
19. Moller, L. Prisons and TB in Europe // *Prison Health Manager* / WHO-EURO, Riga, 2008.
20. Netto, E.M., Dye, C., Raviglione, M.C. Global Tuberculosis Control, WHO report 1999 // WHO/CDS/CPC/TB/99. Geneva, World Health Organization, 1999. 259 p.
21. Nyangulu, D.S., Harries, A.D., Kang'ombe, C. et al. Tuberculosis in a prison population in Malawi // *Lancet.* 1997. Vol. 350(9087). P. 1284-1287.
22. Palomino, J.C. Tuberculosis 2007: from basic science to patient care [Electronic resource] / J.C. Palomino, S. Cardoso Leão; Ed. V. Ritacco. - Mode of access: http://www.who.int/tb/xdr/taskforcereport_oct06.pdf.
23. Piatek, A.S., Telenti, A., Murray, M.R. Genotypic analysis of *Mycobacterium tuberculosis* in two distinct populations using molecular beacons: Implications for rapid susceptibility testing // *Antimicrob. Agents Chemother.* 2000. Vol. 44. P. 103–110.
24. Portaels, F., Rigouts, L., Bastian, I. Addressing multidrug-resistant tuberculosis in penitentiary hospitals and in the general population of the former Soviet Union // *International Journal of Tuberculosis and Lung Disease.* 1999. № 3 (7). P. 582–588.
25. Rouse, D.A. Characterization of the *katG* and *inhA* Genes of Isoniazid-Resistant Clinical Isolates of *Mycobacterium tuberculosis*. // *Antimicrob. Agents Chemother.* 1995. Vol. 39(11). P. 2472–2477.
26. Sajduda, A. Molecular Characterization of Rifampin- and Isoniazid-Resistant *Mycobacterium tuberculosis* Strains Isolated in Poland. // *J. Clin. Microbiol.* 2004. Vol. 42. P. 2425–2431.
27. Saleki, S., Velayati, A.A., Masjedi, M.R., Taghizadeh Asi, R. Evaluation of Pulmonary Tuberculosis Status at Evin and Qasr Prisons in the Years 1998-1999 // *J. of Medical Council of I.R.I.* 2001. Vol. 19(2). P. 90–94.
28. Sekiguchi, J. Detection of Multidrug Resistance in *Mycobacterium tuberculosis* // *J. Clin. Microbiol.* 2007. Vol. 45. P. 179–192.
29. Silva, M.S.N. Mutations in *katG*, *inhA*, and *ahpC* Genes of Brazilian Isoniazid-Resistant Isolates of *Mycobacterium tuberculosis* // *J. Clin. Microbiol.* 2003. Vol. 41. P. 4471–4474.
30. Slavuckij, A., Sizaire, V., Lobera, L. et al. Decentralisation of the DOTS program within a Russian penitentiary system: How to ensure the continuity of tuberculosis treatment in pretrial detention centers? // *The European Journal of Public Health.* 2002. № 12(2). P. 94-98.
31. Soolingen, V.D., Haas, P.E., Doorn, H.R. et al. Mutations at Amino Acid Position 315 of the *katG* Gene Are Associated with High-Level Resistance to Isoniazid, Other Drug Resistance,

and Successful Transmission of Mycobacterium tuberculosis in The Netherlands. // J Infect Dis. 2000. Vol. 182. P. 1788–1790.

32. Tracevska, T.J. Mutations in the rpoB and katG genes leading to drug resistance in Mycobacterium tuberculosis in Latvia // Clin Microbiol. 2002. Vol. 40. P. 3789–3792.

33 Valway, S.E., Greifinger, R.B., Papania, M. et al. Multi-drug-resistant Tuberculosis in the New York State Prison System, 1990-91 // Journal of Infectious Diseases. 1994. Vol. 170(1). P. 151–156.. •

•

34. Van Rie, A., Warren, R., Richardson, M., et al. Exogenous reinfection as a cause of recurrent tuberculosis after curative treatment // New England Journal of Medicine. 1999. Vol. 341(16). P. 1174–1179.

35. Victor, T.C., Pretorius, G.S., Felix, J.V. et al. KatG mutations in isoniazid-resistant strains of Mycobacterium tuberculosis are not infrequent. Antimicrob. Agents Chemother. 1996. Vol. 40. P. 1572.

36. Walsh, P.S., Metzger, D.A., Higuchi, R. Chelex 100 as a medium for simple extraction of DNA for PCR-based typing from forensic material // Biotechniques. 1991. Apr. Vol. 10(4). P. 506–513.

37. Zaker, S.B., Titov, L.P., Bahrmanda, A.R. Frequency and molecular characterization of isoniazid resistance in katG region of MDR isolates from tuberculosis patients in southern endemic border of Iran // Infect Genet Evol. 2008. Vol. 8. P. 15–19.

38. Zaker, S.B., Titov, L.P., Slizen, V.V. et al. KatG mutations in isoniazid-resistant strains of Mycobacterium tuberculosis isolates from Belarusian patients // Tuberkuloz ve Toraks Dergisi. 2007. Vol. 55. P. 231–237.

39. Zhang, M. Detection of Mutations Associated with Isoniazid Resistance in Mycobacterium tuberculosis Isolates from China // Journal of clinical microbiology. 2005. Vol. 43. № 11. P. 5477–5482