

ФЕДЕРАЛЬНОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ  
«САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ  
ЭПИДЕМИОЛОГИИ И МИКРОБИОЛОГИИ ИМ. ПАСТЕРА»  
ФЕДЕРАЛЬНОЙ СЛУЖБЫ ПО НАДЗОРУ В СФЕРЕ ЗАЩИТЫ ПРАВ  
ПОТРЕБИТЕЛЕЙ И БЛАГОПОЛУЧИЯ ЧЕЛОВЕКА

*На правах рукописи*

Вязовая Анна Александровна

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА ПОПУЛЯЦИИ И МНОЖЕСТВЕННАЯ  
ЛЕКАРСТВЕННАЯ УСТОЙЧИВОСТЬ *Mycobacterium tuberculosis*

1.5.11. – микробиология

Диссертация  
на соискание ученой степени доктора биологических наук

Научный консультант:  
Нарвская Ольга Викторовна  
доктор медицинских наук, профессор

Санкт-Петербург – 2023

## ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	
Актуальность темы исследования	4
Степень разработанности темы исследования	6
Цель исследования	7
Задачи исследования	7
Научная новизна исследования	8
Теоретическая и практическая значимость исследования	10
Методология и методы исследования	12
Объекты исследования	13
Микробиологические исследования	14
Молекулярно-генетические методы исследования	15
Статистические методы исследования	18
Личное участие автора в получении результатов	19
Основные положения, выносимые на защиту	20
Степень достоверности и апробация результатов исследования	20
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	
1.1. Туберкулез: общая характеристика	23
1.2. Туберкулез с множественной лекарственной устойчивостью возбудителя – глобальная проблема современности	24
1.3. Основные эпидемиологические показатели по туберкулезу	27
1.4. Молекулярно-генетическая характеристика и методы генотипирования <i>M. tuberculosis</i>	31
1.5. Структура популяции <i>M. tuberculosis</i> : филогенетические линии, сублинии, генетические семейства, кластеры	36
1.6. Молекулярно-генетическая характеристика и особенности популяции <i>M. tuberculosis</i> в России	48
1.7. Генетические маркеры и механизмы лекарственной устойчивости <i>M. tuberculosis</i>	56
1.8. Методы определения лекарственной чувствительности <i>M. tuberculosis</i>	64
РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ	
ГЛАВА 2. Характеристика групп впервые выявленных больных туберкулезом легких в регионах Северо-Западного федерального округа России	68
ГЛАВА 3. Характеристика штаммов <i>M. tuberculosis</i> в регионах Северо-Западного федерального округа России	
3.1. Молекулярно-генетическая характеристика популяции возбудителя туберкулеза в Архангельской области	75

3.2. Молекулярно-генетическая характеристика популяции возбудителя туберкулеза в Вологодской области	78
3.3. Молекулярно-генетическая характеристика популяции возбудителя туберкулеза в Калининградской области	83
3.4. Молекулярно-генетическая характеристика популяции возбудителя туберкулеза в Республике Карелия	87
3.5. Молекулярно-генетическая характеристика популяции возбудителя туберкулеза в Республике Коми	91
3.6. Молекулярно-генетическая характеристика популяции возбудителя туберкулеза в Мурманской области	97
3.7. Молекулярно-генетическая характеристика популяции возбудителя туберкулеза в Новгородской области	101
3.8. Молекулярно-генетическая характеристика популяции возбудителя туберкулеза в Псковской области	104
ГЛАВА 4. Разнообразие структуры популяции <i>M. tuberculosis</i>	
4.1. Характеристика штаммов <i>M. tuberculosis</i> : генотипы и лекарственная устойчивость	112
4.2. Характеристика субпопуляции <i>M. tuberculosis</i> генотипа Beijing	125
4.3. Характеристика субпопуляции <i>M. tuberculosis non-Beijing</i>	138
4.4. Генотипы штаммов <i>M. tuberculosis</i> , выделенных от ВИЧ-позитивных больных с впервые выявленным туберкулезом	145
ГЛАВА 5. Разработка способов ускоренного генотипирования штаммов Beijing и алгоритм исследования популяции <i>M. tuberculosis</i>	
5.1. Разработка ускоренных способов генотипирования штаммов генетического семейства Beijing <i>M. tuberculosis</i>	146
5.2. Алгоритм генотипирования штаммов при исследовании популяции <i>M. tuberculosis</i>	152
ГЛАВА 6. Мутации резистентности к бедаквину серийных изолятов <i>M. tuberculosis</i>	156
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	170
ВЫВОДЫ	183
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	185
ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ	186
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	187
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	189
ПРИЛОЖЕНИЕ 1	242
ПРИЛОЖЕНИЕ 2	263
ПРИЛОЖЕНИЕ 3	266
ПРИЛОЖЕНИЕ 4	277

## ВВЕДЕНИЕ

### Актуальность темы исследования

Согласно прогнозам Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) в ближайшие десять лет туберкулез (ТБ), наряду с ВИЧ-инфекцией, останется одной из ведущих причин смертности от инфекционных болезней в мире. По оценке ВОЗ в 2019 году туберкулезом заболели 10 миллионов, умерли около 1,4 миллиона человек, в том числе 208 000 с вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ) [322].

Основными факторами, поддерживающими глобальное бремя туберкулеза, являются рост заболеваемости за счет инфицирования устойчивыми к противотуберкулезным препаратам (ПТП) штаммами *Mycobacterium tuberculosis*, увеличение популяции ВИЧ-коинфицированных и лиц с ослабленным иммунитетом/иммуносупрессией, чему немало способствовала пандемия COVID-19, вызванная коронавирусом SARS-CoV-2 [5, 6, 10, 11, 43, 102, 290, 323]. Вследствие недостаточной результативности лечения и мер инфекционного контроля среди впервые выявленных больных растет доля случаев туберкулеза с множественной лекарственной устойчивостью возбудителя (МЛУ-ТБ), при котором изониазид и рифампицин, два наиболее сильнодействующих препарата, не эффективны [323, 325]. Рекомендованная ВОЗ новая схема лечения туберкулеза с множественной лекарственной устойчивостью возбудителя с использованием только пероральных препаратов, в частности, бедаквилина, не исключает формирования устойчивости и к этому препарату за счет геномных мутаций возбудителя [318].

По состоянию на 2019 г. Российская Федерация (РФ) входила в число 30 стран мира с высоким бременем туберкулеза, на которые приходилось 87% случаев заболевания в мире [322]. При этом в России отмечена тенденция к снижению уровней заболеваемости (с 85,1 в 2008 г. до 41,2 в 2019 г.) и смертности от туберкулеза (с 17,9 в 2008 г. до 5,1 в 2019 г.) на 100 000 населения при неуклонном росте доли туберкулеза с множественной лекарственной устойчивостью возбудителя (с 13,0% в 2009 г. до 29,0% в 2018 г.) у впервые выявленных больных

и четырехкратном увеличении (с 5,5% в 2009 г. до 23,1% в 2018 г.) доли пациентов с ВИЧ-ассоциированным туберкулезом (ВИЧ/ТБ) [56]. Динамика основных эпидемиологических показателей по туберкулезу на территориях РФ неодинакова. Так, в 2019 г. выявлено превышение среднего показателя заболеваемости туберкулезом (25,2 на 100 тыс. населения) на ряде территорий Северо-Западного федерального округа (СЗФО). Доля больных туберкулезом органов дыхания с множественной лекарственной устойчивостью возбудителя среди бактериовыделителей в данном федеральном округе увеличилась с 43,3% в 2009 г. до 60,8% в 2017 г. (против 26,5% и 54,0% в России в целом). При этом резервуар возбудителя туберкулеза с множественной лекарственной устойчивостью достоверно чаще пополнялся за счет впервые выявленных больных [16].

В качестве «золотого» стандарта этиологической диагностики туберкулеза до настоящего времени применяют трудоемкий и длительный (в силу физиологических особенностей патогена) микробиологический метод исследования. Однако даже ускоренное культивирование микобактерий на жидких питательных средах в системе ВАСТЕС MGIT 960 при определении лекарственной устойчивости (ЛУ) не позволяет изучать структуру популяций и следить за эволюцией *M. tuberculosis* – основного возбудителя туберкулеза человека, открытого Робертом Кохом еще в 1882 г.

В 90-х годах прошлого столетия были разработаны первые технологии внутривидовой дифференциации штаммов *M. tuberculosis* на основе выявления хромосомных маркеров полиморфизма (инсерционный элемент IS6110, область прямых повторов – DR) [191, 304]. Полная нуклеотидная последовательность ДНК лабораторного вирулентного штамма H37Rv опубликована в 1998 г. [123]. По мере накопления знаний об организации генома *M. tuberculosis* были выявлены полиморфные минисателлитные локусы MIRU (Mycobacterial Interspersed Repetitive Units) и VNTR (Variable Number of Tandem Repeats) [185, 293, 295]; с появлением полногеномного секвенирования (Whole Genome Sequencing, WGS) [122, 149, 311, 327] описаны крупные делеции (Large-Sequence

Polymorphisms, LSP) и однонуклеотидные замены (Single Nucleotide Polymorphisms, SNP), пригодные для дифференциации штаммов, а также мутаций, ведущих к формированию устойчивости к противотуберкулезным препаратам [1, 7, 14, 27, 45, 81, 93, 99, 124, 153, 160, 169, 177, 178, 301, 305, 314]. Эти исследования способствуют формированию представлений о принадлежности *M. tuberculosis* к числу строго клональных видов, подразделяемых на филогенетические линии/сублинии, семейства и кластеры (клоны), различающиеся по географическому распределению и ассоциации с субпопуляциями человека, способности к передаче, вирулентности и развитию лекарственной устойчивости [129, 130, 157, 224, 247, 273].

### **Степень разработанности темы исследования**

Молекулярно-генетические исследования, проводимые с конца 90-х годов прошлого столетия на отдельных территориях России с использованием IS6110-RFLP, сполиготипирования (spoligotyping) и MIRU-VNTR-типирования показали гетерогенность штаммов *M. tuberculosis*. Была установлена принадлежность значительной доли штаммов к генотипу Beijing [8, 33, 34, 38, 43, 76, 78, 79, 86, 146, 298]. Разрабатываются концепции возникновения, эволюции и филогеографии *M. tuberculosis* генетического семейства Beijing и других генотипов [22, 48, 58, 60, 220, 222, 235, 236, 281]. Впоследствии штаммы Beijing, имеющие профиль B0 и подобные ему профили IS6110-RFLP, были причислены к эпидемиологически и клинически значимому международному кластеру B0/W148, «успешному» в российской популяции *M. tuberculosis* [39, 81, 100, 221]. В последнее десятилетие продолжается процесс накопления данных о циркуляции на территориях России штаммов *M. tuberculosis* различных генотипов и о спектре мутаций к основным противотуберкулезным препаратам [2, 23, 30, 47, 50, 59, 63, 65, 73, 83, 119, 233, 260]. Однако молекулярно-генетические исследования *M. tuberculosis* до настоящего времени не регламентированы и осуществляются, как правило, с использованием доступных выборок штаммов и различных по дискриминирующей способности методов исследования, что затрудняет сравнение и интерпретацию результатов.

В этой связи, с учетом тенденций развития эпидемического процесса становится необходимой систематизация данных микробиологического мониторинга глобальной и территориальных популяций *M. tuberculosis* с использованием комплекса молекулярно-генетических методов исследования для изучения эволюции возбудителя, своевременной оценки клинической и эпидемиологической значимости циркулирующих штаммов в интересах оптимизации контроля туберкулеза с множественной лекарственной устойчивостью.

### **Цель исследования**

Изучить генетическое разнообразие, мутации устойчивости к противотуберкулезным препаратам и установить распространенность генотипов, ассоциированных с первичной множественной лекарственной устойчивостью штаммов, в популяции *M. tuberculosis* на Северо-Западе России с использованием единого комплекса молекулярно-генетических методов исследования.

### **Задачи исследования**

1. Провести генотипирование штаммов *M. tuberculosis*, выделенных от больных впервые выявленным туберкулезом легких в регионах Северо-Запада России, используя комплекс молекулярно-генетических методов.
2. Определить принадлежность штаммов *M. tuberculosis* к филогенетическим линиям/сублиниям, генетическим семействам и кластерам.
3. Провести сравнительный анализ фенотипической и генотипической устойчивости к основным противотуберкулезным препаратам штаммов *M. tuberculosis* различных генотипов на территориях Северо-Запада России.
4. Выявить ассоциированные с множественной лекарственной устойчивостью генотипы/кластеры штаммов и оценить их эпидемиологическую значимость с учетом региональных особенностей заболеваемости туберкулезом в Северо-Западном федеральном округе.
5. Изучить спектр мутаций, ассоциированных с устойчивостью *M. tuberculosis* к бедаквину, используя метод полногеномного секвенирования.

6. Разработать способы быстрой идентификации актуальных вариантов генетического семейства Beijing и алгоритм генотипирования штаммов *M. tuberculosis*.

### Научная новизна исследования

Молекулярно-генетический мониторинг впервые выявил неравномерность распределения генотипов *M. tuberculosis* и нарастание доли штаммов генотипа Beijing с первичной множественной лекарственной устойчивостью в субъектах Северо-Западного федерального округа.

Показано, что в структуре изученной популяции *M. tuberculosis* доминируют штаммы современной сублинии генетического семейства Beijing, принадлежащие к глобально распространенным генотипам B0/W148 и Central Asian/Russian (субтип CAO, впервые выявленный на территориях Северо-Запада России).

Выявленная высокая доля штаммов с множественной лекарственной устойчивостью, принадлежащих к кластеру 100-32 B0/W148, среди больных туберкулезом трудоспособного возраста (в т.ч. ВИЧ-позитивных), свидетельствует об эпидемическом характере распространения и клинической значимости данного генотипа *M. tuberculosis* на территориях Северо-Запада России с высокой плотностью населения.

Впервые в популяции *M. tuberculosis* на Северо-Западе России выявлены ассоциированные с множественной лекарственной устойчивостью кластеры 1065-32 Central Asian/Russian, 1071-32 древней сублинии Beijing и SIT262/Ural, представляющие потенциальную эпидемическую опасность.

Новые профили сполиготипирования *M. tuberculosis*, полученные в Северо-Западном федеральном округе и ранее неизвестные в России и за ее пределами, были депонированы в международную базу данных SITVIT2 (<http://www.pasteur-guadeloupe.fr:8081/SITVIT2/>). Споллигопрофилям, описанным в мире впервые, присвоены номера – SIT4165, SIT4250 и SIT4252.

Впервые разработан способ идентификации генотипа Central Asian/Russian (другое наименование – кластер 94-32) *M. tuberculosis* на основе аллель-



специфической ПЦР-РВ для обнаружения уникальной замены G>A в позиции 294 гена *sigE* (Патент на изобретение РФ № 2689800).

Впервые разработан способ выявления субтипа CAO Central Asian/Russian Beijing *M. tuberculosis* на основе мультиплексной ПЦР для обнаружения генотип-специфической вставки IS6110 в межгенной области *Rv1359 – Rv1360* (Патент на изобретение РФ № 2735415).

Впервые разработан способ установления принадлежности штаммов *M. tuberculosis* к современной или древней филогенетических сублиний генотипа Beijing на основе мультиплексной ПЦР-РВ для обнаружения замен GGA>CGA в кодоне 58 гена *mutT2* и CGG>GGG в кодоне 48 гена *mutT4* для (Патент на изобретение РФ № 2743365).

Впервые разработан способ определения принадлежности штаммов *M. tuberculosis* к кластеру 1071-32 древней сублинии Beijing на основе ПЦР-РВ для выявления замены нуклеотида 222C>T в гене *Rv0144* (Патент на изобретение РФ № 2768021).

Полученные новые для Российской Федерации данные о мутациях устойчивости к бедаквилину в генах *mmpR5* (Rv0678) и *atpE* (Rv1305) расширяют современные представления о спектре генов резистентности *M. tuberculosis*. Показано, что основной механизм устойчивости к бедаквилину у штаммов *M. tuberculosis* B0/W148 и CAO связан с мутациями в различных участках гена *mmpR* (Rv0678), обеспечивающих эффлюкс препарата из микробной клетки.

Созданы электронные информационные базы данных («Сполигопрофили *Mycobacterium tuberculosis* на Северо-Западе России», ФИПС № 2014620898 и «Сполигопрофили штаммов *Mycobacterium tuberculosis*, циркулирующих в Республике Коми», ФИПС № 2019622064), включающие уникальные характеристики штаммов (сполиготип, принадлежность к генетическому семейству, профиль фенотипической устойчивости к противотуберкулезным препаратам), которые могут применяться для изучения региональных особенностей и глобального разнообразия популяций возбудителя туберкулеза.

### Теоретическая и практическая значимость исследования

Впервые на обширной территории Северо-Запада России с использованием единого комплекса молекулярно-генетических методов исследования изучена пространственно-временная структура популяции *M. tuberculosis* и получены новые данные о генетическом разнообразии и детерминантах устойчивости возбудителя к противотуберкулезным препаратам. Приведены факты, доказывающие неравномерность распределения генотипов в гетерогенных популяциях *M. tuberculosis* в субъектах Северо-Западного федерального округа.

Молекулярно-эпидемиологический мониторинг выявил тенденцию к увеличению доли эволюционно «успешного» генотипа Beijing в структуре территориальных популяций *M. tuberculosis*.

Установлены связи между первичной множественной лекарственной устойчивостью, ассоциированной с определенным спектром мутаций, и принадлежностью штаммов *M. tuberculosis* к различным генотипам, что позволяет оценить клиническую и эпидемиологическую значимость возбудителя.

Разработаны теоретические положения, расширяющие границы представлений о значении разнообразия популяции *M. tuberculosis* в условиях широкого распространения туберкулеза с множественной лекарственной устойчивостью возбудителя.

Предложенный алгоритм генотипирования штаммов *M. tuberculosis*, включающий разработанные способы быстрого выявления основных генотипов и кластеров современной и древней сублиний *M. tuberculosis* Beijing, может быть применим для слежения за циркуляцией штаммов определенных генотипов и характеристики динамики пространственно-временной структуры популяции *M. tuberculosis*.

Разработанные электронные базы данных для накопления и сравнительного анализа информации о генотипах штаммов позволяют проводить молекулярно-генетический мониторинг популяции *M. tuberculosis*.

Профили сполиготипирования 408 штаммов депонированы в международную базу сполиготипов SITVIT2: SITVIT/SITVITEXTEND Database projects Institut Pasteur de la Guadeloupe, France <http://www.pasteur-guadeloupe.fr:8081/SITVIT2>.

Полногеномные последовательности 43 серийных изолятов *M. tuberculosis* 11 больных МЛУ-ТБ, леченных беквацином, депонированы в международном банке данных GenBank: NCBI Sequence Read Archive (project number PRJNA525341, PRJNA635788) *Mycobacterium tuberculosis* raw sequence reads (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/sra/?term=PRJNA525341>, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/sra/?term=PRJNA635788>).

Сформирована коллекция ДНК штаммов, представляющих различные генетические семейства, линии/сублинии и кластеры, для исследования геномики и протеомики *M. tuberculosis* и оценки эффективности новых противотуберкулезных соединений. На представленной коллекции ДНК штаммов апробированы разработанные способы выявления генотипов, кластеров и филогенетических сублиний семейства Beijing *M. tuberculosis* методом ПЦР.

Результаты генотипирования *M. tuberculosis* внедрены в практическую деятельность бактериологической лаборатории ФГБУ «Санкт-Петербургский НИИ фтизиопульмонологии» Минздрава России (акт внедрения от 01.12.2022 г.). Материалы диссертации внедрены в образовательный процесс Учебного отдела ФГБУ «Санкт-Петербургский НИИ фтизиопульмонологии» Минздрава России – в программы повышения квалификации врачей (акт внедрения от 01.12.2022 г.), в курс лекций на кафедрах эпидемиологии, общественного здоровья и здравоохранения ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» Минздрава России (акт внедрения от 15.12.2022 г.), на кафедре фтизиопульмонологии ФГБОУ ВО «Северный государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Архангельск (акт внедрения от 12.12.2022 г.), в образовательный процесс на кафедре поликлинической терапии и профилактической медицины с курсом общественного здоровья и здравоохранения ФГБОУ ВО «Бурятский государственный университет имени Доржи Банзарова» и в работу микробиологической лаборатории ГБУЗ

«Республиканский клинический противотуберкулезный диспансер имени Галины Доржиевны Дугаровой», г. Улан-Удэ (акт внедрения от 14.12.2022 г.).

### **Методология и методы исследования**

Методология научной работы основана на современных научно обоснованных принципах изучения популяционной структуры *M. tuberculosis* и спланирована в соответствии с целью и задачами исследования. В качестве теоретического обоснования исследования использованы данные научной литературы, посвященные характеристике лекарственной устойчивости и генетической неоднородности штаммов *M. tuberculosis*. Планирование структуры исследований осуществляли на основе общенаучных репрезентативных методов: микробиологических, молекулярно-генетических, биоинформационных и статистических. Программа исследования включала несколько этапов:

- подготовительный – определение критериев для включения в исследование образцов ДНК *M. tuberculosis* и сбор сопроводительной информации;

- экспериментальный – выделение тотальной ДНК; определение принадлежности к филогенетическим линиям, генетическим семействам, генотипам, кластерам; полногеномное секвенирование; выявление мутаций, ассоциированных с резистентностью к изониазиду и рифампицину, бедаквилину;

- аналитический – статистическая обработка данных микробиологического и комплексного молекулярно-генетического исследования; разработка алгоритма, создание электронных баз данных, депонирование в международные базы данных и GenBank;

- постаналитический – интерпретация и анализ полученных результатов, формирование заключения и выводов.

