

DOI: 10.25208/0042-4609-2017-93-6-34-40

Молекулярно-биологические методы исследования в лабораторной диагностике лепры: эпидемиологический анализ, генетические детерминанты резистентности к антимикробным препаратам

Образцова О. А.

Государственный научный центр дерматовенерологии и косметологии Министерства здравоохранения Российской Федерации
107076, Российская Федерация, г. Москва, ул. Короленко, д. 3, стр. 6

В обзоре литературы проведен анализ современного состояния молекулярно-биологических методов исследования *Mycobacterium leprae*. Обсуждаются характеристики и возможности применяемых методов в целях диагностики и эпидемиологического мониторинга возбудителя лепры, а также выявления возможных генетических детерминант антибиотикорезистентности. Представлены современные данные об особенностях генетики данного вида микобактерий, позволяющие заложить основы не только для разработки методов диагностики лепры, но и для их существенного усовершенствования.

Ключевые слова: *Mycobacterium leprae*, SNP, VNTR, полимеразная цепная реакция в реальном времени, ПДРФ-анализ, детерминанты резистентности

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии потенциального конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Для цитирования: Образцова О. А. Молекулярно-биологические методы исследования в лабораторной диагностике лепры: эпидемиологический анализ, генетические детерминанты резистентности к антимикробным препаратам. Вестник дерматологии и венерологии. 2017;(6):34–40. DOI: 10.25208/0042-4609-2017-93-6-34-40

Molecular-biological Methods of Research in Laboratory Diagnostics of Leprosy: Epidemiological Analysis, Genetic Determinants of Resistance to Antimicrobial Drugs

Ol'ga A. Obratsova

State Research Center of Dermatovenereology and Cosmetology, Ministry of Health of the Russian Federation
Korolenko str., 3, bldg 6, Moscow, 107076, Russian Federation

The review of literature presents analysis of the current state of molecular biological methods for research of *Mycobacterium leprae*. The characteristics and feasibility of application of the methods in use for diagnostics and epidemiological monitoring of the leprosy pathogen are discussed, as well as identification of possible genetic determinants of antibiotic resistance. The present knowledge is provided of genetic characteristics of mycobacteria of the above type, which enable to lay the foundations for development of methods for leprosy diagnostics, as well as also for their significant improvement.

Keywords: *Mycobacterium leprae*, SNP, VNTR, real time PCR, RFLP analysis, resistance determinants

Conflict of interest: the authors state that there is no potential conflict of interest requiring disclosure in this article.

For citation: Obratsova O. A. Molecular-biological Methods of Research in Laboratory Diagnostics of Leprosy: Epidemiological Analysis, Genetic Determinants of Resistance to Antimicrobial Drugs. Vestnik Dermatologii i Venerologii. 2017;(6):34–40. DOI: 10.25208/0042-4609-2017-93-6-34-40

■ Лепра — это хроническое инфекционное заболевание из группы микобактериозов (А30, лепра), возбудителем которого является *Mycobacterium leprae*. Для данного заболевания характерно медленное развитие инфекционного процесса с продолжительным инкубационным периодом (в среднем 3–5 лет, в редких случаях 10–20 лет) и рецидивирующим течением [1]. Инфекция носит системный характер и сопровождается гранулематозными поражениями кожи, слизистых оболочек верхних дыхательных путей и периферической нервной системы. Несвоевременная диагностика данного заболевания приводит к вовлечению в инфекционный процесс костно-мышечного аппарата, органов зрения и внутренних органов [2].

В 1991 г. Всемирной организацией здравоохранения (ВОЗ) была принята резолюция WHA44.9, определяющая основной задачей элиминацию лепры и сведение заболеваемости до уровня 1 случая на 10 тыс. населения [3]. Несмотря на то, что общая заболеваемость в мире снизилась более чем на 90%, все же рано говорить о глобальной ликвидации болезни. Согласно данным ВОЗ и Международной ассоциации лепрологов, ежегодно регистрируется порядка 300 тыс. новых случаев заболевания, 96% из которых зафиксированы в высокоэндемичных регионах (Индия, Индонезия, Бирма, Бразилия, страны Центральной и Южной Африки и т.д.) [4]. По результатам эпидемиологических исследований в Европе, большинство зарегистрированных случаев лепры были выявлены у проживающих там иммигрантов, главным образом из Бразилии, Парагвая и Боливии [5, 6].