Предметом исследования служили биологические (генотипические и фенотипические) свойства штаммов *M. tuberculosis*. Объектом исследования являлись образцы ДНК штаммов (изоляты) *M. tuberculosis*, выделенных от впервые выявленных больных туберкулезом легких. Протокол исследования был одобрен этической комиссией ФБУН эпидемиологии и микробиологии имени Пастера (протокол № 46 от 29.11.2018) и СПб НИИФ (протокол № 31.2 от

27.02.2017). Организация и проведение диссертационного исследования одобрены ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера (протокол № 10 от 30.11.2018).

### **Объекты исследования**

Изучены образцы ДНК 828 штаммов *M. tuberculosis*. из коллекции СПб НИИФ – многопрофильного научно-клинического учреждения, оказывающего специализированную и высокотехнологичную медицинскую помощь в области диагностики и лечения туберкулеза населению СЗФО России. СПб НИИФ является научно-методическим центром по эпидемиологическому мониторингу и организации противотуберкулезной работы в субъектах СЗФО.

Выделение и первичное определение фенотипической лекарственной чувствительности культур *M. tuberculosis* больных туберкулезом легких проведено в региональных противотуберкулезных диспансерах: ГБУЗ АО «Архангельский клинический противотуберкулезный диспансер», г. Архангельск; БУЗ ВО «Вологодский областной противотуберкулезный диспансер», г. Вологда; ГБУЗ «Противотуберкулезный диспансер Калининградской области», г. Калининград; ГБУЗ «Республиканский противотуберкулезный диспансер», г. Петрозаводск, Республика Карелия; ГБУЗ РК «Республиканский противотуберкулезный диспансер», г. Сыктывкар, Республика Коми; ГОБУЗ «Мурманский областной противотуберкулезный диспансер», Мурманск; ГБУЗ «Противотуберкулезный диспансер» Псковской области, г. Псков; ГОБУЗ «Новгородский клинический специализированный центр фтизиопульмонологии», г. Великий Новгород.

Культуры *M. tuberculosis* с сопроводительной характеристикой (№, дата посева и выделения, фенотипическая лекарственная устойчивость, пол, возраст, диагноз, место жительства пациента) поступали в бактериологическую лабораторию (зав. – к.м.н. Н.С. Соловьева) СПб НИИФ, где хранились для углубленного, в т.ч. молекулярно-генетического исследования в рамках договора о научном сотрудничестве № 556-2012/бс от 31.07.2012 между ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера и ФГБУ СПб НИИФ.

В зависимости от задач исследования были сформированы три группы штаммов *M. tuberculosis*. Первая (основная группа) группа включала 720 штаммов, выделенных от впервые выявленных больных туберкулезом легких в восьми регионах СЗФО с января 2014 г. по декабрь 2019 г. Основные критерии включения в исследование штаммов: культура *M. tuberculosis* выделена до начала лечения; наличие данных о фенотипической лекарственной чувствительности к ПТП изолята *M. tuberculosis*; возраст больного  $\geq 18$  лет; доступность сопроводительной информации (пол, возраст, диагноз, данные о проживании больного туберкулезом на территориях СЗФО).

Вторая группа из 67 штаммов, выделенных от впервые выявленных больных туберкулезом легких в Псковской области в более ранние годы (2008–2009 гг.), была изучена для оценки динамических изменений популяции *M. tuberculosis* в данном регионе.

Для исследования устойчивости к бедаквину сформирована третья группа из 43 серийных изолятов *M. tuberculosis* от 11 больных МЛУ-ТБ, получавших лечение бедаквином в противотуберкулезном диспансере Калининградской области в 2018–2019 гг.

### **Микробиологические исследования**

На базе бактериологической лаборатории СПб НИИФ в рамках договора о научном сотрудничестве совместно с к.м.н. Н.С. Соловьевой и к.м.н. В.Ю. Журавлевым проводилось рекультивирование, идентификация изолятов туберкулезных микобактерий до вида с использованием набора реагентов HAIN-GenoType MTBC (Hain Lifescience, Германия) и определение лекарственной чувствительности изолятов *M. tuberculosis* к широкому спектру ПТП (рифампицину, изониазиду, стрептомицину, этамбутолу, пиразинамиду, этионамиду, офлоксацину, канамицину, амикацину, циклосерину, каприомицину, ПАСК) непрямой метод абсолютных концентраций на среде Левенштейна-Йенсена и модифицированным методом пропорций в жидкой среде Middlebrook 7H9 с противотуберкулезными препаратами с детекцией роста на системе BACTEC MGIT 960 (BD, США). Оценка результатов определения

чувствительности к ПТП изолятов возбудителя туберкулеза осуществлялась согласно Приказу Минздрава России № 951 от 29.12.2014 года «Об утверждении методических рекомендаций по совершенствованию диагностики и лечения туберкулеза органов дыхания» [46], используя следующие определения: множественная лекарственная устойчивость (МЛУ) – устойчивость к изониазиду и рифампицину независимо от наличия устойчивости к другим противотуберкулезным препаратам, широкая лекарственная устойчивость (ШЛУ) – устойчивость к изониазиду, рифампицину, любому препарату из группы фторхинолонов и одному из группы инъекционных противотуберкулезных препаратов 2-го ряда: канамицину и/или амикацину и/или капреомицину, независимо от наличия устойчивости к другим противотуберкулезным препаратам; полирезистентность возбудителя; полирезистентность – устойчивость к двум и более противотуберкулезным препаратам, но не к сочетанию изониазида и рифампицина.

#### **Молекулярно-генетические методы исследования**

Экстракция ДНК. Выделение тотальной ДНК из микробных лизатов культуры *M. tuberculosis*, выращенной на среде Левенштейна-Йенсена, проводили по стандартному протоколу van Embden et al., 1993 [304]: к суспензии убитых нагреванием культур микобактерий добавляли лизоцим (Amresco, США) и инкубировали при 37°C. Дальнейшую обработку проводили с использованием додецилсульфата натрия (AppliChem, Германия), протеиназы К (Евроген, Россия) и цетилтриметиламмония бромида (AppliChem, Германия). Полученный лизат обрабатывали смесью фенол-хлороформ-изоамиловый спирт (25:24:1), центрифугировали, осаждали изопропанолом, промывали 70% этанолом, осадок высушивали и растворяли.

Оборудование. ПЦР проводили в амплификаторе «T100 Thermal Cycler» (Bio-Rad, США) и в режиме реального времени (ПЦР-РВ) на приборе «Rotor-Gene 6000» (Corbett Research, Австралия) с системой детекции флуоресцентного сигнала. Для визуализации результатов использовали гель-документирующую систему «Gel Doc XR+» (Bio-Rad, США).

Определение мутаций устойчивости к ПТП *M. tuberculosis*. Мутации в генах *rpoB*, *katG* и *inhA*, обуславливающие лекарственную устойчивость к рифампицину и изониазиду, определяли методом ПЦР-РВ с использованием тест-систем «Амплитуб-МЛУ-РВ» (ООО Синтол, Москва).

Генотипирование *M. tuberculosis*. Дифференциацию штаммов на группы Beijing и non-Beijing проводили методом мультиплексной ПЦР-РВ, основанным на обнаружении специфичной для генотипа Beijing инсерции IS6110 в межгенной области *dnaA-dnaN* [100]. Последовательности олигонуклеотидных праймеров и зондов (ООО Синтол, Москва), условия и оценка результатов ПЦР-РВ представлены в приложении 4.

Кластер B0/W148 Beijing определяли с помощью мультиплексной ПЦР-РВ, основанной на выявлении вставки IS6110 в области *Rv2664 – Rv2665*, с использованием сконструированных нами трех праймеров и двух флуоресцентно-меченых зондов (Приложение 4).

Кластер Central Asian/Russian (94-32) Beijing определяли ПЦР-РВ основанной на обнаружении замены G>A в гене *sigE* (Патент на изобретение РФ № 2689800. «Способ детекции изолятов *Mycobacterium tuberculosis* Beijing 94-32-кластера в формате реального времени»).

Субтип CAO Central Asian/Russian Beijing выявляли по наличию вставки IS6110 в области *Rv1359-Rv1360* методом мультиплексной ПЦР (Патент на изобретение РФ № 2735415. «Способ выявления микобактерий туберкулеза Центрально-Азиатского эпидемического кластера генотипа Beijing»).

Древнюю сублинию Beijing определяли методом ПЦР, выявляя мутации в кодоне 48 гена *mutT4* (CGG>GGG) и в кодоне 58 *mutT2* (GGA>CGA) (Патент на изобретение РФ № 2743365. «Способ детекции филогенетических сублиний генотипа Beijing *Mycobacterium tuberculosis* в формате реального времени», Приложение 4) и вставку IS6110 в локусе NTF методом ПЦР [312]. Кластер 1071-32 древней сублинии определяли путем выявления мутации C>T в гене *Rv0144* (Патент на изобретение РФ № 2768021. «Способ детекции генотипа



*Mycobacterium tuberculosis* Beijing 1071-32-кластер в формате реального времени»).

Семейство LAM определяли методом ПЦР-RFLP-анализа с эндонуклеазой *MboII* (Fermentas, Литва), выявляя LAM-специфичную замену 309G>A в гене *Rv0129c* [163].

Подсемейства LAM-RUS и LAM-RDRio. Мультиплексные ПЦР использовали для определения LAM-RUS по наличию делеции RD115 и специфической вставки *IS6110* в гене *plcA* [145, 300]; RDRio – по наличию делеции RD174 [163].

Сполиготипирование использовали для анализа полиморфизма (наличие или отсутствие 43 спейсеров) DR-локуса *M. tuberculosis* [191]. Профили сполитипирования регистрировали в бинарном формате (наличие сигнала/спейсера – 1, отсутствие – 0) и сравнивали с международной базой сполитипов *M. tuberculosis* SITVIT2 (<http://www.pasteur-guadeloupe.fr:8081/SITVIT2>).

MIRU-VNTR-типирование. Анализ 24 локусов VNTR и трех гипервариабельных локусов проводили согласно [185, 295]. Принадлежность изолятов к генетической линии (lineage) устанавливали путем сравнения полученных MIRU-VNTR профилей изолятов с имеющимися в базе данных «MIRU-VNTRplus» (<http://www.miruvntrplus.org>). Для определения принадлежности к клональным комплексам (clonal complexes – CCs) внутри генотипа Beijing профили штаммов по 24 локусам MIRU-VNTR сравнивали с международной базой данных [221].

Полногеномное секвенирование. Полногеномное секвенирование (WGS) проводили на платформе MiSeq или HiSeq (Illumina, США). Для подготовки ДНК-библиотек использовали ультразвуковую фрагментацию ДНК и набор NEBNext Ultra DNA Library Prep Kit for Illumina (New England Biolabs, США). Первичную обработку нуклеотидных прочтений в формате fastq проводили с помощью Trimmomatic (<http://www.usadellab.org/cms/index.php?page=trimmomatic>). Последовательности выравнивали на референсный геном *M. tuberculosis* H37Rv (NC\_000962.3) для поиска геномных вариантов с использованием Geneious 9

(Biomatters, Новая Зеландия). Для анализа секвенированных геномов использовали онлайн-ресурсы Phyresse (<https://bioinf.fz-borstel.de/mchips/phyresse>), PhyTB (<http://pathogenseq.lshtm.ac.uk/phytblive/index.php>) и TGS-TB (<https://gph.niid.go.jp/tgs-tb>).

Сводная информация об объеме исследований представлена в таблице 1.  
Таблица 1 – Методы и количество исследованных штаммов *M. tuberculosis*

Методы исследований	Количество штаммов
ПЦР-PB Beijing	785
ПЦР-PB Central Asian/Russian Beijing	440
ПЦР-PB B0/148 Beijing	440
ПЦР-PB CAO Central Asian/Russian Beijing	266
ПЦР mutT2 48 mutT4 58 (древняя сублиния Beijing)	56
ПЦР NTF (древняя сублиния Beijing)	56
ПЦР-PB 1071-32 (древняя сублиния Beijing)	56
LAM-PCR-RFLP	48
ПЦР LAM-RUS	95
ПЦР LAM-RDRio	35
MIRU-VNTR-24	288
Сполиготипирование	550
ПЦР-PB определение мутаций в генах <i>rpoB</i> , <i>katG</i> и <i>inhA</i>	274
Полногеномное секвенирование	43

### Статистические методы исследования

При обработке данных, представленных в формате Excel (Microsoft Office), использовали методы описательной статистики и анализа непараметрических данных на платформе онлайн-сервиса StatTech v. 1.2.0 (ООО «Статтех», Россия) интернет-портала «Медицинская статистика» (<https://medstatistic.ru/calculators/calchit.html>). Для установления статистической значимости различий между группами использовали критерий хи-квадрат Пирсона, точный критерий Фишера для четырехпольной и произвольных таблиц (критический уровень значимости  $p < 0,05$ ), отношение шансов (OR) и отношение рисков (RR). Полученные данные представлены в виде таблиц и диаграмм.

Для оценки аллельного полиморфизма локусов и дискриминирующей способности MIRU-VNTR-типирования вычисляли индекс разнообразия Хантера–Гастона (HGI, Hunter Gaston Index) [179]. Уровень кластеризации (Clustering Rate) штаммов оценивали по формуле:  $CR = (nc - c)/n$ , где  $nc$  – общее количество кластеризованных штаммов,  $c$  – количество кластеров,  $n$  – общее количество штаммов [295]. При этом кластером считали филогенетическую группу, состоящую из двух и более идентичных по 24 локусам штаммов.

Построение деревьев проводили на платформе онлайн-базы данных MIRU-VNTRplus и с использованием алгоритма Unweighted pare group method (UPGMA). Для анализа родства между штаммами и клональной идентификации на основе полиморфизма 24 локусов MIRU-VNTR использовали алгоритм построения минимального связующего дерева (MST, minimum spanning tree) (<https://www.miru-vntrplus.org/MIRU/index.faces#>).

#### **Личное участие автора в получении результатов**

Личный вклад соискателя состоит в непосредственном участии на всех этапах выполнения диссертационной работы, включая анализ научной литературы, обоснование темы, формулирование цели и задач, разработку дизайна исследования; автор самостоятельно осуществляла формирование и разработала алгоритм генотипирования штаммов *M. tuberculosis*, проводила систематизацию, статистическую обработку и анализ полученных данных. Разработка способов определения основных генотипов Beijing *M. tuberculosis* и оформление заявок на патенты выполнены совместно с научными сотрудниками ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера д.б.н. И.В. Мокроусовым и ФГБУ ФНКЦ ФХМ ФМБА России к.б.н. Е.А. Шитиковым. MIRU-VNTR типирование с электрофоретической детекцией, выполнено в лаборатории молекулярной эпидемиологии и эволюционной генетики ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера (Санкт-Петербург) совместно с научными сотрудниками А.А. Герасимовой, Д.Р. Терентьевой и Р.С. Мударисовой. Микробиологические исследования и определение генотипической лекарственной устойчивости выполнены совместно с научными

сотрудниками ФГБУ «НИИ фтизиопульмонологии» Минздрава России к.м.н. Н.С. Соловьевой и к.м.н. В.Ю. Журавлевым. Полногеномное секвенирование серийных изолятов *M. tuberculosis* проведено совместно с сотрудниками ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера: д.б.н. А.В. Семеновым, к.б.н. Ю.В. Останковой и к.б.н. Д.Е. Полевым.

#### **Основные положения, выносимые на защиту:**

1. В гетерогенной популяции *M. tuberculosis* на территориях Северо-Запада России превалируют штаммы Восточно-Азиатской (L2) и Евро-Американской (L4) филогенетических линий. В субпопуляции семейства Beijing (L2) преобладают неоднородные по локусам MIRU-VNTR и лекарственной чувствительности штаммы современной сублинии генотипов Central Asian/Russian и B0/W148.

2. В регионах Северо-Запада России с высокими показателями заболеваемости туберкулезом доминируют штаммы Beijing B0/W148 с множественной лекарственной устойчивостью, обусловленной преимущественно мутациями *rpoB* Ser531Leu и *katG* Ser315Thr.

3. В геномах серийных изолятов *M. tuberculosis* Beijing больных туберкулезом с множественной лекарственной устойчивостью возбудителя, леченных бедаквилином, выявлены мутации в генах *mmpR5* (Rv0678) и *atpE* (Rv1305), ассоциированные с устойчивостью к данному препарату.

4. Разработаны способы ускоренного генотипирования штаммов генетического семейства Beijing *M. tuberculosis* и предложен поэтапный алгоритм для молекулярно-эпидемиологического мониторинга микробных популяций.

#### **Степень достоверности и апробация результатов исследования**

Достоверность полученных результатов обеспечивается объемом проведенных исследований и выбором четких критериев включения репрезентативного материала. Экспериментальные данные получены с использованием комплекса молекулярно-генетических и бактериологических методов исследования; подвергнуты обработке и систематизации с помощью

современных биоинформационных и статистических методов и представлены в виде таблиц и графических изображений.

Диссертация выполнена в рамках научно-исследовательской работы ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера: «Разработка проблемы генетического разнообразия и изменчивости патогенных микобактерий (возбудителей туберкулеза и микобактериоза) и вакцины БЦЖ и научное обоснование лабораторных методов исследования нового поколения для диагностики и мониторинга популяций» (2015–2020 гг., АААА-А16-116061410036-3.) и «Молекулярная и геномная эпидемиология туберкулеза и микобактериоза: оценка динамических изменений структуры популяций возбудителей и эффективности лабораторных методов нового поколения для диагностики и мониторинга» (2021–2025 гг., АААА-А21-121021600206-5).

Диссертация апробирована на заседании Ученого совета ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера (протокол № 1 от 23.12.2022 г.).

Материалы диссертации доложены и представлены на международных, всероссийских и региональных научно-практических конференциях: ежегодные конгрессы Европейского общества микобактериологов (Society of Mycobacteriology – ESM, Флоренция, Италия, 2013; Рига, Латвия, 2015; Катания, Италия, 2016; Дрезден, Германия, 2018; Валенсия, Испания, 2019; 2021); Международная конференция «Молекулярная эпидемиология актуальных инфекций» (Санкт-Петербург, 2013); конгрессы Национальной ассоциации фтизиатров (Санкт-Петербург, 2013, 2015, 2017, 2018, 2022); Научный симпозиум международной сети институтов Пастера (Париж, Франция, 2014); 1-й Азиатско-Африканский конгресс микобактериологии (Исфахан, Иран, 2015); конгрессы Федерации Европейских Микробиологических обществ (Federation of European Microbiological Societies, FEMS, Валенсия, Испания, 2017); 28-й Европейский конгресс по клинической микробиологии и инфекционным болезням (28th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases – ESCMID, Мадрид, Испания, 2018); Международная научно-практическая конференция «Молекулярная диагностика 2018» (Минск, Беларусь, 2018); всемирные

конференции Союза по здоровью легких (Union World Conference on Lung Health, Индия, Хайдарабад, 2019; онлайн – 2020); XI Ежегодный Всероссийский конгресс по инфекционным болезням (Москва, 2019); всероссийские конгрессы по медицинской микробиологии, клинической микологии и иммунологии, Кашкинские чтения (Санкт-Петербург, 2019, 2021, 2022); Молекулярная диагностика и биобезопасность (онлайн – 2020); Всемирный Микробиологический Форум (World Microbe Forum, онлайн – 2021); Международный конгресс Европейского респираторного общества (International Congress of the European Respiratory Society – ERS, онлайн – 2021); конгресс с международным участием «Молекулярная диагностика и биобезопасность – 2022» (Москва, 2022); XV Национальный конгресс болгарских микробиологов с международным участием (XV Congress of Microbiologists in Bulgaria with International Participation, Копривштица, Болгария, 2022).

## ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### 1.1. Туберкулез: общая характеристика

Туберкулез (ТБ) как инфекционную болезнь характеризуют высокая восприимчивость к нему человека, многообразие клинических проявлений, связанных с гранулематозным поражением различных органов, главным образом – дыхательной системы, хроническое и рецидивирующее течение при недостаточной эффективности лечения. Заболевание имеет преимущественно антропонозный характер с аспирационным механизмом передачи возбудителя – патогенных микобактерий туберкулезного комплекса (*Mycobacterium tuberculosis* complex), включающего несколько родственных видов [75]. Основным возбудителем ТБ человека являются микроорганизмы вида *Mycobacterium tuberculosis* (класс Actinobacteria, порядок Actinomycetales, семейство Mycobacteriaceae, род *Mycobacterium*).

*M. tuberculosis* – факультативно анаэробные, кислотоустойчивые, грамположительные бактерии палочковидной формы, медленно растущие на питательных средах (при посеве патологического материала образуют первичный рост лишь через 3–4 недели). Микобактерии туберкулеза обладают высокой устойчивостью к воздействию факторов внешней среды, длительно (месяцы и годы) сохраняя жизнеспособность и патогенность [67, 69].

Как правило, ТБ поражает легкие, реже затрагивая другие органы и системы (внелегочный туберкулез) человека. Поскольку возбудитель передаётся преимущественно воздушно-капельным (аэрозольным) путём, наиболее опасными резервуарами и источниками инфекции являются больные туберкулёзом лёгких (ТЛ) с наличием бактериовыделения и/или с деструктивными процессами в лёгочной ткани [67, 69]. Возможны также воздушно-пылевой, контактный, алиментарный механизмы передачи. У здоровых людей, инфицированных микобактериями туберкулёза, вероятность перехода заболевания в активную форму на протяжении жизни составляет 5–10%, причем у 50–80% зараженных – в течение первых двух лет. Активная форма заболевания при отсутствии лечения в 50% заканчивается летально [32].

Согласно Международной классификации болезней 10 пересмотра (МКБ-10), ТБ имеет коды А15 (ТБ органов дыхания, ТОД) – А19. Клиническая классификация ТБ в России по степени и локализации поражения различает следующие формы ТЛ: милиарный, очаговый, инфильтративный (ИТ), кавернозный (КТ) и фиброзно-кавернозный туберкулез (ФКТ), казеозная пневмония [68].

### 1.2. Туберкулез с множественной лекарственной устойчивостью возбудителя – глобальная проблема современности

По оценке ВОЗ в 2019 году туберкулезом заболели 10 миллионов, умерли около 1,4 миллиона человек, в том числе 208 000 с вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ). В число 30 стран мира с высоким бременем ТБ, на которые приходится 87% случаев заболевания, входит и Российская Федерация (РФ) [322]. Общеизвестно, что показатели заболеваемости и смертности от ТБ связаны с уровнем социального благополучия населения, развития системы здравоохранения и распространения ВИЧ-инфекции. В России эпидемия ВИЧ-инфекции неуклонно прогрессирует [5, 10, 42].

В развитых странах рост показателей заболеваемости и смертности от ТБ наблюдается за счёт иммигрантов из стран с неблагоприятной эпидемической ситуацией [175, 187].

Достижение амбициозной глобальной цели ВОЗ по ликвидации туберкулеза к 2030 году затрудняет циркуляция лекарственно-устойчивых (ЛУ) штаммов возбудителя [321].

С клинической точки зрения, различают первичную и приобретенную (вторичную) ЛУ *M. tuberculosis*. Первичную ЛУ выявляют у штаммов возбудителя, выделенных от больных ТБ, которые ранее не получали противотуберкулезные препараты (ПТП) или лечились менее 1 месяца (то есть были инфицированы уже резистентным штаммом *M. tuberculosis*).

Чем больше больных, выделяющих резистентные микобактерии туберкулеза, тем больше риск передачи устойчивых штаммов здоровым людям и появления новых случаев ТБ с первичной резистентностью возбудителя. Поэтому



показатель первичной ЛУ *M. tuberculosis* отражает не только общую ситуацию с выявлением и лечением ТБ, но и степень изоляции бактериовыделителей и санитарно-гигиенические аспекты профилактической работы, т.е. позволяет оценить степень напряженности эпидемической ситуации по туберкулезу.

Приобретенная (вторичная) ЛУ возбудителя регистрируется у больных, которые ранее получали противотуберкулезное лечение, причем в начале лечения выделяли чувствительные к ПТП микобактерии туберкулеза с развитием устойчивости через 3–6 месяцев. Вторичная ЛУ *M. tuberculosis* – объективный клинический критерий неэффективности проводимой химиотерапии [67, 68.].

Если на рубеже XX–XXI веков рост числа впервые выявленных больных с тяжелым прогрессирующим течением болезни был обусловлен ЛУ вариантами возбудителя, первое десятилетие нынешнего века характеризовала широкая циркуляция штаммов *M. tuberculosis*, обладающих множественной лекарственной устойчивостью – МЛУ (multiple drug-resistance, MDR) [71].

Согласно мировым данным, в 2019 году было зарегистрировано 206 030 больных ТБ с МЛУ возбудителя (МЛУ-ТБ)<sup>1</sup>, что на 10% больше, чем в 2018 г. При этом почти половина (47%) случаев МЛУ-ТБ выявлена в Индии, Китае и России (9%). Доля МЛУ-ТБ среди вновь выявленных больных составила 3,4%, среди ранее леченных – 18% (в странах бывшего Советского Союза – более 50%) [322].

В 2006 году впервые были зарегистрированы случаи заболевания ТБ с широкой лекарственной устойчивостью (ШЛУ-ТБ), вызываемого МЛУ-штаммами возбудителя с устойчивостью как минимум к одному из препаратов фторхинолонового ряда (левофлоксацин, офлоксацин, моксифлоксацин) и инъекционным препаратам второго ряда (амикацин, капреомицин, канамицин). Также был введен термин – «пре-широкая лекарственная устойчивость» (пре-ШЛУ) микобактерий туберкулеза – это МЛУ в сочетании с устойчивостью к фторхинолону или аминогликозиду/полипептиду (канамицин и/или амикацин

---

<sup>1</sup> или с устойчивостью к рифампицину (является общепринятым суррогатным маркером МЛУ) – РУ-ТБ

и/или капреомицин) независимо от наличия устойчивости к другим ПТП [66, 326].

В 2008 году ВОЗ объявила ШЛУ-ТБ серьезной проблемой здравоохранения в общемировом масштабе, особенно в странах с высокой распространенностью ВИЧ [319]. ШЛУ-ТБ формируется на фоне прерванного или безуспешного лечения больных МЛУ-ТБ, среди которых отмечается высокая летальность. Доля ШЛУ-ТБ среди больных МЛУ-ТБ в 2010 году составляла 5,4 %, в 2017 году – 8,5% [320]. В 2018 году в 81 стране было зарегистрировано 13 068 случаев ШЛУ-ТБ, причем 88% приходились на Европейский регион ВОЗ (7889) и регион Юго-Восточной Азии (3580). Пятью странами, которые сообщили о наибольшем количестве случаев ШЛУ-ТБ в 2018 году, были Беларусь, Индия, РФ, ЮАР и Украина [285, 324].

В России в 2019 году МЛУ-ТБ болели 31 390 (включая ШЛУ-ТБ – 5347) человек – 21,4% от общего числа больных или 32,9% от количества впервые выявленных больных ТБ [49]. Отмечено увеличение числа случаев первичного МЛУ-ТБ за счет пациентов с положительным ВИЧ-статусом [23]. Показана связь между первичной МЛУ возбудителя туберкулеза и наличием ВИЧ-инфекции у пациента [55].

МЛУ и ШЛУ-ТБ представляют собой серьезную угрозу здоровью населения, поскольку снижают эффективность лечения на 39% и 56%, соответственно, что приводит к прогрессированию туберкулезного процесса, стойкому бактериовыделению, нередко – летальному исходу [321]. Именно поэтому распространение МЛУ штаммов возбудителя в человеческой популяции представляет особую опасность с точки зрения эпидемиологии [157].

Недавно ВОЗ пересмотрела эффективность схем длительного (до 20 месяцев) лечения МЛУ-ТБ инъекционными препаратами (амикацин, капреомицин, канамицин), сопровождаемого большим количеством побочных эффектов и неудобств для пациентов, и рекомендовала новую ускоренную (9–11 месяцев) схему с использованием только пероральных препаратов [321].

К концу 2019 года 89 стран начали использовать ускоренные схемы лечения МЛУ-ТБ, а 109 стран в целях повышения эффективности лечения импортировали или стали применять новый пероральный противотуберкулезный препарат бедаквилин. В этой связи, в октябре 2020 года на совещании ВОЗ было изменено принятое в 2006 году определение ШЛУ-ТБ (пре-ШЛУ-ТБ), и дано новое, которое рекомендовано к использованию в клинических целях и для эпидемиологического надзора с января 2021 года [324]. Ниже приведены новые определения:

- пре-ШЛУ-ТБ – туберкулез, вызываемый штаммами *M. tuberculosis*, которые соответствуют определению МЛУ/РУ и устойчивы к любому из фторхинолонов (левофлоксацин и моксифлоксацин);

- ШЛУ-ТБ – туберкулез, вызываемый штаммами *M. tuberculosis*, которые соответствуют определению МЛУ/РУ и устойчивы к любому фторхинолону и по крайней мере к одному дополнительному препарату группы А (бедаквилин или линезолид).

### 1.3. Основные эпидемиологические показатели по туберкулезу

В России на протяжении десятилетия (2008–2019) наблюдается тенденция к снижению показателей заболеваемости, распространенности и смертности от ТБ: с 85,1 до 41,2, с 190,7 до 101,6 и с 17,9 до 5,1 на 100 000 населения соответственно (<https://last.mednet.ru/images/materials/СМТ/tuberkulez-2019.pdf>). На рисунке 1 на основе данных Национальной системы мониторинга туберкулеза (НСМТБ) представлены основные показатели по ТБ в восьми федеральных округах (ФО) РФ: Центральном (ЦФО), Северо-Западном (СЗФО), Южном (ЮФО), Северо-

Кавказском (СКФО) Приволжском (ПФО), Уральском (УФО), Сибирском (СФО) и Дальневосточном (ДВФО).

Общероссийские показатели по ТБ в 2018г. (на 100 тыс.):

заболеваемость 44,4  
распространенность 101,6  
смертность 5,9

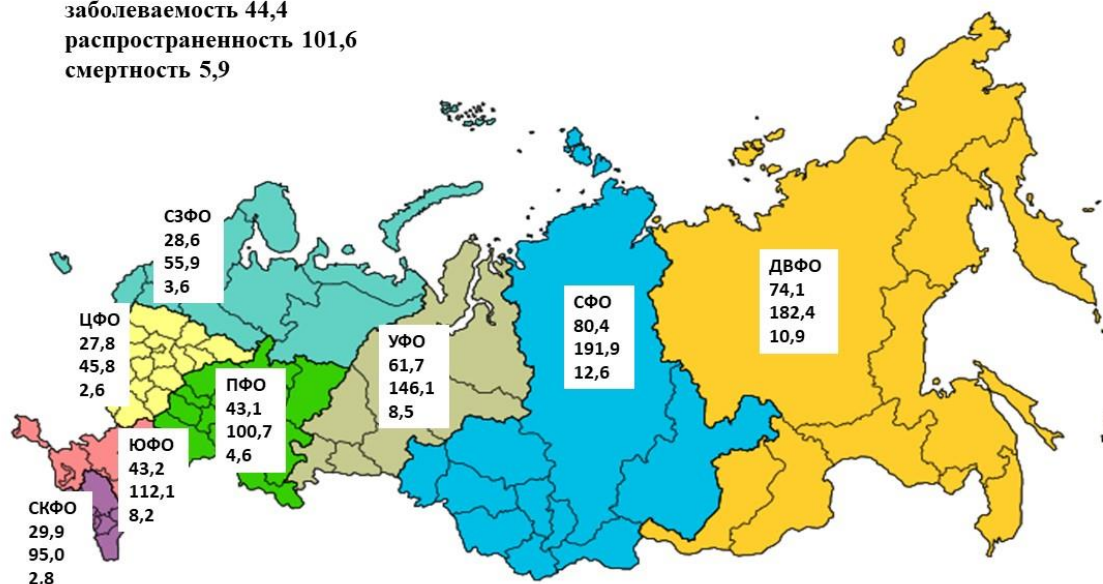


Рисунок 1 – Туберкулез в РФ (2018 год): заболеваемость, распространенность и смертность (на 100 тыс. населения) по данным НСМТБ (<https://last.mednet.ru/informatizatsiya/tsentr-monitoringa-tuberkuleza>)

Эпидемическая ситуация по ТБ в регионах зависит как от социальных, экономических, демографических, географических факторов, так и от особенностей организации и эффективности противотуберкулезных мероприятий. Заболеваемость ТБ постепенно растет по мере продвижения с запада на восток, причем самые высокие показатели отмечаются в азиатской части страны (УФО, СФО и ДВФО) (Рисунок 1).

На фоне снижения основных эпидемиологических показателей по ТБ увеличилась доля пациентов с ВИЧ-ассоциированным ТБ (ВИЧ/ТБ): если в 2009 году этот показатель среди впервые выявленных пациентов составлял 5,5%, то в 2018 году он вырос в четыре раза – до 23,1%. Риск заболеть туберкулезом у ВИЧ-инфицированных в 20–30 раз выше, чем у лиц с ВИЧ-отрицательным статусом. В ряде регионов России доля впервые выявленных пациентов с ВИЧ/ТБ достигала 44% [56]. Показатели заболеваемости и распространенности

туберкулеза в сочетании с ВИЧ-инфекцией на Северо-Западе России непрерывно увеличивались с 2007 по 2017 гг. [13] за исключением Калининградской области, где заболеваемость ТБ/ВИЧ значительно снизилась, имея отрицательный темп прироста (58,2%) [26]. Высокие темпы прироста заболеваемости и распространенности (465,0%) сочетанной патологии в этот период наблюдались в Новгородской области [26]. В 2018–2020 гг. эти показатели начали снижаться, однако, заболеваемость ТБ/ВИЧ среди постоянного населения Ленинградской области (7,3 на 100 тыс. населения) и Новгородской области (5,9 на 100 тыс. населения) в 2019 г. была выше, чем по СЗФО в целом (4,2 на 100 тыс. населения) [13].

В СЗФО, начиная с 2010 по 2019 гг., отмечено значительное снижение заболеваемости ТБ с 57,5 до 25,2 на 100 тыс. населения [16]. Как видно на рисунке 2, уровни заболеваемости ТБ по регионам СЗФО различались, но на всех территориях в 2019 году зарегистрировано снижение показателя по сравнению с 2010 годом.

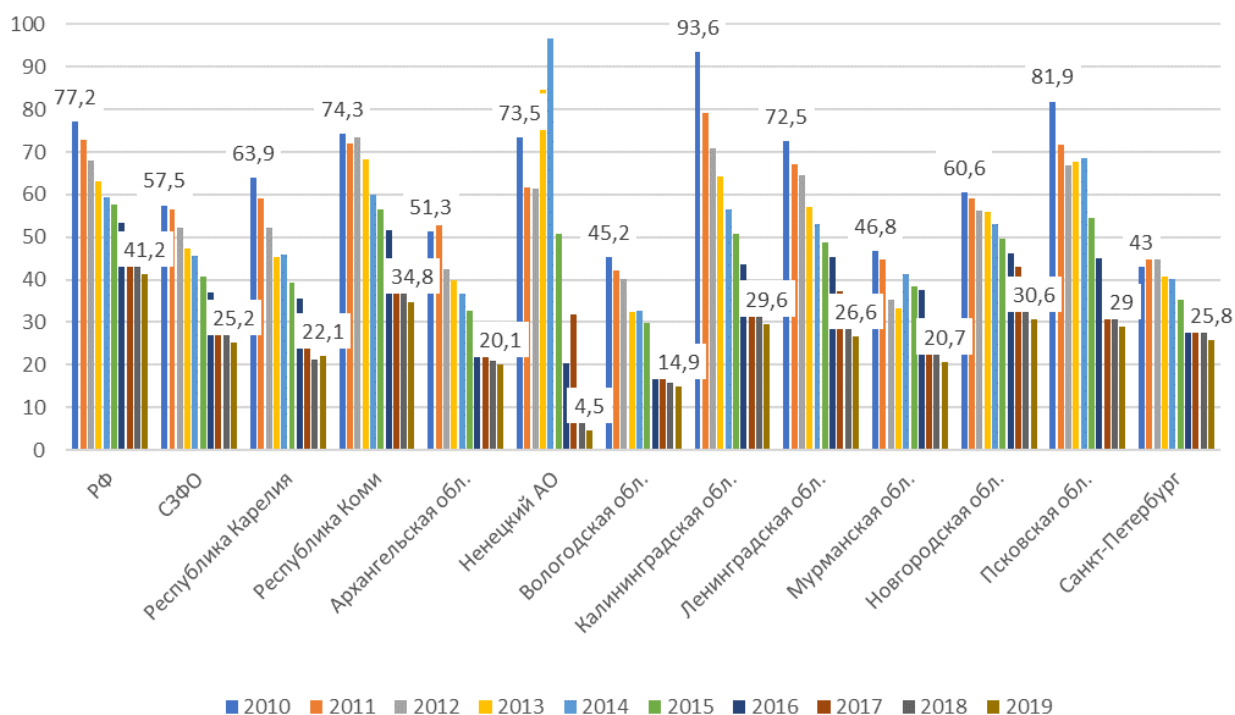


Рисунок 2 – Заболеваемость туберкулезом в субъектах СЗФО с 2010 по 2019 годы (на 100 тыс. населения) [16, с изменениями]

В 2019 году превышение среднего показателя заболеваемости ТБ по СЗФО – 25,2 на 100 тыс. населения – выявлено в Республике Коми, Калининградской, Ленинградской, Новгородской и Псковской областях. В период с 2010 по 2019 годы заболеваемость ТБ в Вологодской области оставалась наименьшей в СЗФО.

В России у впервые выявленных больных отмечено увеличение доли МЛУ-ТБ (в том числе, ШЛУ-ТБ) с 13,0% в 2009 году до 29,0% в 2018 году. Существенно пополнились контингенты бактериовыделителей (так называемое «бациллярное ядро») за счет пациентов с МЛУ/ШЛУ возбудителя (55,0% в 2018 году). Увеличивалась и доля больных МЛУ-ТБ органов дыхания (ТОД) среди бактериовыделителей (преимущественно впервые выявленные больные) с 26,5% в 2009 году до 54,0% в 2017 году и 56,7% в 2019 году, причем рост этого показателя наблюдали во всех федеральных округах РФ на протяжении всего десятилетия [15, 16]. По сравнению с РФ в СЗФО резервуар МЛУ-ТБ достоверно чаще пополнялся за счет впервые выявленных больных [16]. Следует учесть, что на эти показатели оказывает влияние повышение объемов и улучшение качества микробиологической и молекулярно-генетической диагностики.

В СЗФО доля больных ТОД с МЛУ возбудителя увеличилась с 43,3% в 2009 году до 60,8% в 2017 году, несмотря на незначительное относительное снижение в ряде регионов СЗФО [16] (Рисунок 3).

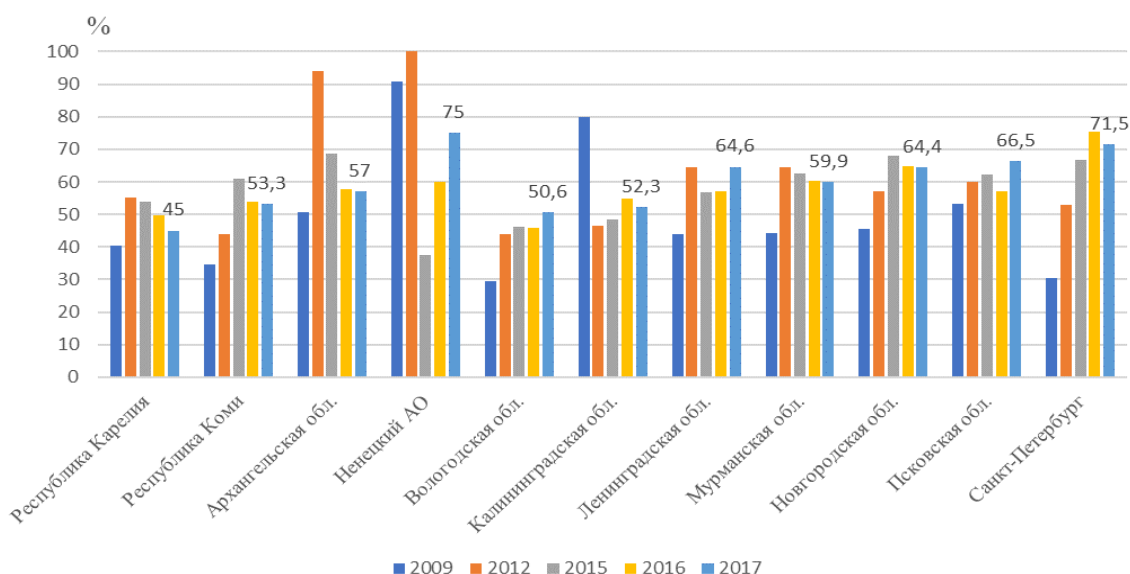


Рисунок 3 – Доля больных ТОД с МЛУ возбудителя в СЗФО [16]

#### 1.4. Молекулярно-генетическая характеристика и методы генотипирования *M. tuberculosis*

ДНК микобактерий туберкулеза характеризует высокое содержание гуанина и цитозина (65,6%) в отличие от многих видов патогенных бактерий [123].

Первая полная нуклеотидная последовательность ДНК лабораторного вирулентного штамма *M. tuberculosis* H37Rv (выделен в 1905 году от больного ТБ) была расшифрована в рамках совместного проекта Парижского Института Пастера и Института Сенгера (Англия) и опубликована в 1998 году [123]. На момент обращения (08.07.2021), в крупнейшей международной базе данных Национального центра биотехнологической информации (NCBI) США имеется информация о полногеномных последовательностях 6700 штаммов *M. tuberculosis* (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/browse#!/prokaryotes/166/>).

Согласно оригинальной аннотации геном *M. tuberculosis* H37Rv (GenBank accession no. AL123456.2), представленный кольцевой хромосомой, содержит 4411532 пар оснований и состоит из 3974 генов, кодирующих 3924 белка и 50 стабильных РНК [123]. Реаннотация в 2002 году добавила и изменила классификацию 643 кодирующих последовательностей (CDS), а также уточнила функцию 2058 (52%) из 3995 белков с предсказанной функцией; остальные гипотетические белки, не имеющие гомологии с известными протеинами других бактерий и могут рассматриваться в качестве специфических для *M. tuberculosis* [112]. В настоящее время в базе данных TubercuList (<http://tuberculist.epfl.ch/>) насчитывается 4173 CDS штамма H37Rv. Также, в геноме *M. tuberculosis* определены вариабельные некодирующие последовательности, среди которых наиболее изучены инсерционные элементы (Insertion Sequences, IS), полиморфный локус DR, содержащий прямые повторы (Direct Repeats, DR), и короткие тандемные повторы MIRU-VNTR (Mycobacterial Interspersed Repetitive Units – Variable Number of Tandem Repeats) [156, 176, 304]. Перечисленные генетические маркеры были выбраны в качестве мишеней при разработке классических методов генотипирования штаммов *M. tuberculosis*: IS6110-RFLP, сполиготипирование и MIRU-VNTR-типирование [191, 293, 295, 304].