Несмотря на то, что Россия относится к низкоэндемичным по лепре странам, тем не менее продолжают регистрироваться единичные спорадические случаи заболевания. Основные эндемические очаги зафиксированы в Нижнем Поволжье и на Северном Кавказе (более 90% всех зарегистрированных больных) [7]. Наибольшее количество случаев заболевания на территории России было зафиксировано в 1960-х гг. — 2505 человек [8]. Внедрение комплекса медицинских и социальных мероприятий (обязательная госпитализация, амбулаторное лечение на местах и т.д.) позволило добиться снижения числа заболевших лепрой с 555 за период 1961–1970 гг. до 30 за период 1991–2010 гг. [9]. Невозможность окончательной элиминации заболевания связывают с межгосударственной миграцией населения, в результате которой происходит завоз лепры иммигрантами из высокоэндемичных регионов.

Необходимо также отметить случаи ошибочной диагностики лепры, вследствие чего около половины вновь выявленных в последние годы больных изначально не были диагностированы и являлись потенциальным источником заражения для окружающих [7]. Подобные случаи могут быть обусловлены низкой встречаемостью заболевания, что приводит к ухудшению качества диагностики медицинскими работниками. Кроме того, классические формы проявления лепры — туберкулоидная и лепроматозная — в настоящее время встречаются крайне редко.

Современная клиническая картина заболевания характеризуется наличием промежуточных, пограничных форм. Так, согласно классификации, предложенной в 1966 г. D. S. Ridley с соавт. [10], выделяют пять основных типов лепры в зависимости от развивающихся клинических проявлений:

- туберкулоидная лепра, ТТ (А30.1);
- пограничная туберкулоидная лепра, ВТ (А30.2);

- пограничная лепра, ВВ (А30.3);
- пограничная лепроматозная лепра, ВЛ (А30.4);
- лепроматозная лепра, ЛЛ (А30.5).

В дальнейшем данная классификация была дополнена еще тремя типами:

- лепра неуточненная (А30.9);
- недифференцированная лепра (А30.0);
- другие формы лепры (А30.8).

В зависимости от типа и числа пораженных областей выделяют:

- олигобациллярную лепру — бактериальный индекс (ВІ) <2+. ВІ определяется как число кислотоустойчивых бацилл, наблюдаемых в поле зрения микроскопа;
- мультибациллярную лепру — ВІ ≥2+.

Таким образом, возникает ситуация, при которой официально ликвидированное заболевание переходит в статус «возвращающейся инфекции». Приоритетной задачей при этом является ранняя диагностика лепры, которая в настоящее время основывается на осмотре кожных покровов, видимых слизистых оболочек, пальпации лимфатических узлов [11]. Подобный осмотр не всегда способен выявить лепру, так как развернутая картина болезни развивается далеко не во всех случаях и зависит от генетических особенностей организма. Бактериоскопическое исследование, которое в настоящее время является базовым лабораторным методом диагностики лепры [12], также не всегда информативно, так как для надежного обнаружения окрашенных *Mycobacterium leprae* требуется наличие по крайней мере 10⁴ микроорганизмов на 1 г ткани, что снижает чувствительность обнаружения, особенно у больных с промежуточной или туберкулоидной формой поражения.

В связи с этим возникает необходимость разработки и внедрения новых современных методов диагностики лепрозного процесса, которые стали бы доступными для широкого использования и решали такие задачи, как:

- выявление *Mycobacterium leprae*;
- проведение эпидемиологического мониторинга;
- определение генетических детерминант антибиотикорезистентности.

Выявление *Mycobacterium leprae*

Применяемые в настоящее время лабораторные подходы, направленные на диагностику, классификацию и контроль за лечением, можно разделить на две основные группы.