Метод IS6110-RFLP (Insertion Sequence 6110 Restriction Fragment Length Polymorphism – полиморфизм длин фрагментов рестрикции IS6110), обладающий высокой дискриминирующей способностью, был первым стандартизированным методом эпидемиологического типирования микобактерий [304]. Данный метод генотипирования (фингерпринтинг) выявляет вариабельность штаммов *M. tuberculosis*, обусловленную различиями в числе копий инсерционного элемента IS6110 (размером 1355 пар нуклеотидов, п.н.) и их расположении на хромосоме бактерии. Метод основан на анализе количества и длин фрагментов хромосомной ДНК, рестрицированной с помощью фермента *Pvu II* в области IS6110 – уникального генетического маркера микобактерий туберкулезного комплекса. С помощью IS6110-RFLP-типирования удалось установить источники и пути передачи возбудителя, выявить кросс-контаминацию в лабораториях, дифференцировать случаи реактивации возбудителя и суперинфекции при рецидивах туберкулеза [12, 40, 116, 162, 167, 213, 250, 292, 302]. Однако метод мало информативен для штаммов с небольшим числом копий IS6110, трудоемок, технически сложен и требует оснащения лаборатории специальным оборудованием и программным обеспечением.

Более доступным и простым в исполнении является метод MIRU-VNTR-типирования, который позволяет дифференцировать штаммы *M. tuberculosis* на основе ПЦР-анализа полиморфизма хромосомных минисателлитных локусов MIRU и VNTR [293, 295]. Сначала для дифференции штаммов *M. tuberculosis* были использованы локусы VNTR [156, 294]. Развитие метода MIRU-VNTR-типирования происходило путем оценки дискриминирующей способности новых локусов, воспроизводимости и удобства интерпретации результата ПЦР. В настоящее время международный стандарт MIRU-VNTR-типирования рекомендует схему, включающую 24 локуса, представляющих так называемый полный «филогенетический» формат, с помощью которого была успешно продемонстрирована клональность популяционной структуры вида; 15 из 24 локусов входят в дискриминирующий «эпидемиологический» формат [88, 107, 256, 275, 293, 295].



Дополнительным преимуществом MIRU-VNTR-типирования является возможность дигитализации – представления результатов исследования в виде числового профиля (кода), где каждая цифра соответствует числу tandemных повторов в определенном локусе. Цифровые профили MIRU-VNTR штаммов *M. tuberculosis* удобно сравнивать, используя международные базы данных <http://www.miru-vntrplus.org/MIRU/index.faces> и [http://www.pasteur-guadeloupe.fr:8081/SITVIT\\_ONLINE/](http://www.pasteur-guadeloupe.fr:8081/SITVIT_ONLINE/) [88, 130, 315].

Метод сполиготипирования, (spoligotyping – spacer oligonucleotide typing), используемый для одновременной детекции и идентификации бактерий *M. tuberculosis* complex, основан на анализе полиморфизма 43 переменных нуклеотидных последовательностей (спейсеров), разделяющих короткие прямые повторы, линейно расположенные в DR-области хромосомы [176, 191]. Локус, считавшийся уникальным для микобактерий, относится к более широкой категории – CRISPR (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats) как было установлено позднее для многих видов бактерий и архей [95, 168, 171].

В классическом варианте сполиготипирования продукты ПЦР-амплификации DR области хромосомы исследуемых изолятов, меченные биотином, гибридизуют с 43 спейсерными последовательностями ДНК, нанесенными на специальную мембрану, которую затем экспонируют на светочувствительной пленке. По наличию или отсутствию в определенных участках пленки темных пятен (сигналов гибридизации) судят о присутствии у изолятов соответствующих спейсеров. Результаты сполиготипирования представляют с помощью бинарного кода в виде сочетания знаков, например, букв (n и o), где n – наличие спейсера (сигнала), o – отсутствие спейсера. Сполитографы можно сравнивать с имеющимися в общедоступной глобальной обновляемой международной базе данных SITVITWEB (<http://www.pasteur-guadeloupe.fr:8081/SITVIT2/>), которая содержит информацию о штаммах *M. tuberculosis* complex, выделенных в разных странах мира [130, 139]. Кодовое международное обозначение сполиготипа – SIT (Spoligotype International Type) используют для классифицированных

(отнесенных к генетическим семействам, линиям, сублиниям), ORPHAN – для неклассифицированных профилей сполиготипирования.

Альтернативная методика гибридизации ПЦР-продукта амплификации DR области исследуемых изолятов на биологическом микрочипе («СПОЛИГО-БИОЧИП»), ООО БИОЧИП-ИМБ предусматривает оценку результата с помощью универсального аппаратно-программного комплекса.

Сполиготипирование и MIRU-VNTR-типирование используются в эпидемиологических исследованиях для оценки однородности популяций *M. tuberculosis*, доказательства передачи в очагах, слежения за распространением штаммов возбудителя на территориях, анализа причин рецидива ТБ (эндогенная реактивация или экзогенная реинфекция) и перекрестного заражения культур микобактерий в лабораториях [110]. Однако из-за возможной гомоплазии в результате конвергентной эволюции локусов применение сполиготипирования и MIRU-VNTR-типирования при определении принадлежности штаммов к некоторым генетическим линиям/сублиниям требует дополнительных методов генотипирования [124, 192]. С практической точки зрения недостатком сполиготипирования является низкая дискриминирующая способность метода при изучении однородных по структуре DR-локуса штаммов *M. tuberculosis* генетического семейства Beijing, большинство которых принадлежат к сполиготипу SIT1 [100, 307].

В конце 90-х годов прошлого столетия сравнительный анализ нуклеотидных последовательностей эталонного штамма H37Rv и других штаммов *M. tuberculosis* показал незначительную вариабельность структурных генов [246, 289]. С появлением полногеномного секвенирования (WGS) [122, 149, 311, 327] были выявлены полиморфизмы нуклеотидных последовательностей штаммов за счет крупных делеций (LSP) и замены отдельных нуклеотидов (SNP), что позволило дифференцировать основные филогенетические линии и сублинии *M. tuberculosis* [177, 192, 224, 247].

Полиморфизмы SNP были выявлены преимущественно в CDS, причем 4699 были несинонимичными (nSNP) (т.е. приводили к изменению аминокислотных

последовательностей кодируемых белков) и 2564 – синонимичными (sSNP); 20 SNP обнаружены в некодирующих последовательностях *M. tuberculosis* [224]. Однонуклеотидные полиморфизмы имеют незначительный уровень гомоплазии и низкий уровень мутаций на поколение ( $\sim 10^{-8}$ ), поэтому именно они являются надежными филогенетическими маркерами эволюции *M. tuberculosis* [133, 206].

В настоящее время определены панели SNP для дифференциации генетических линий/сублиний, семейств (Beijing, LAM, Ural, Haarlem и S) и кластеров штаммов, а также мутаций, ведущих к формированию лекарственной устойчивости [81, 93, 98, 124, 151, 153, 160, 177, 178, 241, 301, 305, 314]. В результате недавно были предложены сначала 62-SNP-, затем 90-SNP-номенклатуры для обозначения девяти линий и 87 сублиний *M. tuberculosis* с помощью штрих-кода (баркода) [247]. Гибкость номенклатур позволяет легко обновлять баркод SNP, выделяя новые сублинии, в том числе с учетом полиморфизма генов лекарственной устойчивости [247].

Новые разработки в области технологий секвенирования следующего поколения (Next Generation Sequencing, NGS), позволяющие получить информацию о целом геноме, в том числе определить все маркеры, детектируемые классическими методами генотипирования, способствовали проведению масштабных исследований и созданию электронных баз данных для многочисленных коллекций штаммов *M. tuberculosis*, доступных онлайн, например, TubercuList ([tuberculist.epfl.ch](http://tuberculist.epfl.ch)), Genome-wide Mycobacterium tuberculosis Variation (GMTV) (<http://mtb.dobzhanskycenter.org>) (2819 изолятов), Pathosystems Resource Integration Center (PATRIC, [www.patricbrc.org](http://www.patricbrc.org)). PhyTB (<http://pathogenseq.lshtm.ac.uk/phytblive/index.php>) (1601 изолятов), «PhyResSE» Version 1.0 (<http://phyresse.org>), «TB Profiler» (<https://tldr.lshtm.ac.uk/>) (17239 изолятов) Resistance Sniffer (<http://resistance-sniffer.bi.up.ac.za/>) [243, 268]. Однако рутинное применение WGS до сих пор ограничено высокой стоимостью исследования и отсутствием общепринятых алгоритмов обработки результатов секвенирования, выполненного на разных платформах, что затрудняет последующее сравнение результатов и обмен данными [195].

### 1.5. Структура популяции *M. tuberculosis*: филогенетические линии, сублинии, генетические семейства, кластеры

В отсутствие доказанного горизонтального переноса генов *M. tuberculosis* считается строго клональным видом, подразделяемым на филогенетические линии/сублинии, генетические семейства и кластеры, которые различаются по своему географическому распределению и ассоциации с субпопуляциями человека, трансмиссивности (способности к передаче), вирулентности и лекарственной устойчивости штаммов, влиянию на иммунный ответ организма и клинический исход заболевания [30, 157, 160, 273].

Современные технологии WGS позволили выделить в глобальной популяции *M. tuberculosis* complex основные адаптированные к человеку линии: *M. tuberculosis* (L1-4, L7) и *M. africanum* (L5-6, L8-9) [129, 152, 160, 251].

Филогенетические линии подразделяют на две группы: древние (предковые) и современные [105]. Древними являются L1 – Восточно-Африканская Индийская (EAI); L5 и L6, которые в основном встречаются в Западной Африке [103, 117, 131, 138, 159, 258].

Современные линии характеризуются наличием общего предка и имеют делецию в области TbD1 (Tuberculosis Differentiation Region 1) хромосомы, где расположено значительное количество генов семейства мембранных белков микобактерий (mmpL -mycobacterial membrane protein large). Мембранные белки микобактерий участвуют в транспорте компонентов клеточной стенки, а также в вытеснении из клетки лекарственных препаратов (efflux pumps – эффлюкс-насосы) [188]. К группе относительно современных принадлежат следующие линии: L2 – Восточно-Азиатская (East-Asian), L3 – Центрально-Азиатская (CAS) и L4 – Евро-Американская (Euro American) [157] (Рисунок 4а).

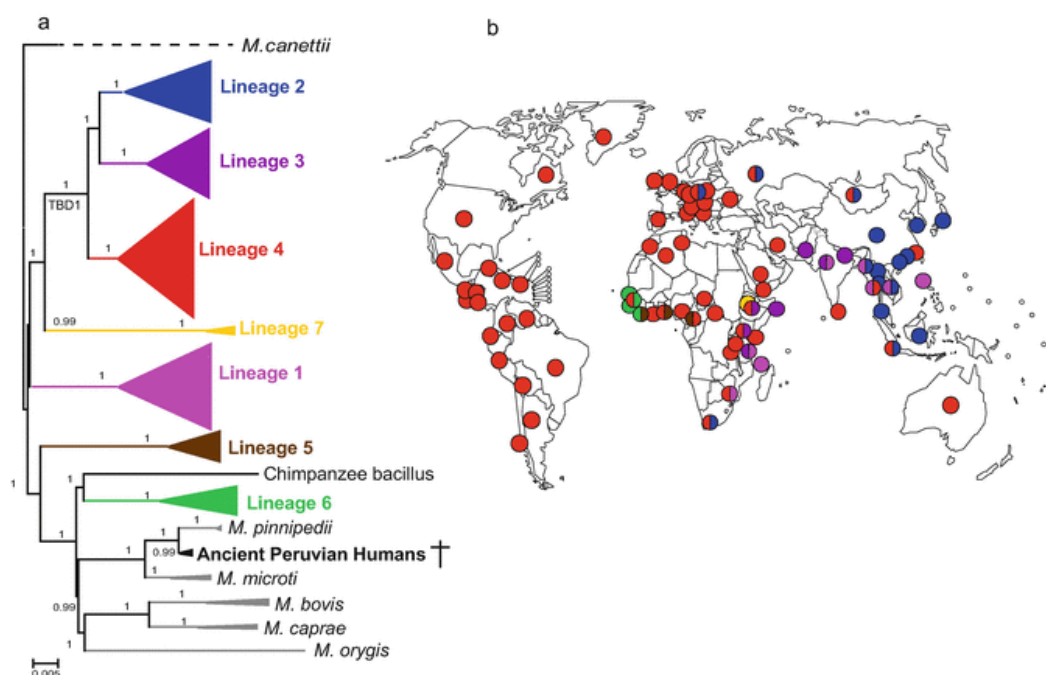


Рисунок 4 – Современная филогения вида *Mycobacterium tuberculosis* (a) и распространение основных линий в мире (b) [157]

Изоляты линии L7, обнаруженные в Эфиопии, имеют интактную область TbD1 согласно результатам секвенирования и на филогенетическом древе занимают положение между предковой линией L1 и современными линиями L2, 3 и 4 [152, 157, 158] (Рисунок 4а). Африка – единственный континент, где присутствуют все линии *M. tuberculosis* complex, что позволяет предположить их происхождение от общего предка с последующим распространением по всему миру в результате миграций человека (Рисунок 4b) [157].

Штаммы различных линий неоднородны по лекарственной устойчивости [114, 214, 332] и вирулентности [87, 166, 211]. Так, некоторые кластеры штаммов L2 и L4 характеризуются бóльшей вирулентностью, чем штаммы L5 и L6, с точки зрения тяжести заболевания и способности передачи от человека к человеку [118, 126].

В пределах L4 в настоящее время выделяют до 10 сублиний (Рисунок 5), ряд которых соответствует генетическим семействам, ранее определенным, в частности, методом сполиготипирования [139, 192], но различаются по вирулентности, трансмиссивности и географическому распределению [127, 128, 218, 291]. Так, три сублинии L4.1.2 /Haarlem, L4.3 /LAM и L4.10 /PGG3 были

выявлены практически на всех континентах, тогда как L4.1.3/Ghana, L4.6.1/Uganda и L4.6.2 /Cameroon обнаружены только в нескольких странах [104].

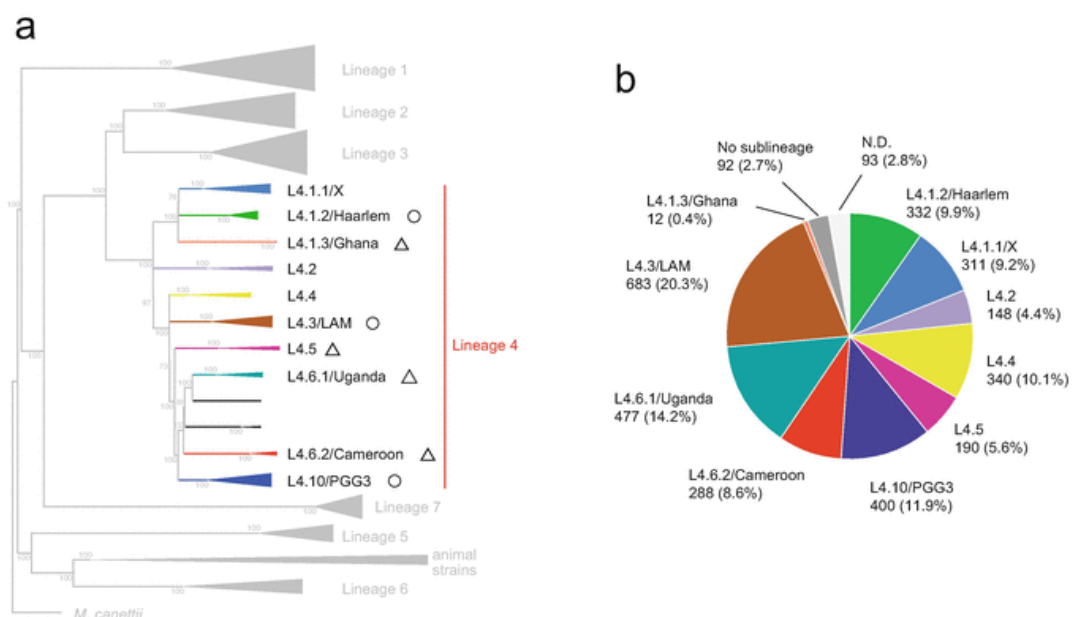


Рисунок 5 – Филогенетическая структура L4 (a) и доля его сублиний (b) [104]

Как видно из рисунка 5 (b), наибольшая доля принадлежит сублинии L4.3 генетического семейства Latin American-Mediterranean (LAM), представители которого считаются причиной около 15% случаев туберкулеза во всем мире. Впервые описанное в 2001 году, генетическое семейство LAM, включающее ряд сублиний/подсемейств LAM1 – LAM11, характеризует отсутствие спейсеров 21-24 и 33-36 в спוליгопрофиле штаммов [287]. Однако с учетом вероятности гомоплазии и конвергентной эволюции спוליгопрофилей были предложены другие маркеры [313], такие как SNP (замена G/A) в кодоне 103 гена *fbpC* (Rv0129c), кодирующего антиген Ag85C, и хромосомная вставка IS6110 в позиции 932204 [163]. Таким образом, сочетанное применение эволюционно надежных маркеров SNP и LSP подтвердило правомерность выделения семейства LAM и его сублиний [137, 145, 163, 177, 203].

Наиболее известной сублинией семейства LAM является RD-Rio. Штаммы *M. tuberculosis* этой сублинии, имеющие крупные хромосомные делеции RD174 и RD-Rio, были впервые выявлены в Бразилии (Рио-де-Жанейро), а в последующем – в Северной Америке и на других континентах [141, 163, 203, 300].

При этом штаммы LAM RD-Rio ассоциированы с МЛУ и отличаются повышенной трансмиссивностью [137, 141].

Сублиния LAM-RUS, впервые описанная в России, характеризуется делецией RD115 и специфической вставкой IS6110 в гене *plcA* [145]. Установлена принадлежность сполиготипов SIT252, 254, 264, 266, 506, 803 и др. к этой основной сублинии LAM в России и странах бывшего СССР [232, 234, 237].

Помимо семейства LAM (L4.3), Евро-Американская линия *M. tuberculosis* представлена генетическими семействами Haarlem (L4.1.2), Ural (L4.2.1), T (L4.1.2, L4.2.2, L4.3.3, L4.4.1, L4.5-L4.8), X (L4.1.1), S (L4.4.1) Ghana (L4.1.3), Uganda (L4.6.1) и Cameroon (L4.6.2) [247].

Семейство Haarlem характеризуется отсутствием спейсеров 31 и 33–36 в сполигопрофиле штаммов, впервые описанных в г. Хаарлем (Нидерланды) [150, 197]. В международной базе SITVIT2 преобладают сполигопрофили широко распространенных в Европе лекарственно-чувствительных штаммов Haarlem [130]. Однако в странах Карибского бассейна и в меньшей степени в Западной Азии принадлежность штаммов к семейству Haarlem ассоциирована с лекарственной устойчивостью возбудителя туберкулеза.

Длительное время к подсемейству Haarlem3/4 (Haarlem4 согласно SpolDB4.0 или Haarlem3 – SITVIT WEB) относили ныне самостоятельное генетическое семейство Ural, впервые дифференцированное в 2005 году методом MIRU-VNTR по 12 локусам при анализе штаммов *M. tuberculosis* из Уральского региона России [196]. Помимо России, штаммы Ural встречаются в Молдове, Турции, Кыргызстане, Украине, Абхазии, Казахстане, Грузии и Армении [108, 189, 238, 283].

Уникальной характеристикой штаммов *M. tuberculosis* Ural является наличие одного повтора в MIRU26 и большое количество (от 6 до 13) повторов в MIRU10 [196]. В дальнейшем анализ структуры локуса DR (CRISPR) методом сполиготипирования выявил характерный сполигопрофиль – отсутствие спейсеров 29–31 и 33–36, что соответствовало правилу определения подсемейства Haarlem4 в SpolDB4 [109, 238, 257]. Также относительно недавно

был описан специфический однонуклеотидный полиморфизм (G>A) в гене Rv1811 [177]. В обновленной международной базе SITVIT2 семейство Ural представлено 1008 изолятами [130].

Независимые группы исследователей, изучив общедоступные данные полногеномного секвенирования изолятов Ural, обнаружили в пределах генотипа филогенетическое разнообразие – клады (Clade) A, B и C [224, 257, 283]. При этом Clade C, в отличие от A и B, был ассоциирован с пре-ШЛУ и ШЛУ. В основном чувствительные к ПТП штаммы *M. tuberculosis* Clade A были представлены SIT35 и его производными, тогда как МЛУ-штаммы Clade B и C в подавляющем большинстве принадлежали SIT262 [257]. В другом исследовании филогенетический анализ штаммов Ural выявил два географических кластера (сублинии), включавших изоляты из Швеции и других стран [224].

В глобальной базе данных SITVIT2, где помимо генетической характеристики есть информация о фенотипической лекарственной чувствительности штаммов, семейства Ural и Haarlem представлены преимущественно ЛЧ штаммами [130]. Однако в разных частях Восточной Европы (Молдова, Литва, северо-западный регион России) отмечена циркуляция МЛУ-штаммов *M. tuberculosis* генотипа Ural [108, 135, 136, 235, 238].

Семейство T (L4.1.2, L4.2.2, L4.3.3, L4.4.1, L4.5-L4.8), широко представленное в Европе (35%), является самым гетерогенным и не рассматривается в качестве истинной филогенетической группы *M. tuberculosis* [8, 109, 239, 247]. Например, показано, что штаммы T, в частности наиболее распространенного сполиготипа SIT53 (преимущественно ЛЧ в России), по данным MIRU-VNTR-типирования имели гетерогенные профили и принадлежали к различным генетическим семействам [8, 64, 239]. К тому же, в отличие от других семейств, критерии определения принадлежности сполигопрофиля к семейству T, неоднозначны, что приводит к неверной классификации. Так, длительное время в международной базе сполиготипов SITVIT штаммы SIT254, SIT264, SIT266 и производных сполиготипов, выделенные в основном в России, относили к T5-RUS1. В Беларуси сполиготип



SIT266 ответственен почти за треть случаев МЛУ-ТБ [330]. В последующем применение эволюционно надежных маркеров и полногеномного анализа доказало принадлежность SIT254, SIT264, SIT266 к семейству LAM-RUS [130, 232]. В этой связи актуально предложение о пересмотре классификации T с учетом дополнительных маркеров, например, MIRU-VNTR и др. [239].

В настоящее время в обновленной базе SITVIT2 на основании различий в одном из 43 спейсеров в каноническом профиле SIT53 и с учетом географического распространения штаммов выделены субклады T (T1-T5, T1-RUS2/SIT280,1103,1123,1173 T3-OSA (Osaka)/SIT627, T3-ETH (Ethiopia)/SIT149, T5-Madrid2/SIT58 и др.) и более 600 неклассифицированных.

Наиболее известным представителем Восточно-Азиатской линии (L2) является генетическое семейство Beijing (L2.2). Специфическим маркером данного генотипа является делеция RD207, что отличает его от сублинии L2.1 «Proto-Beijing», которая имеет интактный RD207, указывающий на более древнее происхождение, и встречается в основном на юге Китая [212, 281].

Штаммы Beijing *M. tuberculosis* со сходными IS6110-RFLP паттернами и уникальным спוליгопрофилем (наличием в DR локусе 9 из 43 классических спейсеров – с 35 по 43) впервые были описаны в 90-х годах прошлого столетия в столице Китая – Пекине (англ. Beijing) [307]. Штаммы этого генотипа, именованные «W», были выявлены в Нью-Йорке, при расследовании вспышки ЛУ-ТБ [101]. Позже стало очевидно, что штаммы W являются сублинией семейства Beijing, и эти наименования были объединены в W/Beijing или просто Beijing [101, 165, 201, 262]. В дальнейших исследованиях штаммы генетического семейства Beijing были выявлены в странах Восточной Азии (Японии, Вьетнаме, Монголии, Индонезии и др.), России и странах бывшего СССР [3, 4, 38, 39, 40, 47, 132, 161, 164, 180, 198, 227, 261, 266, 298, 312].

Согласно одной из гипотез, первичное массовое проникновение *M. tuberculosis* генотипа Beijing в Россию произошло в конце XIX – начале XX веков в процессе экспансии Российской империи на Дальний Восток, что не исключает последующего «заноса» и укоренения штаммов семейства Beijing в

СССР вследствие значительного усиления миграционных процессов в приграничной полосе Китайско-Восточной железной дороги (КВЖД) в 1920-х годах. Исследователи рассматривают несколько условных этапов проникновения штаммов Beijing в СССР: первичное накопление среди русскоязычного населения в эндемичном для данного генотипа регионе (Китай); вторичное накопление штаммов в рамках пенитенциарной системы (ГУЛАГ) СССР; дальнейшее широкое распространение и укоренение генотипа Beijing в гражданском обществе с 50-х годов прошлого века до сегодняшних дней [60, 61].

В современных условиях штаммы генотипа Beijing встречаются на всех континентах, но наиболее распространены в Азии и Европе [165, 221, 307]. В странах с высоким бременем туберкулеза штаммы Beijing характеризуются ЛУ, в т.ч. первичной МЛУ [120, 165, 193]. Более высокую адаптационную способность и устойчивость к ПТП штаммов Beijing по сравнению с другими связывают с высокой частотой геномных мутаций *in vitro* и *in vivo* [155, 172].

Генотип Beijing (L2.2) разделяют на филогенетические сублинии – атипичные (древние, ancient) и типичные (современные, modern) – на основе делеции RD181, SNP в генах *mutT2* и *mutT4*, полиморфизма в локусе NTF [147, 201, 236, 300, 301, 329] (Рисунок 6).

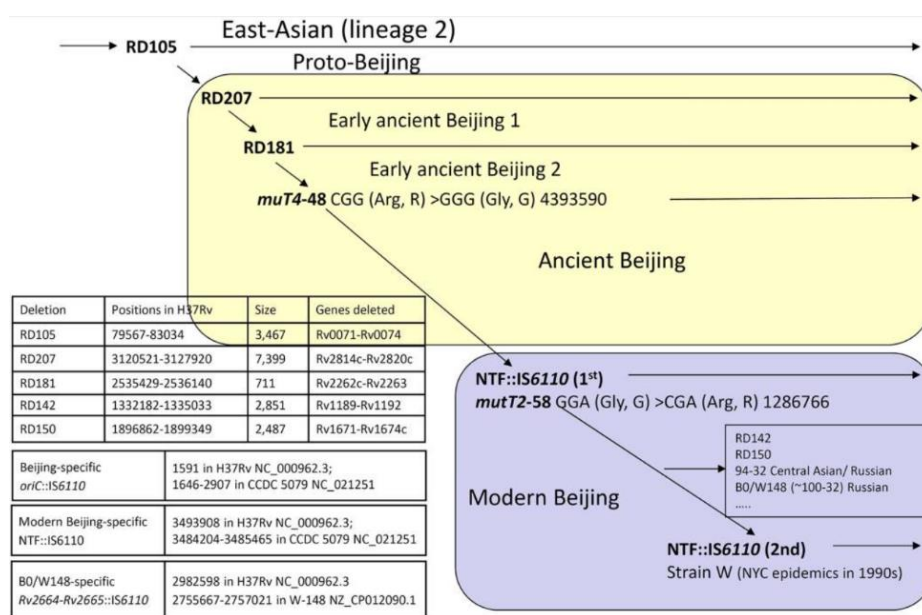


Рисунок 6 – Филогенетические группы генотипа Beijing [329]

Как видно на рисунке 6, маркерами типичных (современных) штаммов *M. tuberculosis* Beijing являются: делеция RD150 и/или RD142, а также наличие элемента IS6110 в области NTF [268]. Среди современных штаммов Beijing наиболее известны в России два кластера – B0/W148 (CC2 или кластер 100-32, он же MIT17, согласно номенклатуре глобальной базы данных SITVIT по 12 локусам MIRU) и Central Asian (CC1, кластер 94-32, MIT16) [88, 109, 221]. Их базовые профили MIRU-VNTR<sub>24</sub> различаются по локусам MIRU26 и QUB26 (7 и 7 повторов для 100–32; 5 и 8 повторов для 94–32).

Штаммы современной сублинии Beijing убиквитарны; штаммы древней сублинии преобладают в Корее [280] и Японии [312], реже встречаются в Китае [212, 236], Вьетнаме [204, 215, 216] и редко в других странах. Например, в России, где генотип Beijing составляет от 35 до 72% общей популяции *M. tuberculosis*, древние штаммы («atypical») были обнаружены в 4% популяции Beijing (1996–2001 гг.) на северо-западе России [229, 236]. Отмечены нарастание циркуляции современных штаммов среди молодого населения в Японии [186] и увеличенная кластеризация (косвенный маркер трансмиссивности) как среди древних, так и современных штаммов Beijing по сравнению со штаммами других (не-Beijing) генотипов – во Вьетнаме [216]. Генотип Beijing *M. tuberculosis* ассоциирован с недостаточной эффективностью лечения и рецидивами заболевания, что, по-видимому, связано с повышенной способностью штаммов возбудителя приобретать лекарственную устойчивость [261]. В экспериментах на мышах вирулентные штаммы Beijing показали более высокую бактериальную нагрузку, обширное повреждение легких и более раннюю гибель животных по сравнению со штаммами других линий. Штаммы Beijing обладают повышенной способностью ингибировать защитный иммунитет в легких путем индукции более высоких уровней интерферонов типа I, что приводит к снижению уровня ряда провоспалительных цитокинов, снижая активацию Т-клеток [242].

Дифференциация сублиний и кластеров *M. tuberculosis* Beijing является не только вопросом классификации, но имеет клиническое и эпидемиологическое значение. Так, во Вьетнаме устойчивость к изониазиду и стрептомицину чаще

наблюдали у штаммов Beijing древней сублинии [216]. В России недавно был выявлен кластер 1071-32 RD181(-) (SIT1), отнесенный к древней сублинии, суммарная доля которого была относительно высокой (14,3%) в популяции штаммов Beijing, ассоциированных с МЛУ/ШЛУ в Западной Сибири [51].

Впервые штаммы *M. tuberculosis*, обладавшие специфическим паттерном рестрикции *PvuII* (17 копий элемента IS6110), были выявлены методом IS6110-RFLP и обозначены «B0» в 1996 г. на Северо-Западе России, затем и в других регионах РФ [38, 39, 143, 231, 249]. Профили IS6110-RFLP, идентичные B0, были определены также у МЛУ-штаммов *M. tuberculosis*, выделенных в Сибири в 1998–2000 годах, в США (известен как W148 согласно базе данных PHRI, NJ, USA), в Германии, что свидетельствует о высокой трансмиссивности этого варианта Beijing [100, 200]. Штаммы Beijing, имеющие профиль B0 (W148) и подобные ему профили IS6110-RFLP, содержащие характерные фрагменты рестрикции *PvuII* с молекулярной массой 7100 и 9200 пар нуклеотидов (п.н) (Рисунок 7), были причислены к эпидемиологически и клинически значимому международному кластеру B0/W148 [99, 231].

Анализ накопленной геномной и протеомной информации прояснил некоторые особенности метаболизма жирных кислот и биосинтеза липидов клеточной стенки (факторы вирулентности *M. tuberculosis*), объясняющие успешную выживаемость штаммов Beijing B0/W148 в макрофагах на начальных этапах инфекции и в дальнейшем под действием селективного отбора в макроорганизме, в частности, во время лекарственной терапии [7]. Сравнительная геномика выявила полиморфизмы и перестройки сегментов хромосомы, отчасти объясняющие успешность представителей кластера Beijing B0/W148 [99].

В независимых исследованиях зарубежные авторы неоднократно «переоткрывали» кластер B0/W148, присваивая ему новые наименования: сублиния East-European, резистентный кластер European, кластер East European 2, клональный комплекс CC2 и т.д. (Рисунок 7) [221, 329].

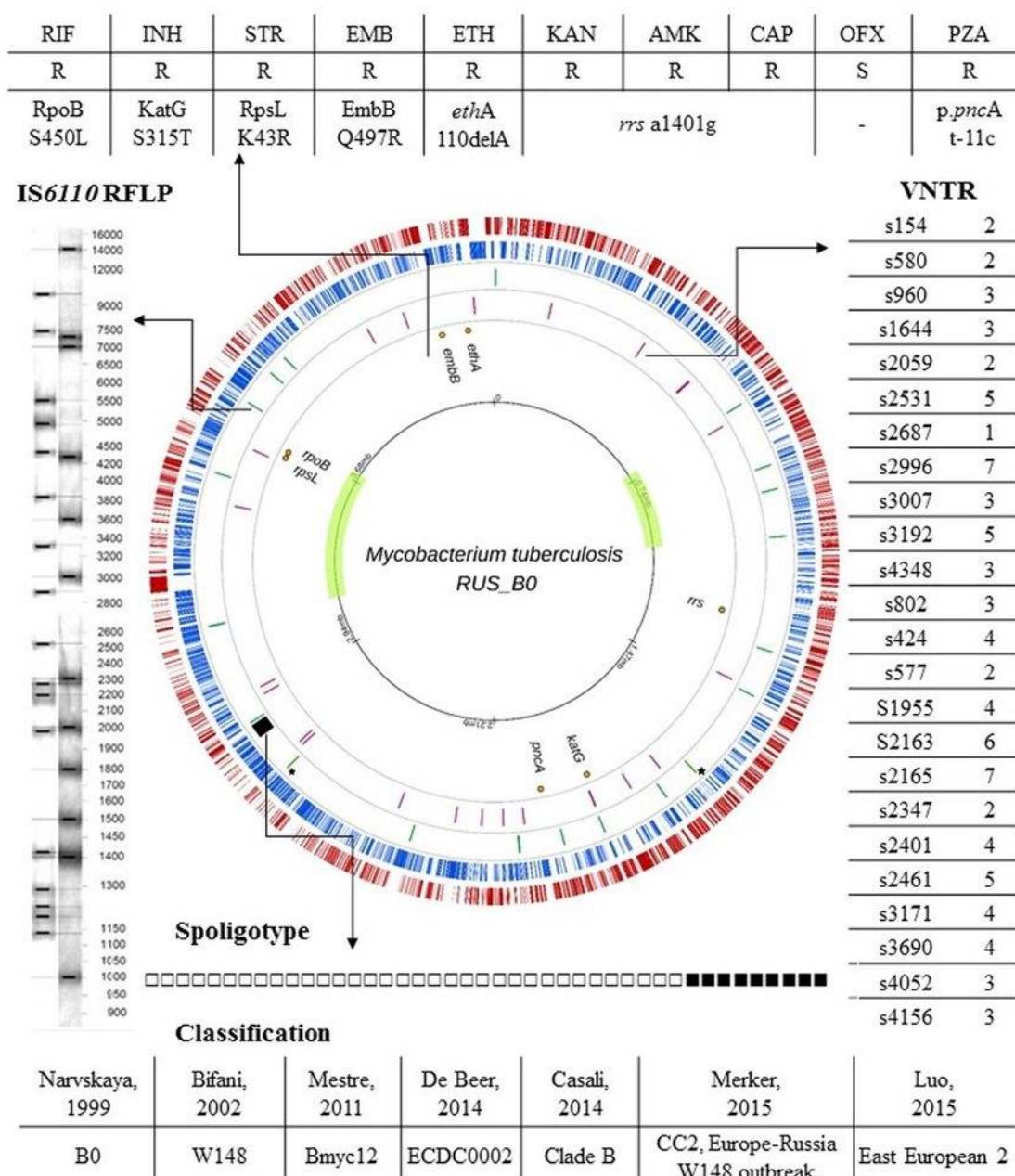


Рисунок 7 – Карта штамма *M. tuberculosis* Beijing (кластер B0/W148) [99]

Примечание: два внешних кольца показывают кодирующие последовательности плюс (красный) и минус (синий) цепей ДНК; третье кольцо изображает locus CRISPR (черный) и сайты интеграции IS6110 (зеленый); четвертое кольцо показывает позиции локусов MIRU-VNTR<sub>24</sub>; пятое кольцо показывает гены устойчивости к ПТП; шестое кольцо показывает шкалу в геноме с инвертированными областями по отношению к геному *M. tuberculosis* H37Rv

Полная последовательность генома одного из штаммов кластера B0/W148 *M. tuberculosis*, опубликованная в 2011 году (штамм W-148; GenBank № ACSX00000000.1), позволила выбрать молекулярные маркеры для экспресс-диагностики этого варианта. Так, в качестве мишени для обнаружения кластера B0/W148 в мультиплексной ПЦР была предложена вставка Rv2664-

Rv2665::IS6110. Этот метод оказался чувствительным и специфичным и был рекомендован для простого и надежного выявления изолятов *M. tuberculosis* в районах эпидемического распространения кластера B0/W148 (Россия, страны бывшего Советского Союза).

В дальнейшем, по мере накопления данных полногеномного секвенирования было выявлено и описано 59 полиморфизмов, специфичных для кластера B0/W148 [221]. Среди них – делеция в гене *kdpD* (с.2541\_2542delCA), мутация, ассоциированная с вирулентностью [81, 221], которая послужила основой для разработки еще одного способа выявления кластера B0/W148 методом ПЦР [52, 72, 53].

Штаммы кластера B0/W148, ассоциированные с МЛУ-ТБ, повсеместно выявляют в России, но самые высокие показатели распространенности и гетерогенность этого кластера описаны в Новосибирске и Республике Тыва. В этой связи было выдвинуто предположение о происхождении и первичном распространении штаммов кластера B0/W148 из Западной Сибири в Европейскую часть России вследствие массового оттока населения в 1960–1980-е годы [231]. При этом отмечена способность штаммов кластера B0/W148 к быстрому формированию ЛУ к современным ПТП [48, 222].

Таким образом, за два десятилетия XXI века сформировалось представление о клинической и эпидемиологической значимости международного кластера B0/W148 [39, 221, 231].

Другой крупный кластер, Central Asian (именуемый, также, CC1 или East Europe 1), предположительно имеет происхождение из северо-западных регионов Китая [212, 221, 329]. Для штаммов кластера Central Asian наиболее характерны: профиль 94-32 по номенклатуре MLVA MtbC 15-9 (<https://www.miru-vntrplus.org>), MIT16 (по 12 локусам MIRU, SITVIT2) и профиль A0, согласно IS6110-RFLP-типированию. Кластер 94-32 ассоциирован с МЛУ(ШЛУ)-ТБ в Казахстане, Узбекистане; штаммы этого кластера также выявляют у иммигрантов из стран бывшего СССР в странах Европейского Союза, например, в Греции и Испании [181, 194, 265].

Гетерогенный кластер Central Asian включает распространенный в Средней Азии ассоциированный с устойчивостью к ПТП эпидемиологически значимый субтип CAO (англ., Central Asia Outbreak — Центрально-Азиатская вспышка) [220, 234].

Резюмируя, следует отметить, что в связи с глобальной распространенностью штаммов гетерогенной популяции Beijing (L2.2), а также совершенствованием технологий генотипирования *M. tuberculosis* с использованием различных молекулярных маркеров (IS6110, RD, VNTR, SNP), ведущими научными группами было предложено по меньшей мере восемь схем классификации Восточно-Азиатской линии (L2) [147, 160, 212, 223, 236, 301]. С учетом разнообразия номенклатур, объединив имеющиеся данные, Шитиков Е. и соавт. (2017) представили единую классификацию и эволюционный путь L2 [281] (Рисунок 8).

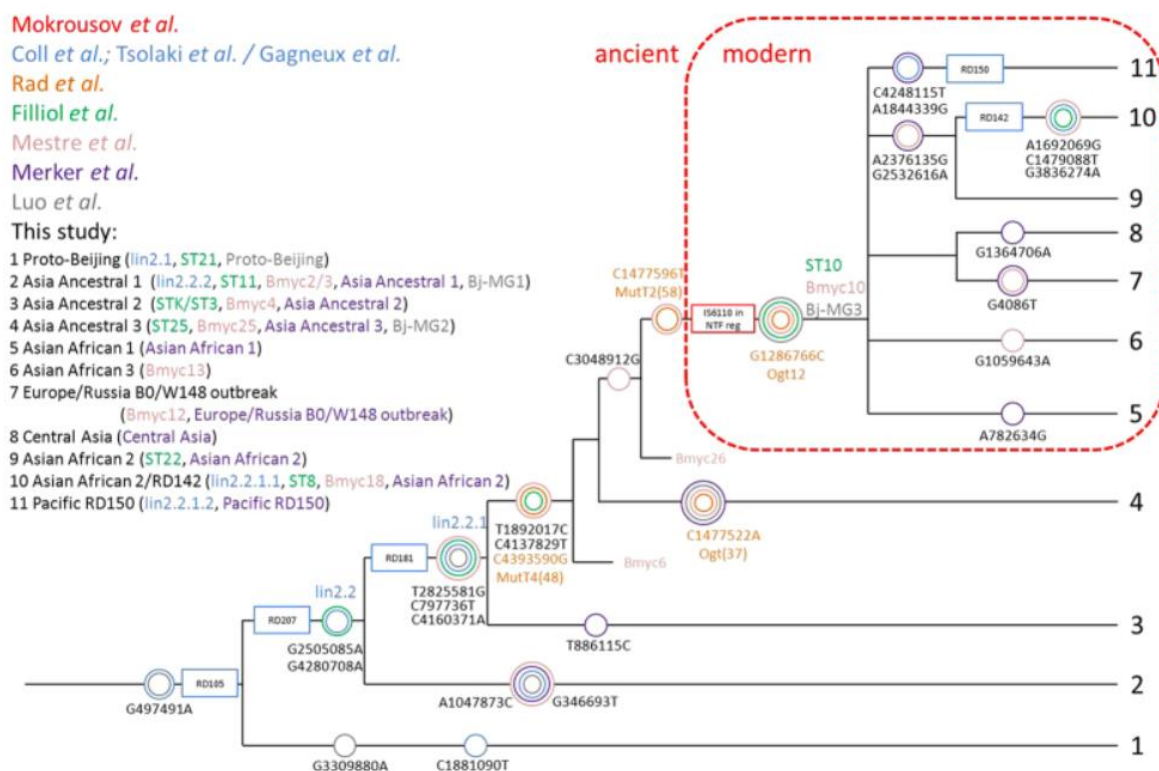


Рисунок 8 – Дендрограмма, отображающая основные филогенетические группы Beijing и их генетические маркеры [281]



Не вызывает сомнения, что в результате адаптивной коэволюции с популяциями *Homo sapiens* штаммы *M. tuberculosis* различаются по патогенному потенциалу, клинической и эпидемиологической значимости [144, 157, 159]. Поэтому оценка генетического разнообразия *M. tuberculosis* в каждом регионе является ключевым фактором при выборе эффективных мер контроля передачи возбудителя и схем лечения больных туберкулезом.

### 1.6. Молекулярно-генетическая характеристика и особенности популяции *M. tuberculosis* в России

Молекулярно-эпидемиологические исследования возбудителя туберкулеза в России и странах бывшего СССР начали проводить в конце 90-х годов прошлого столетия преимущественно с использованием IS6110-RFLP-типирования (наиболее информативного из доступных в то время методов) и спוליготипирования; и уже тогда на отдельных территориях была показана гетерогенность популяции *M. tuberculosis* и доминирование профилей IS6110, характерных для штаммов Beijing [38, 76, 78, 199, 266, 299].