1. Классические подходы:

- окрашивание по Цилю–Нильсену, окраска аураминном и метод Kinyoun (модификация окраски по Цилю–Нильсену) — применяются при исследовании соскобов ткани и назальных мазков;
- метод Фите–Фарако (Fite–Faraco) — применяется при исследовании образцов биопсийного материала;
- серологические методы — применяются при определении антител на фенольный гликолипид I (PGLI) и 35-kDa-белок.

Данные подходы обладают высокой чувствительностью (90–100%) у пациентов с лепроматозной лепрой (ВЛ/ЛЛ), однако они малоинформативны в отношении пациентов с диагнозом «туберкулоидная лепра» (ВТ/ТТ).

2. Современные подходы:

- таргетное секвенирование видоспецифичных генов *Mycobacterium leprae*;
- ДНК-микрочипы и анализ полиморфизма длины фрагментов рестрикции ДНК (ПДРФ-анализ) — при-

меняются при молекулярном типировании микобактерий;

- полимеразная цепная реакция (ПЦР) в реальном времени — применяется для прямой детекции фрагментов ДНК *Mycobacterium leprae* и мониторинга антибиотикорезистентности;
- метод ПЦР с обратной транскрипцией — применяется для исследования жизнеспособности микобактерий;
- PCR-SSCP (метод ПЦР, основанный на анализе конформационного полиморфизма одноцепочечной ДНК) — применяется для идентификации мутаций, приводящих к формированию антибиотикорезистентности.

Практически все современные подходы к исследованию лепры основываются на методе ПЦР, в основе которой лежит многократное избирательное копирование анализируемого фрагмента ДНК. Широкое применение ПЦР в исследовании лепры стало возможным благодаря расшифровке генома *Mycobacterium leprae*. В результате сравнительного анализа геномов *Mycobacterium leprae* и *Mycobacterium tuberculosis* были выявлены значительные отличия (табл. 1) [13].

Таблица 1. Сравнительная характеристика геномов *Mycobacterium leprae* и *Mycobacterium tuberculosis*

Свойства	<i>Mycobacterium leprae</i>	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>
Размер генома, п. о.	3 268 203	4 411 532
G+C, %	57,79	65,61
Белок-кодирующие гены	1604	3959
Псевдогены	1116	6

Также отличительной чертой *Mycobacterium leprae* является то, что примерно 2% ее генома составляют специфические повторяющиеся последовательности четырех семейств: RLEP (39 копий), REPLEP (15 копий), LEPREP (8 копий) и LEPRPT (5 копий) [14, 15]. Данные последовательности не относятся к белок-кодирующим генам. Однако высокая степень копийности позволяет использовать их в качестве генетических мишеней в диагностических исследованиях. Так, в исследовании R. P. Turankar и соавт. благодаря гену-мишени RLEP удалось обнаружить присутствие микобактерий лепры в 83% кожных скарификатов, 100% проб крови и 36% проб почвы. По итогам проведенных исследований было отмечено, что RLEP показал лучшие результаты среди всех других целевых генов (*groT*, *Sod A* и *16S rPHK*). Было отмечено, что ген-мишень RLEP смог обнаружить наибольшее количество (53%) ВІ-негативных больных лепрой среди всех целевых генов [16].

В исследовании, проведенном A. N. Martinez и соавт., методом ПЦР обследовали замороженные кожные скарификаты 62 пациентов: 21 больного с мультибациллярной лепрой, 26 — с олигобациллярной лепрой, а также 10 пациентов, страдающих от других дерматологических заболеваний, и 5 здоровых добровольцев. Были получены следующие результаты: чувствительность к Ag 85B составила 66,1%, к *16S rPHK* — 62,9% и к *sodA* — 59,7%. С другой стороны, анализ специфического повторяющего-

ся элемента RLEP оказался наиболее чувствительным — 87,1%. Кроме того, при помощи RLEP удалось обнаружить микобактерии лепры у трех пациентов, первоначально не имевших диагноза лепры. Помимо этого, в четырех других образцах была заподозрена недифференцированная форма лепры, расцененная либо как остаточные явления после лечения заболевания, либо как субклиническое состояние [17].

По другим данным литературы, была обнаружена способность специфического повторяющегося элемента RLEP выявлять ДНК микобактерий лепры у 73% пациентов с бактериальным индексом, равным нулю [18–20].

Возможность применения многокопийного фрагмента RLEP была также подтверждена в исследованиях, выполненных на базе Государственного научного центра дерматовенерологии и косметологии Минздрава России. В рамках государственного задания «Разработка медицинского изделия для обследования иностранных граждан и лиц без гражданства» была разработана тест-система в формате ПЦР в реальном времени, использующая в качестве гена-мишени RLEP. Результаты исследования клинического материала от пациентов с диагнозом «лепра» показали, что амплификация многокопийного фрагмента RLEP позволяет существенно повысить чувствительность детекции и выявлять следовые концентрации возбудителя лепры по сравнению с однокопийными генами *Mycobacterium leprae* (*groB*, *MntH*, *16S*).

Проведение эпидемиологического мониторинга

Несмотря на то, что лепра является одним из древнейших заболеваний, до сих пор не ясны точные механизмы распространения возбудителя этой инфекции [15]. Вместе с тем возможность своевременной диагностики и, как следствие, назначение соответствующего лечения напрямую зависят от исследования возникновения и распространения штаммов *Mycobacterium leprae*.

В отношении возбудителя лепры молекулярно-эпидемиологический мониторинг заключается в исследовании полиморфизма ДНК *Mycobacterium leprae*. Применяемые при этом системы молекулярного типирования можно разделить на две группы:

- SNP-типирование — в основе метода лежит анализ однонуклеотидных полиморфизмов ДНК (от англ. Single Nucleotide Polymorphism, SNP);
- VNTR-типирование — метод основан на анализе варьирующих по числу tandemных повторов ДНК (от англ. Variable Number of Tandem Repeat, VNTR).

Первая попытка SNP-типирования была осуществлена в 2005 г. M. Monot с соавт. [21]. В результате исследования ~400 различных штаммов из 28 стран было выделено четыре SNP-типа, различающихся между собой по трем однонуклеотидным полиморфизмам. Дальнейшие исследования позволили расширить систему типирования *Mycobacterium leprae*. Так, в работе M. Monot и соавт. 2009 г. при изучении 215 полиморфизмов было показано, что 84 из них позволяют дополнительно разделить штаммы *Mycobacterium leprae* на 16 SNP-типов (1A–4P) и установить корреляцию с их географическим расположением. Предложенная система SNP-типирования успешно применяется при эпидемиологических исследованиях в долгосрочной перспективе, позволяя не только кластеризовать штаммы *Mycobacterium leprae*, но и определить филогенетические связи между группами штаммов [22]. Однако в эпидемиологических исследо-

ваниях региональных популяций возбудителя лепры, отслеживании цепи передачи *Mycobacterium leprae* от человека к человеку данный подход малоинформативен. В случае, когда требуется обеспечить большую дискриминацию штаммов, применяют VNTR-типирование [15, 23]. VNTR — это вариабельные тандемные повторы ДНК, которые используют в качестве генетической мишени во многих молекулярно-эпидемиологических исследованиях. По сравнению с однонуклеотидными полиморфизмами (SNP) VNTR демонстрируют более высокую скорость мутационного процесса, способствуют формированию биогеографического разнообразия и адаптации к новым условиям, в том числе развитию устойчивости к лекарственным препаратам [24]. Тем не менее при проведении эпидемиологического мониторинга *Mycobacterium leprae* рекомендуют использовать комбинированный подход с учетом преимуществ и ограничений обоих методов типирования. Данный подход позволяет получить более детальную характеристику анализируемых штаммов *Mycobacterium leprae* с описанием как филогенетического компонента (SNP-типиро-

вание), так и динамического разветвления региональных популяций (VNTR-типирование) [13, 15].

Определение генетических детерминант антибиотикорезистентности

Благодаря стандартизации комплекса лечебных мероприятий удалось добиться стабильного снижения общей заболеваемости лепрой во многих странах [9]. Предпосылки к этому сформировались еще в 1940-х гг., когда был разработан дапсон (4,4-диаминодифенилсульфон) — препарат, останавливающий развитие заболевания за счет нарушения синтеза фолатов в микробных клетках. Однако лечение было многолетним, в некоторых случаях пожизненным, что затрудняло его применение для пациентов. В начале 1960-х гг. был открыт рифампицин, нарушающий синтез РНК в бактериальных клетках [14]. Наряду с клофазимином, ингибирующим транскрипцию микобактериальной ДНК, рифампицин был включен в схему лечения, названную позднее комбинированной лекарственной терапией (КЛТ) и рекомендованную ВОЗ (табл. 2) [25].