Первое масштабное молекулярно-генетическое исследование популяции *M. tuberculosis*, проведенное в 1996–2002 гг. на Северо-Западе России, выявило превалентность (53,9%) штаммов генотипа Beijing с доминирующими паттернами A0 и B0 IS6110-RFLP. Были отмечены высокая способность к передаче и клинико-эпидемиологическая значимость штаммов кластера B0 Beijing, более половины (62,0%) которых обладали первичной МЛУ [38, 39].

В последнее десятилетие с использованием классических методов генотипирования (IS6110-RFLP, спוליготипирования, MIRU-VNTR-типирования) и технологий WGS было подтверждено доминирование на территориях России штаммов *M. tuberculosis* генетического семейства Beijing (сублиния L2.2 Восточно-Азиатской филогенетической линии L2), выявлены основные кластеры и предложены варианты их номенклатуры (Таблица 2).



Таблица 2 – Номенклатура основных кластеров Beijing

Генетические маркеры	Кластер Beijing		Ссылка
	Central Asian	B0/W148	
IS6110	A0	B0	[40]
MIRU <sub>12</sub>	M2 / MIT16	M11 / MIT17	[235], SITVIT WEB
MIRU-VNTR <sub>24</sub>	94-32	100-32	[88], MIRU-VNTR <i>plus</i>
SNPs	CC1	CC2	[221]

Сравнительный анализ данных, полученных при исследовании популяций *M. tuberculosis* в разных регионах страны в разные годы, затрудняется использованием различных методов генотипирования *M. tuberculosis* и ограниченных, в большинстве исследований доступных (англ. conventional), выборок штаммов, выделенных от разных групп больных ТБ (впервые выявленных, ранее леченных, ВИЧ-позитивных, представляющих гражданское население или заключенных и др.). В качестве иллюстрации в таблице 3 приведены опубликованные сведения из литературы о распространенности штаммов генотипа Beijing *M. tuberculosis* среди больных ТБ в регионах России. Однако эти данные не подлежат корректному сравнению, даже если они получены с помощью одного и того же метода генотипирования, но на несопоставимых выборках штаммов. Так, выявление высоких, как ни в одном из других регионов РФ, долей генотипа Beijing в московской (81%) и пермской (92%) популяциях *M. tuberculosis*, очевидно, связано с тем, что авторами были изучены смещенные выборки – только МЛУ-штаммы [70] или штаммы только ВИЧ-позитивных пациентов [37]. Напротив, сопоставимые выборки позволяют сравнить результаты генотипирования штаммов, выделенных от отдельных групп больных, например, ВИЧ-позитивных [29, 77] или ранее не леченных ПТП на территориях (Москва, Уральский регион, Самара) [64, 86, 142].

Таблица 3 – Распространенность штаммов *M. tuberculosis* генотипа Beijing в регионах России

Регион	Годы выделения штаммов	Метод	Число штаммов всего/ВВ <sup>1</sup> /МЛУ <sup>2</sup>	Доля штаммов Beijing/Beijing ВВ, %	Доля Beijing среди МЛУ-штаммов, %	Кластеры Beijing <sup>3</sup>	Ссылка
Северо-Западный							
Санкт-Петербург, Псковская обл., Ленинградская обл., Новгородская обл.	1996–2001	spoligotyping, IS6110-RFLP	293/148/166	53,9/51,3	61,4 (102/166)	B0, A0	[39]
Санкт-Петербург	2007–2008	spoligotyping	30/нд/нд 56 (ВИЧ+)/нд/нд	60,0/нд 77,0/нд	нд	нд	[77]
Архангельская обл.	1998–1999	spoligotyping, IS6110-RFLP	119/89/30	44,5/40,4	76,7 (23/30)	B0, A0 <sup>4</sup>	[299]
Мурманская обл.	2003–2004	spoligotyping, IS6110-RFLP	439/439/114	44,0/44,0	79,8 (91/114)	B0, A0 <sup>4</sup>	[217]
Респ. Карелия	2002–2007	IS6110-RFLP	119/119/54	56,3/56,3	92,5 (50/54)	B0, A0 <sup>4</sup>	[33]
Архангельская обл., Мурманская обл., Респ. Карелия, Респ. Коми	2004–2006	spoligotyping, IS6110-RFLP	70/70/30 36/36/9 39/39/11 31/31/5	57,1/57,1 47,2/47,2 33,4/33,4 41,9/41,9	нд	B0, A0 <sup>4</sup>	[94]
Калининградская обл.	2006	spoligotyping, MIRU <sub>12</sub>	90/77/30	45,6/40,3	93,3 (28/30)	M11 (MIT17) M2 (MIT16)	[227]
Центральный							
Тула, Тульская обл., Калуга	1998–2001 2001	spoligotyping, IS6110-RFLP, VNTR <sub>ETR</sub>	233/нд/нд 57/нд/52	30,8/нд 45,6/нд	50,0 (26/52)	B0, A0 <sup>4</sup>	[80]
Тула	2001–2002	spoligotyping, IS6110-RFLP, MIRU-VNTR <sub>24+11</sub> <sup>5</sup>	291/нд/нд	33,7/нд	нд	нд	[8]

## продолжение таблицы 3

Регион	Годы выделения штаммов	Метод	Число штаммов всего/ВВ <sup>1</sup> /МЛУ <sup>2</sup>	Доля штаммов Beijing/Beijing ВВ, %	Доля Beijing среди МЛУ-штаммов, %	Кластеры Beijing <sup>3</sup>	Ссылка
Москва	2005–2006	spoligotyping, MIRU-VNTR <sub>24</sub>	115/80/76	66,1/60,0	77,6 (59/76)	100-32, 94-32	[86]
	2013	spoligotyping, MIRU-VNTR <sub>24</sub>	64/нд/35 46/нд/нд	70,3/нд 60,9/нд	нд	100-32, 94-32	[83]
	2014	spoligotyping	274/нд/274	81,0/нд	81,0 (222/274)	нд	[70]
Москва, Московская обл.	2017–2018	spoligotyping	95/нд/22	53,7/нд	90,9 (20/22)	нд	[1]
Белгородская обл.	2016	spoligotyping	190/нд/нд	50/27	61,1 (нд/нд)	нд	[44]
Приволжский							
Нижегородская обл.	1999–2001	IS6110-RFLP, VNTR <sub>ETR</sub>	71/нд/43	56,3/нд	58,1 (25/43)	B0, A0 <sup>4</sup>	[80]
Самарская обл.	2001–2002	spoligotyping, MIRU <sub>12</sub>	880/182/271	66,6/нд	79,7 (216/271)	MIT17, MIT16	[142]
	2008–2009	spoligotyping, MIRU-VNTR <sub>9,17</sub> <sup>5</sup>	1304/807/630	71,2/68,4	80,4 (541/630)	нд	[30]
Саратов	2014–2017	spoligotyping	310/310/нд	38,7/38,7 <sup>6</sup>	нд	нд	[59]
Пермский край	2010–2015	ПЦР <sub>RD 105,207,B0/W148</sub> <sup>7</sup>	64 (ВИЧ+)/нд/51	92,2/нд	нд	B0/W148	[37]
Респ. Марий Эл	2017–2018	ПЦР <sub>Амплитуб-Beijing</sub>	186/нд/128	82,8/нд	85,9 (110/128)	нд	[54]
Уральский							
Уральский регион	2001–2002	MIRU-NTR <sub>12+9</sub> <sup>5</sup> ПЦР <sub>Beijing</sub> <sup>7</sup>	92/34/23	54,3/нд	82,6 (19/23)	нд	[196]
Свердловская обл.	2012–2013	spoligotyping	166/166/52	59,8/59,8	нд	нд	[50]

## продолжение таблицы 3

Регион	Годы выделения штаммов	Метод	Число штаммов всего/ВВ <sup>1</sup> /МЛУ <sup>2</sup>	Доля штаммов Beijing/Beijing ВВ, %	Доля Beijing среди МЛУ-штаммов, %	Кластеры Beijing <sup>3</sup>	Ссылка
Екатеринбург, Свердловская обл.	2009–2011	spoligotyping, IS6110-RFLP, MIRU-VNTR <sub>15+3</sub> <sup>5</sup> ПЦР Амплигуб-Beijing	256/178/122	62,9/55,1	81,1 (99/122)	B0, A0	[64]
Свердловская обл., Новоуральск	2013–2018	spoligotyping, ПЦР B0/W148, 94-32 <sup>7</sup>	109/66/нд	78,9/75,8	нд	B0/W148, 94-32	[65]
Ханты-Мансийский АО, Югра	2011–2012	spoligotyping	253/нд/нд	70,0/нд	нд	нд	[57]
Ямало-Ненецкий АО	2018	spoligotyping, ПЦР B0/W148 <sup>7</sup>	141/141/98	71,6/71,6	82,7 (81/98)	B0/W148	[63]
Сибирский							
Респ. Тыва	2002	spoligotyping, IS6110-RFLP	71/нд/нд	50,0/нд	нд	нд	[35]
Иркутская обл.	2000–2002	spoligotyping, MIRU <sub>12</sub>	82/нд/нд	61,0/нд	нд	нд	[47]
	2004–2005		82/нд/нд	43,0/нд			
	2008–2010	MIRU <sub>12</sub>	105/105/25	67,0/67,0	нд	MIT17, MIT16	[337]
	2010–2011	MIRU <sub>12</sub> , ПЦР RD 207 <sup>7</sup>	140/105/48	72,0/67,0	87,5 (42/48)	M2, M11	[31]
	2010–2015	ПЦР RD 105,207,B0/W148 <sup>7</sup>	78 (ВИЧ+)/нд/32	59,0/нд	нд	B0/W148	[38]
Иркутская обл.	нд	MIRU <sub>12</sub>	174/нд/71 148(ВИЧ+)/нд/7 2	65,5/нд 76,3/нд	нд	MIT17, MIT16	[29]
	2010–2015	MIRU-VNTR <sub>24</sub> ПЦР RD 105,207,B0/W148 <sup>7</sup>	567/нд/257	75,3/нд	нд	CC1, CC2 (B0/W148)	[25]

## окончание таблицы 3

Регион	Годы выделения штаммов	Метод	Число штаммов всего/ВВ <sup>1</sup> /МЛУ <sup>2</sup>	Доля штаммов Beijing/Beijing ВВ, %	Доля Beijing среди МЛУ-штаммов, %	Кластеры Beijing <sup>3</sup>	Ссылка
Томская обл.	нд	MIRU <sub>12</sub>	42/42/10	48,0/48,0	нд	нд	[62]
Новосибирская обл.	2006–2007	MIRU-VNTR <sub>15</sub> <sup>5</sup>	106/106/нд	42,5/нд	нд	M2, M11	[17]
Алтайский край	2013–2014	MIRU <sub>12</sub>	59/18/46	50,8/нд	нд	нд	[119]
Омская обл.	2013–2017	spoligotyping, MIRU-VNTR <sub>24</sub> ПЦР <sup>7</sup> Beijing, B0/W148, 94-32	423/423/195	66,2/66,2	нд	B0/W148, 94-32	[51]
Дальневосточный							
Владивосток	2005	MIRU-VNTR <sub>15</sub> <sup>5</sup>	104/76/нд	46,2/нд	нд	M2, M33, M11	[17]
Респ. Саха (Якутия)	2008–2010	MIRU <sub>12</sub>	130/130/36	31,0/31,0	нд	нд	[24]
	2008–2012	MIRU-VNTR <sub>24</sub> ПЦР <sup>7</sup> RD 105,207	199/156/59	34,2/нд	45,7 (27/59)	CC1, CC2 (B0/W148)	[20]
	2010–2014	MIRU-VNTR <sub>24</sub> ПЦР <sup>7</sup> RD 105,207	153/141/29	42,5/нд	нд	CC1, CC2 (B0/W148)	[21]
Респ. Бурятия	2010–2014	MIRU-VNTR <sub>24</sub> ПЦР <sup>7</sup> RD 105,207, B0/W148	337/нд/нд	63,9/нд	нд	CC1, CC2 (B0/W148)	[2]
Приморский край	2015–2016	MIRU-VNTR <sub>24</sub> ПЦР <sup>7</sup> RD 105,207, B0/W148	99/58/нд	59,6/нд	нд	B0/W148	[73]

Примечание: нд– данные не приведены; <sup>1</sup> штаммы выделенные от впервые выявленных больных; <sup>2</sup> штаммы с множественной лекарственной устойчивостью; <sup>3</sup> обозначение согласно таблице 2; <sup>4</sup> профили IS6110-RFLP визуально идентичные B0 и A0 [39]; <sup>5</sup> нестандартный набор локусов MIRU-VNTR; <sup>6</sup> доля генетического семейства Beijing рассчитана для штаммов *M. tuberculosis* complex (*M. tuberculosis*, *M. microti*, *M. canetti*) [59]; <sup>7</sup> ПЦР<sup>Beijing</sup>, RD105,207, B0/W148, 94-32 – принадлежность штаммов к генотипу Beijing современной филогенетической сублинии Beijing, кластерам B0/W148 и 94-32 определена методом ПЦР (см. ссылки)

Особую ценность для оценки трансмиссивности и частоты первичной МЛУ возбудителя представляет мониторинг циркулирующих штаммов *M. tuberculosis*, первоначально выделенных от впервые выявленных больных. Между тем, число таких исследований ограничено, причем большинство из них проведены однократно с использованием малочисленных доступных выборок штаммов, что затрудняет наблюдение за динамикой структуры региональных популяций возбудителя (Таблица 3, Рисунок 9).

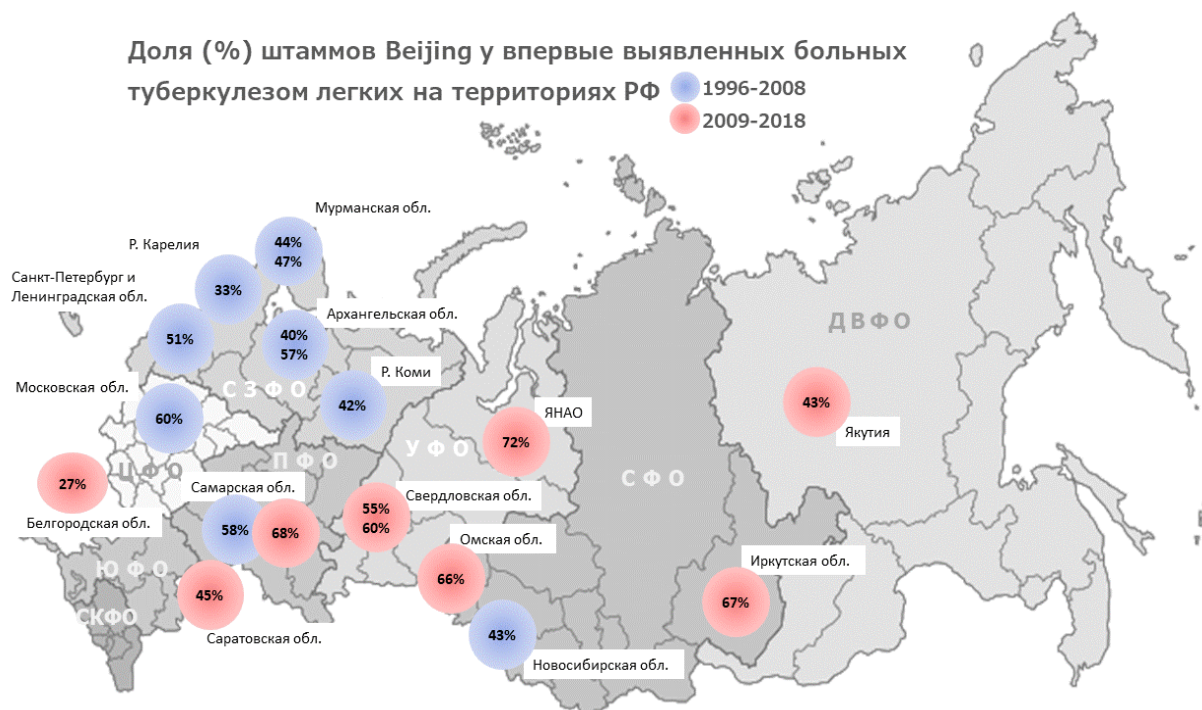


Рисунок 9 – Доля штаммов генотипа Beijing по данным [17, 21, 25, 30, 33, 39, 44, 51, 59, 63, 64, 65, 94, 299]

Повсеместно в региональных исследованиях среди штаммов *M. tuberculosis* генотипа Beijing выявляли в основном два кластера, которые авторы обозначали согласно различным классификациям в зависимости от метода исследования (Таблицы 2 и 3). Однако следует учитывать, что несмотря на соответствие субтипов MIT16 и MIT17 (SITVIT WEB) клональным комплексам CC1 и CC2 (B0/W148) по классификации Merker et al. (2015) [221], штаммы кластера B0/W148 (CC2) в единичных случаях обнаруживали в комплексах CC3 и CC4 [23, 25].

Мониторинг штаммов *M. tuberculosis*, циркулирующих на отдельных территориях севера азиатской части России в течение пятилетнего периода (2010–2015 годы), показал гетерогенность вариантов генотипа Beijing. Так, в Иркутской области и Якутии в разных долях доминировали штаммы CC1 (30,4% и 21,4%) и CC2 (19,6% и 10,6%). В Бурятии и Забайкальском крае, кроме CC1 (21,7%) и CC2 (14,2%), обнаружены штаммы Beijing BL7 (MIT 642) (15,1%) [23]. С развитием WGS показано, что упомянутые кластеры B0/W148 и Central Asian включают различные субклоны, а в гетерогенном кластере Central Asian выявлен распространенный в Средней Азии эпидемиологически значимый субтип CAO, ассоциированный с устойчивостью к ПТП [74, 220, 234, 237].

Частота встречаемости других генотипов («non-Beijing») – LAM, T, Ural, Haarlem, S и др. также отражена в публикациях, но из-за использования различных методов генотипирования и, соответственно, классификаций неизбежно возникают разночтения относительно принадлежности некоторых сполиготипов к генетическим семействам, что искажает и усложняет анализ информации об их распределении в регионах. Например, длительное время в базе данных SITVIT к семейству Haarlem относили сполиготип SIT262 (ныне Ural); SIT254, SIT264, SIT266 и производные сполиготипы относили к T5-RUS1 (ныне LAM) [109]. Несмотря на подобные сложности, удалось выявить некоторые региональные особенности популяций *M. tuberculosis*. Так, в Центральном регионе России кроме генотипа Beijing отмечена значительная доля (46%) МЛУ-штаммов генетического семейства LAM [80, 208]. Штаммы Ural были наиболее распространены (9,9% до 15,2%) в Уральском регионе [36, 47, 196, 231, 235]. В Якутии обнаружен принадлежащий к редкому в РФ семейству S (15,6%) эндемический кластер с высокой долей МЛУ штаммов (77,4%) при отсутствии эпидемиологической связи между случаями заболевания [337]. Генотип S ранее обнаруживали в России лишь в единичных случаях [19, 20].

Отсутствие единой системы микробиологического мониторинга популяций *M. tuberculosis* на региональных уровнях затрудняет прогнозирование тенденций

развития эпидемической ситуации и оптимизацию мероприятий по контролю передачи возбудителя.

### 1.7. Генетические маркеры и механизмы лекарственной устойчивости *M. tuberculosis*

Лекарственная устойчивость (ЛУ) возбудителя остается глобальной проблемой в борьбе с туберкулезом. Глубокое понимание процессов, определяющих ЛУ возбудителя необходимо для разработки и оптимизации методов молекулярной диагностики ЛУ-ТБ.

ЛУ *M. tuberculosis* к противомикробным препаратам обеспечивают несколько механизмов [115, 154]:

- барьерный (толщина, гидрофобность за счет высокого содержания миколовых кислот и восков);
- инактивация антибиотика ферментами ( $\beta$ -лактамы инактивируют  $\beta$ -лактамы антибиотики, нарушающие синтез пептидогликана клеточной стенки);
- модификация белков-мишеней (устойчивость к макролидам и линкозамидам за счет метилирования рибосомной РНК);
- модификация препаратов (за счет ацетилирования аминогруппы аминогликозидов - стрептомицин, канамицин);
- молекулярная мимикрия (нейтрализация фторхинолонов за счет выработки белка сходного по 3D-структуре с ДНК);
- активное выведение препаратов из микробной клетки (efflux pump).

Различают природную (natural, intrinsic resistance) ЛУ *M. tuberculosis* не только к уже известным, но и новым ПТП, и приобретенную. Природная ЛУ возникает в результате спонтанных мутаций в геноме и является постоянным видовым признаком *M. tuberculosis*. Приобретенную ЛУ рассматривают как свойство отдельных штаммов сохранять жизнеспособность в присутствии ПТП, возникающее в результате различных адаптационных механизмов [173].

Природную ЛУ *M. tuberculosis* обеспечивает резистом – несколько десятков генов (*whiB-like*, *aph*, гены клеточных транспортеров, модификаторов мишеней и



лекарств) [84, 173, 207, 240]. Например, регулятор транскрипции WhiB7 играет ведущую роль в обеспечении природной устойчивости к амикацину, кларитромицину, имипенему, хлорамфениколу и тетрациклину; продукт гена *tap* – к макролидам, аминогликозидам, фторхинолонам и тетрациклинам, продукт гена Rv1473 – к аминогликозидам и фторхинолонам [20, 84, 173, 240].

Полногеномное секвенирование в сочетании со статистическими и вычислительными методами исследования продемонстрировало большой потенциал в раскрытии сложных механизмов эволюции ЛУ, в особенности, неслучайных ассоциаций между полиморфными сайтами в геноме *M. tuberculosis* [244]. Определены особенности эволюционных путей развития МЛУ и выявлены компенсаторные мутации, направленные на снижение затрат для поддержания жизнеспособности (фитнес) у представителей различных филогенетических линий *M. tuberculosis*. Так, у МЛУ-штаммов генотипа Beijing, обладающих гипервирулентностью, основой развития МЛУ послужила мутация *dhaA*:158, которая вызвала множественные подчиненные мутации в различных генах. Экспрессия гена *dhaA* (кодирует галоалкандегалогеназу) повышена у бактерий, живущих внутри макрофагов. Другие пять начальных мутаций этого пула индуцировали более 20 подчиненных мутаций, в частности, транскрипционного регуляторного белка WhiB6, поликетидсинтазы Pks5 и белка Rv2160A. Все эти мутации создали эпистатический фон для приобретения наиболее распространенных мутаций ЛУ: *katG*:315, *embB*:296, *rpoB*:450 и *rpsL*:43 [228, 229, 230, 243, 244].

Таким образом, данное исследование продемонстрировало, что эволюция ЛУ представляет собой сложный процесс корректировки активности многих белков, включая ферменты и регуляторы транскрипции, посредством мутаций в полиморфных локусах бактериальных геномов. Некоторые из этих мутаций возникают до приобретения мутаций ЛУ, создавая таким образом эпистатический фон развития ЛУ, в то время как другие следуют за приобретением ЛУ для компенсации снижения жизнеспособности (fitness cost), обусловленной мутациями резистентности к ПТП.

У микобактерий туберкулеза, как и любых других патогенных микроорганизмов, отбор и преимущественное выживание микробных клеток, имеющих мутации в генах, ассоциированных с устойчивостью к антибактериальным агентам, являются основой развития ЛУ при воздействии ПТП. При этом, в отличие от других микроорганизмов, у *M. tuberculosis* в отсутствие горизонтального переноса генов в составе плазмид резистентности МЛУ формируется в результате накопления мутаций (замены, реже – делеции/вставки нуклеотидов) в хромосомных генах, ассоциированных с устойчивостью к различным препаратам. К настоящему времени идентифицировано множество генов, мутации в которых обуславливают устойчивость *M. tuberculosis* к ПТП (основные приведены в таблице 4) [296].

В 2021 году ВОЗ опубликовала первый каталог мутаций (более 17 тыс.) с оценкой их частоты и ассоциации с фенотипической лекарственной устойчивостью *M. tuberculosis* [318]. В каталоге обобщен анализ данных полногеномного секвенирования и определения фенотипической лекарственной чувствительности ко всем препаратам первой и второй линий более 38 000 изолятов возбудителя туберкулеза более чем из 40 стран. При этом гены-кандидаты, ассоциированные с фенотипической устойчивостью к ПТП, в каталоге подразделены на два уровня: 1) гены – наиболее вероятные носители мутаций устойчивости; 2) гены, которые с достаточной вероятностью могут содержать мутации устойчивости, и дополнительные промоторы, упомянутые в публикациях [318].

Практически все современные схемы противотуберкулезной терапии включают препараты первого ряда – рифампицин (RIF) и изониазид (INH) [47]. Устойчивость к рифампицину у *M. tuberculosis*, как правило, встречается вместе с устойчивостью к изониазиду, формируя МЛУ. Как было упомянуто ранее, именно МЛУ-штаммы возбудителя вызывают форму заболевания, именуемую МЛУ-ТБ (туберкулез с множественной лекарственной устойчивостью).

Таблица 4 – Генетические факторы, обуславливающие фенотипическую устойчивость *M. tuberculosis* к ПТП [296]

Препарат (обозначение)	Мишень (ассоциированное воздействие), тип активности	Гены	Ассоциированная функция	Механизм устойчивости
Изониазид (INH)	Каталаза-пероксидаза, НАДН-зависимый еноил АСР и др., (ингибирование синтеза клеточной стенки), бактерицидный	<i>katG</i>	Внутриклеточное выживание	Модификация сверхэкспрессии мишени из-за мутаций, изменения активности эффлюкс-насоса и превращения пролекарства
		<i>inhA</i>	Биосинтез миколовых кислот	
		<i>kasA</i>	Биосинтез жирных кислот	
		<i>ahpC</i>	Защита от окислительного стресса	
		<i>iniA</i>	Эффлюкс-насос	
		<i>fadE24</i>	Деградация липидов и жирных кислот	
		<i>ndh</i>	Перенос электронов от НАДН к дыхательной цепи	
Рифампицин (RIF)	РНК-полимераза, $\beta$ -субъединица (ингибирование синтеза РНК), бактерицидный	<i>rpoB</i> , <i>rpoA</i> , <i>rpoC</i>	Катализ транскрипции ДНК в РНК	Модификация мишени вследствие мутаций
Этамбутол (EMB)	Арабинозилтрансфераза (ингибирование синтеза арабиногалактана), бактериостатический	<i>embA</i> , <i>B</i> , <i>C</i>	Биосинтез клеточной стенки	Изменение и сверхэкспрессия мишени и активности эффлюкс-насоса
		<i>embR</i>	Регулятор синтеза оперона <i>embCAB</i>	
		<i>rmLD</i>	Биосинтез dTDP-L-рамнозы	
		<i>iniA</i>	Эффлюкс-насос	
Пиразинамид (PZA)	Пиразинамидаза, белок рибосомы 30S, цитоплазма, бактериостатический/ бактерицидный	<i>pncA</i>	Превращает амиды в кислоты	Блокирование механизма пролекарственной конверсии
		<i>rpsA</i>	Перевод мРНК с последовательностью <i>shine-dalgarno</i> , богатой пуринами	
		<i>panD</i>	Биосинтез пантотената	
		<i>clpC1</i>	Деградация (гидролиз) белка	
		<i>gpsI</i>	Участвует в деградации мРНК	
Стрептомицин (STM)	Действует на S12 белок рибосом, 16S рРНК (ингибирует синтез белка), бактерицидный	<i>rpsL</i> , <i>rrs</i> , <i>gidB</i>	Кодируют белок S12 рибосом, 16S рРНК и 16S рРНК-специфическую метилтрансферазу,	Мутации в 16S рРНК и активности эффлюкс-насоса
		<i>whiB7</i>	Регуляция экспрессии генов	
		Rv1258c	Эффлюкс-насос	

продолжение таблицы 4

Препарат (обозначение)	Мишень (ассоциированное воздействие), тип активности	Гены	Ассоциированная функция	Механизм устойчивости
Моксифлоксацин (МФХ), Гатифлоксацин	ДНК-гираза и ДНК-топоизомераза (подавляет синтез ДНК), бактерицидный	<i>gyrA</i> , <i>gyrB</i>	Нарушает суперскручивание замкнутой круговой двухцепочечной ДНК	Изменение мишени вследствие мутации
Канамицин (KAN)* Амикацин (АМК)*	Ингибирование РНК-зависимого синтеза путем связывания с 30S субъединицей рибосомы (ингибирование синтеза белка), бактерицидный	<i>rrs</i>	Синтез стабильных РНК	Мутации в 16S рРНК и механизмы сверхэкспрессии
		<i>eis</i>	Ацетилирование, внутриклеточная выживаемость	
		<i>whiB7</i>	Транскрипция	
		<i>tlyA</i>	Метилирует 16S и 23S рРНК	
Капреомицин (САР)*	Ингибирование 50S-субъединицы (ингибирование синтеза белка), бактерицидный	<i>rrs</i>	Синтез стабильных РНК	Мутация изменение лекарственной мишени
		<i>tlyA</i>	Метилирование 16S и 23S рРНК	
		<i>eis</i>	Ацетилирование, внутриклеточная выживаемость	
Этионамид (ЕТО)	Ингибирование синтеза миколовой кислоты путем связывания с АЦП-редуктазой <i>inhA</i> (нарушает биосинтез клеточной стенки), бактериостатический	<i>ethA</i>	Активирует пролекарственный этионамид	Изменение и сверхэкспрессия лекарственной мишени из-за мутации
		<i>ethR</i>	Регулирует транскрипционный белок-репрессор EthR	
		<i>kasA</i>	Биосинтезе жирных кислот	
		<i>inhA</i>	Биосинтез миколовых кислот	
		<i>pro inhA</i>	Регуляция экспрессии <i>inhA</i>	
Пара-аминосалициловая кислота (PAS)	Дигидроптероатсинтаза (ингибирует метаболизм фолатов и тиминового нуклеотидов), бактериостатический	<i>thyA</i>	Биосинтез дезоксирибонуклеотидов	Удаление процедуры пролекарственной конверсии
		<i>folC</i>	Регуляция превращения фолатов в полиглутаматы	
		<i>dfrA</i>	Синтез глицина и пурина	
		<i>ribD</i>	Биосинтез рибофлавина	
Циклосерин (CS)	Нарушение синтеза d-аланиновой рацемазы (ингибирование синтеза пептидогликана клеточной стенки), бактериостатический	<i>alr</i>	Биосинтез d-аланина	Сверхэкспрессия гена резистентности
		<i>ddl</i>	Биосинтез клеточной стенки	
		<i>ald</i>	Биосинтез клеточной стенки	
		<i>сусА</i>	Транспорт через цитоплазматическую мембрану	

## окончание таблицы 4

Препарат (обозначение)	Мишень (ассоциированное воздействие), тип активности	Гены	Ассоциированная функция	Механизм устойчивости
Клофазимин (CFZ)	Продуцирует активный кислород, ингибирует выработку энергии, транспортер калия, бактериостатический	<i>mmpR</i> (Rv0678)	Репрессор транскрипции для эффлюкс-насоса MmpL5	Повышенная регуляция MmpL5, эффлюксного насоса из-за мутации
		Rv1979c	Транспорт аминокислот	
		<i>pepQ</i> (Rv2535c)	Кодирует предполагаемую пептидазу PepQ.	
		<i>Ndh</i>	Окислительно-восстановительные реакции	
Бедаквилин (BDQ)	Ингибирует аденозин-5'-трифосфатсинтазу (ингибирование АТФ-синтазы), бактерицидный/ бактериостатический	<i>mmpR</i> (Rv0678)	Транскрипция эффлюксного насоса MmpL5	Мутации в сайте связывания и коинфекция
		<i>atpE</i>	Кодирует с-часть субъединицы F0 АТФ-синтазы	
		<i>pepQ</i>	Возможно гидролизует пептиды	
Деламанид (DLM), Претоманид (РА)	Препятствует синтезу миколовой кислоты, бактерицидный	<i>fgd1</i>	Катализирует окисление глюкозо-6-фосфата до 6-фосфоглюконолактона	Мутации в редуцирующем активном гене
		<i>fbiC</i>	Участвует в части биосинтетического пути F420	
		<i>fbiA, B</i>	Требуется для получения коэнзима F420 из FO	
		<i>Ddn</i>	Преобразует бициклический препарат нитроимидазол-кандидат в метаболиты РА-824–3	
Линезолид (LZD)	50S, 23S субъединица рибосомы (ингибирование синтеза белка), бактерицидный	<i>rplC</i>	Образование пептидилтрансферазы	Мутация в 50S рибосомном белке L3
		<i>rpl</i>	Образование стабильных РНК	

Клиническое применение противотуберкулезного препарата изониазида (гидразид изоникотиновой кислоты) началось в 1952 году. Изониазид ингибирует синтез миколовых кислот — важнейшего компонента клеточной стенки микобактерий и является предшественником действующего вещества (предположительно изоникотиновой кислоты), которое активируется в бактериальной клетке ферментом каталазой-пероксидазой (белок KatG) [245]. У подавляющего большинства (60–90%) резистентных к изониазиду штаммов *M. tuberculosis* выявляют мутацию в кодоне 315 гена *katG*, приводящую к замене серина на треонин (Ser315Thr) в молекуле белка [106, 209]. Другая мутация в области промотора *inhA* C(-15)T встречается у 19% фенотипически резистентных изолятов [279, 335]. При наличии мутации в *inhA* существует высокий уровень перекрестной устойчивости между изониазидом и этионамидом [309]. Также устойчивость *M. tuberculosis* к изониазиду ассоциирована с мутациями в генах *kasA*, *fabG1*, *fbpC*, *Rv0129c*, *fadE24*, *ahpC*, *iniA*, продукты которых вовлечены в фармакокинетику и фармакодинамику изониазида в бактериальной клетке [245, 276, 277, 279, 286, 303, 306, 309]. Мутация *furA* приводят к нарушению детоксикации пероксида и метаболизма железа *M. tuberculosis*, аналогично мутациям в генах *ahpC*, *katG1* и *katG2* [271]. Относительно недавно обнаружена ассоциация генов *Rv1634*, *Rv0194*, *Rv0507*, ответственных за выброс (эффлюкс) изониазида из клетки – трансмембранный лекарственный насос, обеспечивающий устойчивость к препарату [248].

Рифампицин – полусинтетический антибиотик широкого спектра действия, используется для лечения ТБ с 1967 г. [226]. Рифампицин блокирует синтез РНК и индуцирует образование гидроксильных радикалов, связывая β-субъединицы РНК-полимеразы бактерий [201a]. Более 95% резистентных к рифампицину штаммов *M. tuberculosis* (также, как и бактерий *Escherichia coli*) имеют мутации (замены нуклеотидов, инсерции и делеции) в небольшой области RRDR (Rifampicin Resistance-Determining Region – область, определяющая резистентность к рифампицину) протяженностью 81 п.н. в гене *rpoB* (кодоны

426-452 в системе нумерации кодонов *M. tuberculosis* или 507-533 у *Escherichia coli*) [111, 259, 331].

Наиболее часто возникают замены Ser→Leu в кодоне 531 (42%) и His→Tyr в кодоне 526 (23%) [251, 288]. Миссенс-мутации в 531-м и 526-м кодонах встречаются чаще остальных (до 70% случаев устойчивости). Замены в кодонах 511, 515, 516, 526 наблюдаются реже, что связано со сниженной адаптацией изолятов, несущих данные мутации. Менее 5% рифампицин-устойчивых образцов имеют редкие мутации за пределами области RRDR гена *rpoB* в кодонах 176, 381, 679, 687 [333].

В регионах России с высоким уровнем циркуляции МЛУ-штаммов, в особенности генотипа Beijing, наиболее часто фенотипическая устойчивость к рифампицину и изониазиду обусловлена заменами *rpoB* Ser531Leu и *katG* Ser315Thr соответственно [30, 65, 86, 182, 208].

Увеличение частоты появления резистентных мутантов Beijing было связано с более высокой исходной скоростью мутаций не только в гене *rpoB*, но и генах, способствующих приобретению резистентности к изониазиду, этамбутолу [155]. Наряду с этим обнаружено, что штаммы Beijing (линия L2.2) имеют более широкий набор полиморфизмов в генах репликации, рекомбинации и репарации ДНК по сравнению с штаммами Евро-Американского генетического семейства (линия L4), что свидетельствует о большей изменчивости по сравнению с другими штаммами [223].

В условиях широкого распространения МЛУ-ТБ ВОЗ рекомендует назначать новые препараты – бедаквилин, претоманид и линезолид [323]. Бедаквилин (BDQ) – синтетический антибиотик группы диарилхинолонов, который после прохождения клинических испытаний стал доступным в 2012 году [149, 282, 328]. Это первый препарат с принципиально новой мишенью за 40 лет существования противотуберкулезной терапии. Бедаквилин ингибирует C- и ε-субъединицы F1FO-АТФ-синтазы микобактерий, кодируемые генами *atpC* и *atpE* [91, 96, 253].

Известные механизмы устойчивости *M. tuberculosis* к бедаквилину связаны преимущественно с мутациями в генах *atpE* (Rv1305) [253, 278], *mmpR* (Rv0678), *perQ* (Rv2535c) и Rv1979c [90, 92, 96, 170, 183, 190, 270, 334, 338]. В частности, мутации *atpE* предотвращают взаимодействие препарата с его мишенью, АТФ-синтазой, а мутации *mmpR* блокируют связывание белка-репрессора MmpR с промотором (Rv0677c), что приводит к удалению бедаквилина из микробной клетки (эффлюкс-помпа) [219, 264, 308]. Выявлены генетические детерминанты (*mmpR* и *perQ*) перекрестной резистентности к бедаквилину и клофазимину и противогрибковым препаратам [24, 183, 254, 310].

Линезолид (LZD) – антибиотик из группы оксазолидинонов; одобрен в 2000 году для лечения заболеваний, вызванных грамположительными бактериями; показал бактериостатическую активность против МЛУ и ШЛУ штаммов *M. tuberculosis* [205, 336]. За счет связывания с бактериальными рибосомами линезолид предотвращает образование функционального иницирующего комплекса 70S, который является компонентом процесса трансляции при синтезе белка [210]. Устойчивость *M. tuberculosis* к линезолиду обусловлена мутациями в генах 23S рРНК и *rplC* [97, 274].

Деламанид (DLM) – противотуберкулезный препарат, производное дигидронитроимидазола, включенный ВОЗ в перечень основных лекарственных средств с 2015 года и зарегистрированный уже в 44 странах. В мае 2020 г. деламанид получил регистрационное удостоверение в России в качестве ПТП для лечения МЛУ-ТБ легких у взрослых [28]. Ингибирует синтез кетомиколовой и метоксимиколовой кислот – компонентов клеточной стенки микобактерий. Предполагаемым механизмом резистентности является мутация одного из генов (*dnn*, *fgd1*, *fbiA*, *fbiB*, *fbiC* и *fbiD*) коэнзима F420 [183, 190, 272]. Перекрестная резистентность деламанида с другими ПТП отсутствует [252].

#### 1.8. Методы определения лекарственной чувствительности *M. tuberculosis*

В условиях широкого распространения МЛУ-ТБ для выбора эффективного режима химиотерапии бактериовыделителей необходимо максимально быстро определить ЛЧ возбудителя. В России с 2012 года тест на чувствительность возбудителя к ПТП до начала курса химиотерапии проводят почти для всех



больных туберкулезом легких, и этот показатель, достигнув 97,2% в 2018, практически не изменился (97,3%) в 2019 году [49].

До настоящего времени «золотым стандартом» определения фенотипической ЛЧ считается культуральное исследование клинических изолятов на плотных питательных средах, содержащих ПТП в критических концентрациях; тест занимает от 3 до 4 недель, поскольку микобактерии туберкулеза являются медленнорастущими микроорганизмами.

Совершенствование культуральной диагностики туберкулеза в конце прошлого века, главным образом, за счет сокращения времени определения ЛЧ до 12–14 дней, явилось результатом разработки и внедрения систем культивирования микобактерий в жидких питательных средах с автоматизированной регистрацией роста [121, 134, 288, 316].

В большинстве стран (включая Россию с 2003 года) используется автоматизированная система культивирования микобактерий – ВАСТЕС MGIT 960 (Mycobacteria Growth Indicator Tube), благодаря чему стало возможным в более короткие сроки определение фенотипической ЛЧ не только ко всем ПТП 1-го ряда (изониазид, рифампицин, пиразинамид, этамбутол, стрептомицин), но и большинству препаратов 2-го ряда (канамицин, амикацин, капреомицин, левофлоксацин, моксифлоксацин, офлоксацин, протионамид, этионамид, аминосалициловая кислота, циклосерин, бедаквилин, линезолид, деламанид) за исключением циклосерина и ПАСК, для которых не определены критические концентрации в культуральной среде [85, 174, 325].

В последнее десятилетие приоритетными становятся молекулярно-генетические методы выявления ЛУ возбудителя, позволяющие сократить срок исследования до одних суток; другими преимуществами являются высокая специфичность и чувствительность тестов, стандартизация процесса, высокая пропускная способность и возможность автоматизации [12, 47, 297, 317].

Развитие молекулярно-генетических технологий, в частности WGS, для исследования популяций *M. tuberculosis* шло параллельно с изучением генетических механизмов ЛУ и внедрением прикладного направления – методов

детекции ЛУ *M. tuberculosis* [82, 89]. Эти методы основаны на выявлении специфических мутаций, связанных с резистентностью к определенным ПТП, и представлены тремя основными технологиями:

- гибридационные, основанные на гибридизации продуктов ПЦР со специфическими олигонуклеотидами, иммобилизованными на матрице, которая может представлять собой биологический микрочип или ДНК-стрип («ТБ-ТЕСТ», «ТБ-Биочип», «ТБ-Биочип-2» – для выявления ЛУ к рифампицину, изониазиду, фторхинолонам, инъекционным препаратам (амикацину и канамицину), капреомицину и этамбутолу);

- мультиплексная ПЦР в режиме реального времени (АМПЛИТУБ-МЛУ-РВ, АМПЛИТУБ-FQ-РВ – для выявления ЛУ к рифампицину, изониазиду, фторхинолонам);

- «картриджная» технология (выделение ДНК и амплификация идут автоматически в специальном картридже) (GeneXpert MTB/RIF – определение ЛУ к рифампицину) [66].

На первом этапе диагностики МЛУ-ТБ проводится скрининговое исследование клинического материала молекулярно-генетическими методами, что позволяет идентифицировать мутации, ассоциированные с устойчивостью к ПТП. Результаты данного анализа учитывают при госпитализации больных МЛУ-ТБ в специализированное отделение с соответствующим режимом химиотерапии.

Далее проводится определение фенотипической ЛЧ, по результатам которой схема лечения может быть скорректирована [66]. В некоторых случаях выявляются расхождения между данными, полученными генетическими и фенотипическими методами, что может объясняться наличием МИК, близкой к критической концентрации, наличием других мутаций, не обнаруживаемых применяемыми тест-системами, редко встречающейся гетерорезистентностью (не выявленной путем секвенирования генов) или другими механизмами устойчивости, которые в настоящее время не охарактеризованы [9].