Таблица 2. Схема КЛТ лепры, рекомендованная ВОЗ

Препарат	Дозировка		
	Дети <10 лет	Дети 10–14 лет	Взрослые
КЛТ при олигобациллярной форме лепры (длительность лечения 6 месяцев)			
Рифампицин	10 мг/кг ежемесячно	450 мг ежемесячно	600 мг ежемесячно
Дапсон	2 мг/кг ежедневно	50 мг ежедневно	100 мг ежедневно
КЛТ при мультибациллярной форме лепры (длительность лечения 12 месяцев)			
Рифампицин	10 мг/кг ежемесячно	450 мг ежемесячно	600 мг ежемесячно
Клофазимин	6 мг/кг ежемесячно + 1 мг/кг ежедневно	150 мг ежемесячно + 50 мг через день	300 мг ежемесячно + 50 мг ежедневно
Дапсон	2 мг/кг ежедневно	50 мг ежедневно	100 мг ежедневно

В некоторых случаях применяют альтернативные схемы лечения, включающие офлоксацин (действует на бактериальный фермент ДНК-гиразу, дестабилизируя ДНК и вызывая гибель микобактерии), миноциклин (ингибирует белковый синтез) и кларитромицин (связывается с 50S рибосомальной субъединицей, предотвращая тем самым синтез белка) [14].

Однако существует риск формирования резистентности *Mycobacterium leprae* к применяемым лекарственным препаратам. Состояние резистентности формируется путем изменения нуклеотидной последовательности в ряде генов, в результате чего происходит замена аминокислот в белковой цепи. В настоящее время описаны данные по трем генам *Mycobacterium leprae*, мутации в которых приводят к антибиотикорезистентности:

- ген *folP* — ответственен за формирование устойчивости к дапсону. В результате мутаций происходят замены треонина (ACC) в положении 53 и пролина в положении 55 (CCC);
- ген *groV* — формируется устойчивость к рифампицину. В результате мутаций происходят замены глицина в положении 407 (CAG), аспарагиновой кислоты

в положении 410 (GAT), гистидина в положении 420 (CAC), серина в положении 425 (TCG) и лейцина в положении 427 (CTG);

- ген *gyrA* — формируется устойчивость к офлоксацину. В результате мутаций происходят замены глицина в положении 89 (GGC), аланина в положении 91 (GCA), серина в положении 92 (TCG) и аспарагиновой кислоты в положении 95 (GAC).

С целью мониторинга случаев рецидива после КЛТ ВОЗ в 2009 г. был предложен протокол исследования резистентных штаммов *Mycobacterium leprae*, в основе которого лежит секвенирование фрагментов генов *folP*, *groV* и *gyrA* [26]. Результаты данного исследования позволяют осуществлять эпидемиологический контроль за распространением антибиотикорезистентных штаммов возбудителя лепры на территории стран, высокоэндемичных по этому заболеванию. Помимо секвенирования фрагментов ДНК *Mycobacterium leprae* для выявления детерминант резистентности применяют также ПЦР в реальном времени и ДНК-микрочипы на основе олигонуклеотидных зондов, соответствующих каждой мутации в анализируемых генах [27, 28].

Заключение

Несмотря на снижение общего уровня заболеваемости лепрой в мире, регистрация новых случаев не позволяет говорить о ее полной элиминации. Бактериоскопическое исследование, применяемое в настоящее время в качестве базового метода диагностики, требует от врача значительного опыта при работе с *Mycobacterium leprae*: данному микроорганизму свойственен полиморфизм, который приводит к изменению не только внешних признаков кислотоустойчивых микобактерий, но и способности воспринимать краски, формированию «нетипичных» форм. В связи с этим особенно актуальным становится развитие и внедрение современных подходов в диагностике лепры. Молекулярно-генетические мето-

ды характеризуются большей чувствительностью. Кроме того, неоспоримыми преимуществами диагностического подхода на основании ПЦР в реальном времени при исследовании образцов соскобов со слизистой оболочки носа являются неинвазивность и простота получения клинического материала, что крайне важно при проведении, например, массовых обследований мигрантов или в случае болезненных ощущений пациента при взятии биопсийного препарата.

Молекулярно-эпидемиологический мониторинг *Mycobacterium leprae* позволяет не только отследить пути распространения и передачи возбудителя лепры от человека к человеку, но и своевременно выявить мутантные штаммы *Mycobacterium leprae*, позволяя скорректировать тем самым схему лечения. ■

Литература/References

1. Скрипкин Ю. К., Кубанова А. А., Акимов В. Г. Кожные и венерические болезни. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. [Skripkin Yu. K., Kubanova A. A., Akimov V. G. Dermal and Venereal Diseases. M.: GEOTAR-Media, 2009.]
2. Дегтярев О. В., Иншина Е. А., Метревели Г. В., Янчевская Е. Ю. Рецидивы лепры. Астраханский медицинский журнал. 2015;10:6–14. [Degtyarev O. V., Inshina E. A., Metreveli G. V., Yanchevskaya E. Yu. The Relapse of Leprosy. Astrakhan Medical Journal. 2015;10:6–14.]
3. WHA44.9: Adoption of Multidrug Therapy for Elimination of Leprosy as a Public Health Problem. 1991.
4. Лепра. Доклад ВОЗ EB 126/41. Пункт 4.21. Сто двадцать шестая сессия ВОЗ, 2010. [Leprosy. WHO Report EB 126/41. P. 4.21. 126th session of WHO, 2010.]
5. Aftab H., Nielsen S. D., Bygbjerg C. Leprosy in Denmark 1980–2010: a Review of 15 Cases. BMC Res. Notes. 2016;9(1):1–9.
6. Bret S., Flageul B., Girault P. Y. et al. Epidemiological Survey of Leprosy Conducted in Metropolitan France between 2009 and 2010. Ann. Dermatol. Venereol. 2013;140(5):347–352.
7. Дуйко В. В. Особенности организации противолепрозных мероприятий в России на современном этапе. Проблемы социальной гигиены и история медицины. 2013;(2):31–32. [Duyko V. V. Features of the Organization of Anti-Leprosy Measures in Russia at the Present Stage. Problems of Social Hygiene and the History of Medicine. 2013;(2):31–32.]
8. Дуйко В. В. О противолепрозных мероприятиях в России. Бюллетень Национального научно-исследовательского института общественного здоровья имени Н. А. Семашко. 2013;(1):154–157. [Duyko V. V. About Anti-Leprosy Measures in Russia. Bulletin of the N.A. Semashko National Research Institute of Public Health. 2013;(1):154–157.]
9. Ющенко А. А., Урляпова Н. Г., Дуйко В. В. Анализ и прогноз эпидемиологической ситуации по лепре в России. Астрахань, 2002. С. 43. (Yushchenko A. A., Urlyapova N. G., Duyko V. V. Analysis and Forecast of the Leprosy Epidemiological Situation in Russia. Astrakhan, 2002. P. 43.)
10. Ridley D. S., Jopling W. H. Classification of Leprosy According to Immunity. A Five-Group System. Int. J. Lepr. Other Mycobact. Dis. 1966;34(3):255–273.
11. Приказ Минздрава СССР от 14.12.1990 № 483 «Об утверждении инструкций по борьбе с лепрой». [The Order of USSR Ministry of Health of 14.12.1990 N 483 "On Approving Instructions for the Fight Against Leprosy".]
12. Скрипкин Ю. К., Бутов Ю. С., Иванов О. Л. Дерматовенерология. Национальное руководство. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2013. [Skripkin Yu. K., Butov Yu. S., Ivanov O. L. Dermatovenereology. National Leadership. M.: GEOTAR-Media, 2013.]
13. Cole S. T., Eiglmeier K., Parkhill J. et al. Massive Gene Decay in the Leprosy Bacillus. Nature. 2001;409(6823):1007–1011.
14. Nunzi E., Massone C. Leprosy. A practical guide. Springer, 2015.
15. Lavania M., Jadhav R., Turankar R. P. et al. Genotyping of *Mycobacterium leprae* Strains from a Region of High Endemic Leprosy Prevalence in India. Infect. Genet. Evol. 2015;36:256–261.
16. Turankar R. P., Pandey S., Lavania M. et al. Comparative Evaluation of PCR Amplification of RLEP, 16S rRNA, rpoT and Sod A Gene Targets for Detection of *M. leprae* DNA from Clinical and Environmental Samples. Int. J. Mycobacteriol. 2015;4(1):54–59.
17. Memon R. A., Hussain R., Raynes J. G. et al. Alterations in Serum Lipids in Lepromatous Leprosy Patients with and without ENL Reactions and Their Relationship to Acute Phase Proteins. Int. J. Lepr. Other Mycobact. Dis. 1996;64(2):115–122.
18. Martinez A. N., Ribeiro-Alves M., Sarno E. N., Moraes M. O. Evaluation of qPCR-Based Assays for Leprosy Diagnosis Directly in Clinical Specimens. PLoS Negl. Trop. Dis. 2011;5(10):1–8.
19. Yan W., Xing Y., Yuan L. C. et al. Application of RLEP Real-Time PCR for Detection of *M. leprae* DNA in Paraffin-Embedded Skin Biopsy Specimens for Diagnosis of Paucibacillary Leprosy. Am. J. Trop. Med. Hyg. 2014;90(3):524–529.
20. Yoon K. H., Cho S. N., Lee M. K. et al. Evaluation of Polymerase Chain Reaction Amplification of *Mycobacterium leprae* Specific Repetitive Sequence in Biopsy Specimens from Leprosy Patients. J. Clin. Microbiol. 1993;31(4):895–899.
21. Monet M., Honoré N., Garnier T. et al. On the Origin of Leprosy. Science. 2005;308(5724):1040–1042.
22. Monet M., Honoré N., Garnier T. et al. Comparative Genomic and Phylogeographic Analysis of *Mycobacterium leprae*. Nat. Genet. 2009;41(12):1282–1289.
23. Lima L., Fontes A., Li W. et al. Intrapatient Comparison of *Mycobacterium leprae* by VNTR Analysis in Nasal Secretions and Skin Biopsy in a Brazilian Leprosy Endemic Region. Lepr. Rev. 2016;87(4):486–500.

24. Monot M., Honoré N., Balière C. et al. Are Variable-Number Tandem Repeats Appropriate for Genotyping *Mycobacterium leprae*? J. Clin. Microbiol. 2008;46(7):2291–2297.

25. Chemotherapy of Leprosy for Control Programmes. Technical Report Series 675. Geneva: World Health Organization, 1982.

26. Guidelines for Global Surveillance of Drug Resistance in Leprosy. World Health Organization, 2009.

27. Matsuoka M., Aye K. S., Kyaw K. et al. A Novel Method for Simple Detection of Mutations Conferring Drug Resistance in *Mycobacterium leprae*, Based on a DNA Microarray, and its Applicability in Developing Countries. J. Med. Microbiol. 2008;57(Pt 10):1213–1219.

28. Ling D. I., Zwerling A. A., Pai M. GenoType MTBDR Assays for the Diagnosis of Multidrug-Resistant Tuberculosis: a Meta-Analysis. Eur. Respir. J. 2008;32(5):1165–1174.

Информация об авторе

Ольга Анатольевна Образцова — к.б.н., старший научный сотрудник отдела лабораторной диагностики ИППП и дерматозов Государственного научного центра дерматовенерологии и косметологии Министерства здравоохранения Российской Федерации; e-mail: valeeva19@gmail.com

Information about the author

Ol'ga A. Obratsova — PhD (biology), Senior Scientific Researcher, Department of Laboratory Diagnostics of STIs and Dermatitis, State Research Center of Dermatovenereology and Cosmetology, Ministry of Health of the Russian Federation; e-mail: valeeva19@gmail.com