Быстрое выявление ЛУ *M. tuberculosis* доступными способами из любого диагностического материала и своевременное назначение комбинации препаратов для скорейшего прекращения бактериовыделения предотвращают распространение резистентных штаммов возбудителя в популяции [9].

## РЕЗЮМЕ

Туберкулез, в последнее десятилетие МЛУ-ТБ, остается одной из важнейших проблем здравоохранения во всем мире. Установлено, что глобальная популяция *M. tuberculosis* генетически неоднородна и различается по географическому распределению генотипов и ассоциации с субпопуляциями человека, трансмиссивности (способности к передаче), лекарственной устойчивости и вирулентности штаммов. Молекулярно-эпидемиологические исследования возбудителя ТБ в России также показали гетерогенность популяции *M. tuberculosis*, представленной основными генотипами (семействами) Beijing, LAM, Haarlem, Ural, T. При этом в структуре большинства изученных территориальных популяций возбудителя отмечено преобладание штаммов генетического семейства Beijing (Восточно-Азиатской филогенетической линии L2), среди которых доминируют представители клинически и эпидемиологически значимого клона B0/W148.

В этой связи, несомненную актуальность представляет анализ тенденций развития эпидемического процесса МЛУ-ТБ на территориях России, различающихся по социально-экономическим, демографическим и климатическим условиям, требует использования комплекса современных, быстрых и доступных методов выявления информативных молекулярных маркеров, в т.ч. мутаций, ассоциированных с ЛУ, с учетом накопленных знаний о гетерогенности территориальных популяций *M. tuberculosis*.

## РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

### ГЛАВА 2. Характеристика групп впервые выявленных больных туберкулезом легких в регионах Северо-Западного федерального округа России

В соответствии с критериями включения были изучены штаммы *M. tuberculosis*, выделенные в 2014–2019 гг. от 720 впервые выявленных больных туберкулезом легких. Исследование проводили в восьми из 11 регионов СЗФО, имеющих географические особенности. К числу внутренних регионов России относят Архангельскую, Вологодскую, Новгородскую области и Республику Коми. Калининградская, Мурманская, Псковская области и Республика Карелия имеют сухопутные границы с зарубежными странами (Рисунок 10, Таблица 5).



Рисунок 10 – Карта СЗФО

Республика Карелия имеет самую протяженную границу со странами Европейского союза (Финляндия); самая западная территория России – Калининградская область (полуэксклав) граничит с Польшей и Литвой; большая часть территории Мурманской области, расположенной севернее Полярного круга на Кольском полуострове, имеет общую границу с Финляндией и Норвегией. Псковская область – единственный регион, граничащий с тремя странами: Эстонией, Латвией и Беларусью.

Таблица 5 – Сравнительная характеристика регионов СЗФО

Регион	Внешняя граница с другими странами	Площадь, км <sup>2</sup>	Численность населения, чел.*	Плотность населения, чел./км <sup>2</sup>	Заболеваемость туберкулезом на 100 тыс. населения (год)	Год выделения штаммов <i>M. tuberculosis</i>	Число штаммов <i>M. tuberculosis</i> за период (% от числа выделенных)
Архангельская обл.	-	589 913	1 155 028	1,96	20,8 (2018)	2018	89 (66,4%)
Вологодская обл.	-	144 527	1 176 689	8,14	15,8 (2018)	2018–2019	82 (74,5%)
Калининградская обл.	Польша, Литва	15 125	968 944	64,06	50,8 (2015)	2015	73 (34%)
Республика Карелия	Финляндия	180 520	634 400	3,51	46,0 (2014)	2014–2015	67 (65%)
Республика Коми	-	416 774	850 554	2,04	41,5 (2017)	2017	130 (98%)
Мурманская обл.	Финляндия, Норвегия	144 902	757 621	5,23	23,9 (2017)	2017	67 (88%)
Псковская обл.	Эстония, Латвия, Беларусь	55 399	651 108 636 546	11,8 11,5	54,4 (2015) 37,3 (2018)	2014–2015 2018	89 (40%) 78 (нд)
Новгородская обл.	-	54 501	600 296	11,01	30,6 (2019)	2019	45 (нд)

Примечание: нд – нет данных, \* – численность населения приведена согласно (<https://rosstat.gov.ru/>)

Среди пациентов было 208 (28,9%) женщин и 512 (71,1%) мужчин, причем соотношение полов в зависимости от региона СЗФО значимо не различалось (Таблица 6).

Таблица 6 – Соотношения пациентов по гендерному признаку

Регион	Число пациентов (%)		p
	женщины (%)	мужчины (%)	
Архангельская обл.	23 (25,8)	66 (74,2)	0,660
Вологодская обл.	31 (37,8)	51 (62,2)	
Калининградская обл.	20 (27,4)	53 (72,6)	
Республика Карелия	20 (29,9)	47 (70,1)	
Республика Коми	34 (26,2)	96 (73,8)	
Мурманская обл.	17 (25,4)	50 (74,6)	
Псковская обл.	48 (28,7)	119 (71,3)	
Новгородская обл.	15 (33,3)	30 (66,7)	

Медианный возраст пациентов (n=720) составил 42 года (Таблица 7).

Таблица 7 – Медианный возраст пациентов

Показатель	Единица измерения	M ± SD / Me	95% ДИ / Q <sub>1</sub> -Q <sub>3</sub>	N	min	max
Возраст, Me	Лет	42	34–52	720	18	88

Были установлены значимые различия значений показателя «медианный возраст» в зависимости от пола пациентов (Таблица 8).

Таблица 8 – Медианный возраст и пол пациентов

Пол	Возраст		p
	M ± SD / Me	95% ДИ / Q <sub>1</sub> -Q <sub>3</sub>	
женщины	39,5	32–51	0,014*
мужчины	43	35–53	

Примечание: \* – различия показателей статистически значимы (p < 0,05)

Выявлены значимые различия значений показателя «медианный возраст» в зависимости от региона СЗФО (Таблица 9).

Таблица 9 – Медианный возраст пациентов в регионах СЗФО

Регион	Возраст, лет		p
	M ± SD / Me	95% ДИ / Q <sub>1</sub> -Q <sub>3</sub>	
Архангельская обл.	44	36–54	0,034*
Вологодская обл.	44	34 – 54	
Калининградская обл.	37	29 – 48	
Республика Карелия	41	33 – 50	
Республика Коми	42	35 – 54	
Мурманская обл.	42	36 – 52	
Псковская обл.	43	35 – 53	
Новгородская обл.	37	32 – 46	

Примечание: \* – различия показателей статистически значимы ( $p < 0,05$ )

Значимые различия выявлены и в численности пациентов в возрастных группах в зависимости от пола (Таблица 10).

Таблица 10 – Возрастные группы и пол пациентов

Пол	Число пациентов в возрастной группе, абс. (%)					P
	18–30	31–40	41–50	51–60	старше 60	
Женщины	43 (20,7)	66 (31,7)	46 (22,1)	31 (14,9)	22 (10,6)	0,025*
Мужчины	67 (13,1)	156 (28,1)	130 (25,4)	115 (22,5)	44 (8,6)	

Примечание: \* – различия показателей статистически значимы ( $p < 0,05$ )

При анализе значений показателя «возрастные группы» в зависимости от региона статистически значимых различий не выявлено (Таблица 11).

Среди впервые выявленных больных туберкулезом легких ( $n = 720$ ) преобладали пациенты с диагнозом инфильтративного (ИТЛ, 66,1%) и диссеминированного (ДТЛ, 19,6%) туберкулеза легких (Рисунок 11).

Таблица 11 – Возрастные группы больных туберкулезом в регионах СЗФО

Регион	Число пациентов в возрастной группе, абс. (%)					p
	18–30	31–40	41–50	51–60	старше 60	
Архангельская обл.	9 (10,1)	23 (25,8)	29 (32,6)	20 (22,5)	8 (9,0)	0,072*
Вологодская обл.	13 (15,9)	22 (26,8)	18 (22,0)	19 (23,2)	10 (12,2)	
Калининградская обл.	22 (30,1)	21 (28,8)	18 (24,7)	10 (13,7)	2 (2,7)	
Республика Карелия	12 (17,9)	18 (26,9)	22 (32,8)	10 (14,9)	5 (7,5)	
Республика Коми	16 (12,3)	44 (33,9)	25 (19,2)	31 (23,9)	14 (10,8)	
Мурманская обл.	7 (10,5)	26 (38,8)	16 (23,9)	9 (13,4)	9 (13,4)	
Псковская обл.	24 (14,4)	50 (29,9)	37 (22,2)	41 (24,6)	15 (9,0)	
Новгородская обл.	7 (15,6)	18 (40,0)	11 (24,4)	6 (13,3)	3 (6,7)	

Примечание: \* – различия показателей статистически значимы ( $p < 0,05$ )

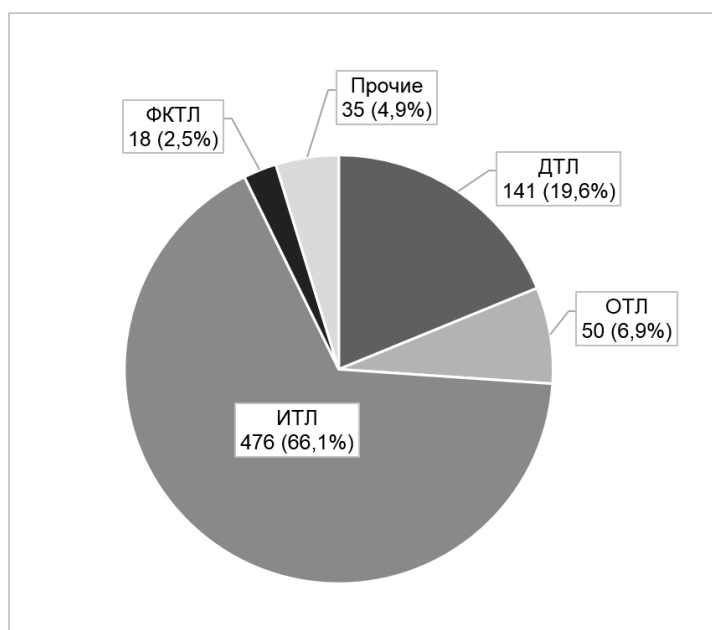


Рисунок 11 – Структура клинических диагнозов, абс. (%)

Доли больных фиброзно-кавернозным (ФКТЛ) и очаговым (ОТЛ), а также прочими формами (казеозная пневмония и др.) туберкулеза составляли менее 10% (Рисунок 11).



При анализе клинических диагнозов у больных туберкулезом легких в зависимости от возрастных групп были установлены статистически значимые различия (Таблица 12).

Таблица 12 – Клинические формы туберкулеза в возрастных группах пациентов

Возрастные группы	Диагноз, абс. (%)					p
	ДТЛ	ОТЛ	ИТЛ	ФКТЛ	Прочие	
18–30	10 (9,1)	7 (6,4)	85 (77,3)	1 (0,9)	7 (6,4)	$< 0,001^*$ $p_{18-30 - 51-60} = 0,001^*$ $p_{31-40 - 51-60} = 0,011^*$
31–40	44 (19,8)	22 (9,9)	138 (62,2)	3 (1,4)	15 (6,8)	
41–50	32 (18,2)	10 (5,7)	117 (66,5)	5 (2,8)	12 (6,8)	
51–60	37 (25,3)	7 (4,8)	95 (65,1)	7 (4,8)	–	
старше 60	18 (27,3)	4 (6,1)	41 (62,1)	2 (3,0)	1 (1,5)	

Примечание: \* – различия показателей статистически значимы ( $p < 0,05$ )

Статистически значимые различия выявлены при анализе структуры клинических диагнозов в зависимости от региона СЗФО (Таблица 13).

Таблица 13 – Клинические формы туберкулеза в регионах

Регион	Диагноз, абс. (%)					p
	ДТЛ	ОТЛ	ИТЛ	ФКТЛ	Прочие	
Архангельская обл.	21 (23,6)	2 (2,3)	58 (65,2)	2 (2,3)	6 (6,7)	$< 0,001^*$
Вологодская обл.	19 (23,2)	5 (6,1)	47 (57,3)	4 (4,9)	7 (8,5)	
Калининградская обл.	10 (13,7)	3 (4,1)	54 (74,0)	1 (1,4)	5 (6,9)	
Республика Карелия	4 (6,0)	2 (3,0)	57 (85,1)	2 (3,0)	2 (3,0)	
Республика Коми	34 (26,2)	19 (14,6)	67 (51,5)	2 (1,5)	8 (6,2)	
Мурманская обл.	5 (7,5)	2 (3,00)	55 (82,1)	3 (4,5)	2 (3,0)	
Псковская обл.	34 (20,4)	16 (9,6)	112 (67,1)	3 (1,8)	2 (1,2)	
Новгородская обл.	14 (31,1)	1 (2,2)	26 (57,8)	1 (2,2)	3 (6,7)	

Примечание: \* – различия показателей статистически значимы ( $p < 0,05$ ):

p Республика Карелия – Республика Коми =  $0,002^*$ ; p Мурманская обл. – Республика Коми =  $0,004^*$

Информация о ВИЧ-статусе больных ТБ была предоставлена для шести территорий СЗФО (Таблица 14).

Таблица 14 – Доля ВИЧ-положительных больных впервые выявленным туберкулезом в регионах СЗФО

Регион	Доля ВИЧ-положительных лиц, %
Архангельская обл.	8,9 (8/89)
Вологодская обл.	11,0 (9/82)
Калининградская обл.	5,5 (4/73)
Мурманская обл.	9,0 (6/67)
Новгородская обл.	24,4 (11/45)
Республика Коми	8,5 (11/130)

В таблице 15 приведена сравнительная характеристика ВИЧ-статуса у различных групп пациентов.

Таблица 15 – Характеристика ВИЧ-статуса больных туберкулезом

Показатель	ВИЧ-негативные (n=434)		ВИЧ-положительные (n=49)		p
	Абс.	%	Абс.	%	
Пол					
Женщины	118	27,2	21	42,9	0,022*
Мужчины	316	72,8	28	57,1	
Возрастные группы, лет					
18–30	64	14,7	10	20,4	< 0,001*
31–40	125	28,8	28	57,1	
41–50	106	24,4	9	18,4	
51–60	93	21,4	2	4,1	
старше 60	46	10,6	-	-	
Клинические формы туберкулеза					
ДТЛ	88	20,3	13	26,5	< 0,001*
ОТЛ	27	6,2	5	10,2	
ИТЛ	289	66,6	17	34,7	
ФКТЛ	12	2,8	1	2	
Прочие	18	4,1	13	26,5	

Примечание: \* – различия показателей статистически значимы ( $p < 0,05$ )

Как видно из таблицы 15, доля женщин была существенно больше в группе ВИЧ-положительных нежели ВИЧ-негативных пациенток. Туберкулез в сочетании с ВИЧ-инфекцией выявлен преимущественно (77,5%) у молодых (до 40 лет включительно) лиц. У ВИЧ-положительных пациентов, также как и у ВИЧ-негативных, преобладали инфильтративная и диссеминированная формы туберкулеза.

### ГЛАВА 3. Характеристика штаммов *M. tuberculosis* в регионах Северо-Западного федерального округа Российской Федерации

#### 3.1. Молекулярно-генетическая характеристика популяции возбудителя туберкулеза в Архангельской области

Изучены 89 штаммов *M. tuberculosis* (в т.ч. выделенных от восьми ВИЧ-положительных пациентов), выделенных в 2018 году в Архангельской области, преимущественно, от больных впервые выявленным инфильтративным (ИТЛ, 65,2%) и диссеминированным (ДТЛ, 23,6%) туберкулезом легких. Медианный возраст пациентов составил 44 года (95% ДИ 36–54 лет); преобладали мужчины (74,2%).

Большинство штаммов *M. tuberculosis* принадлежали к генотипу Beijing (67,4%; 60/89), остальные – к группе non-Beijing (Таблица 16).

Таблица 16 – Генотипы и лекарственная устойчивость штаммов *M. tuberculosis* в Архангельской области

Генотип	Число штаммов			
	ЛЧ n=52	М/П n=7	МЛУ n=30	Всего n=89
Beijing	27	5	28	60
современная сублиния:	27	5	27	59
B0/W148	-	-	18	18
Central Asian/Russian	26	3	5	34
субтип CAO	-	1	1	2
другие	1	1	3	5
древняя сублиния	-	-	1	1
non-Beijing	25	2	2	29
T	13	-	-	13
LAM	1	1	-	2
Ural	3	1	-	4
Haarlem	4	-	-	4
Unknown	3	-	2	5
CAS1-Delhi	1	-	-	1

Примечание: М/П – моно- или полирезистентность



изониазиду и рифампицину, с генотипом возбудителя статистически значимых различий между группами штаммов не выявлено (Таблица 18).

Таблица 18 – Мутации МЛУ-штаммов *M. tuberculosis* в Архангельской области

ПТП	Мутации	Число штаммов (%)		p
		Beijing n=28	non-Beijing n=2	
INH	<i>katG</i> Ser315Thr	28 (100)	2 (100)	-
RIF	<i>rpoB</i> His526Asn	1 (3,6)	-	0,971
	<i>rpoB</i> His526Tyr	1 (3,6)	-	
	<i>rpoB</i> Ser531Leu	25 (89,3)	2 (100)	
	нд	1 (3,6)	-	

Примечание: INH – изониазид, RIF – рифампицин; нд – нет данных

Анализ клинико-эпидемиологических данных пациентов с учетом генотипа штаммов *M. tuberculosis* статистически значимых различий между группами не выявил (Таблица 19).

Таблица 19 – Генотипы *M. tuberculosis* и характеристика пациентов в Архангельской области

Показатель	Число штаммов (%)		p
	Beijing (n=60)	non-Beijing (n=29)	
Пол			
Мужчины	44 (73,3)	22 (75,9)	0,798
Женщины	16 (26,7)	7 (24,1)	
Возрастные группы, лет			
18–30	7 (11,7)	2 (6,9)	0,890
31–40	16 (26,7)	7 (24,1)	
41–50	18 (30,0)	11 (37,9)	
51–60	13 (21,7)	7 (24,1)	
старше 60	6 (10,0)	2 (6,9)	
ВИЧ-позитивные	6 (10,0)	2 (6,9)	0,632
Место проживания			
Город	41 (68,3)	21 (72,4)	0,695
Сельская местность	19 (31,7)	8 (27,6)	
Клинические формы туберкулеза			
ИТЛ	38 (63,3)	20 (69,0)	0,339
ДТЛ	13 (21,7)	8 (27,6)	
ОТЛ	1 (1,7)	1 (3,4)	
ФКТЛ	2 (3,3)	-	
Прочие	6 (10,0)	-	

### 3.2. Молекулярно-генетическая характеристика популяции возбудителя туберкулеза в Вологодской области

Изучены штаммы *M. tuberculosis*, выделенные от 82 (в т.ч. от девяти ВИЧ-позитивных) больных, преимущественно, ИТЛ (57,3%) и ДТЛ (23,6%), в Вологодской области с марта 2018 г. по март 2019 г. Медианный возраст пациентов, среди которых преобладали мужчины (62,2%), составил 44 года (95% ДИ 34–54 лет).

К генотипу Beijing принадлежали 62,2% (51/82) штаммов *M. tuberculosis* (в т.ч. восемь штаммов от ВИЧ-позитивных пациентов); остальные штаммы были отнесены к группе non-Beijing (Таблица 20).

Таблица 20 – Генотипы и лекарственная устойчивость штаммов *M. tuberculosis* в Вологодской области

Генотип	Число штаммов			
	ЛЧ n=34	М/П n=15	МЛУ n=33	Всего n=82
Beijing	14	10	27	51
<i>современная сублиния:</i>	13	10	27	50
B0/W148	-	2	4	6
Central Asian/Russian	11	5	18	34
субтип CAO	-	3	4	7
другие	2	-	1	3
<i>древняя сублиния</i>	1	-	-	1
non-Beijing	20	5	6	31
T	8	1	-	9
LAM	5	2	2	9
Ural	2	-	2	4
Haarlem	2	1	2	5
Unknown	3	1	-	4

Примечание: М/П – моно- или полирезистентность

Как видно из таблицы 20, из 82 штаммов *M. tuberculosis* 34 (41,4%) были ЛЧ, 15 (18,3%) моно- и полирезистентны (преимущественно к изониазиду и/или стрептомицину). МЛУ обладали 33 (40,2%) штамма. За исключением одного все штаммы генотипа Beijing принадлежали к современной сублинии (50/51), в частности, к кластерам Central Asian/Russian (включая субтип CAO) – 80,4%;

(41/51), и B0/W148 – 11,8% (6/51). Семь штаммов кластера Central Asian/Russian и один штамм B0/W148 были выделены от ВИЧ-позитивных больных туберкулезом.

Генотипирование 51 штамма Beijing по 24 локусам MIRU-VNTR выявило 22 варианта родственных паттернов (NGI=0,852) (Рисунок 12). Как видно на рисунке 12, пять паттернов были представлены кластерами MIRU-VNTR<sub>24</sub>: наиболее крупные – 94-32 (35,3%; 18/51) и 95-32 (15,7%; 8) включали штаммы Central Asian/Russian (в т.ч. CAO). Три из семи штаммов субтипа CAO имели индивидуальные MIRU-VNTR-паттерны, остальные вошли в кластер 94-32, но различались по профилю фенотипической устойчивости к ПТП. Четыре штамма генотипа B0/W148 принадлежали к кластеру 100-32.

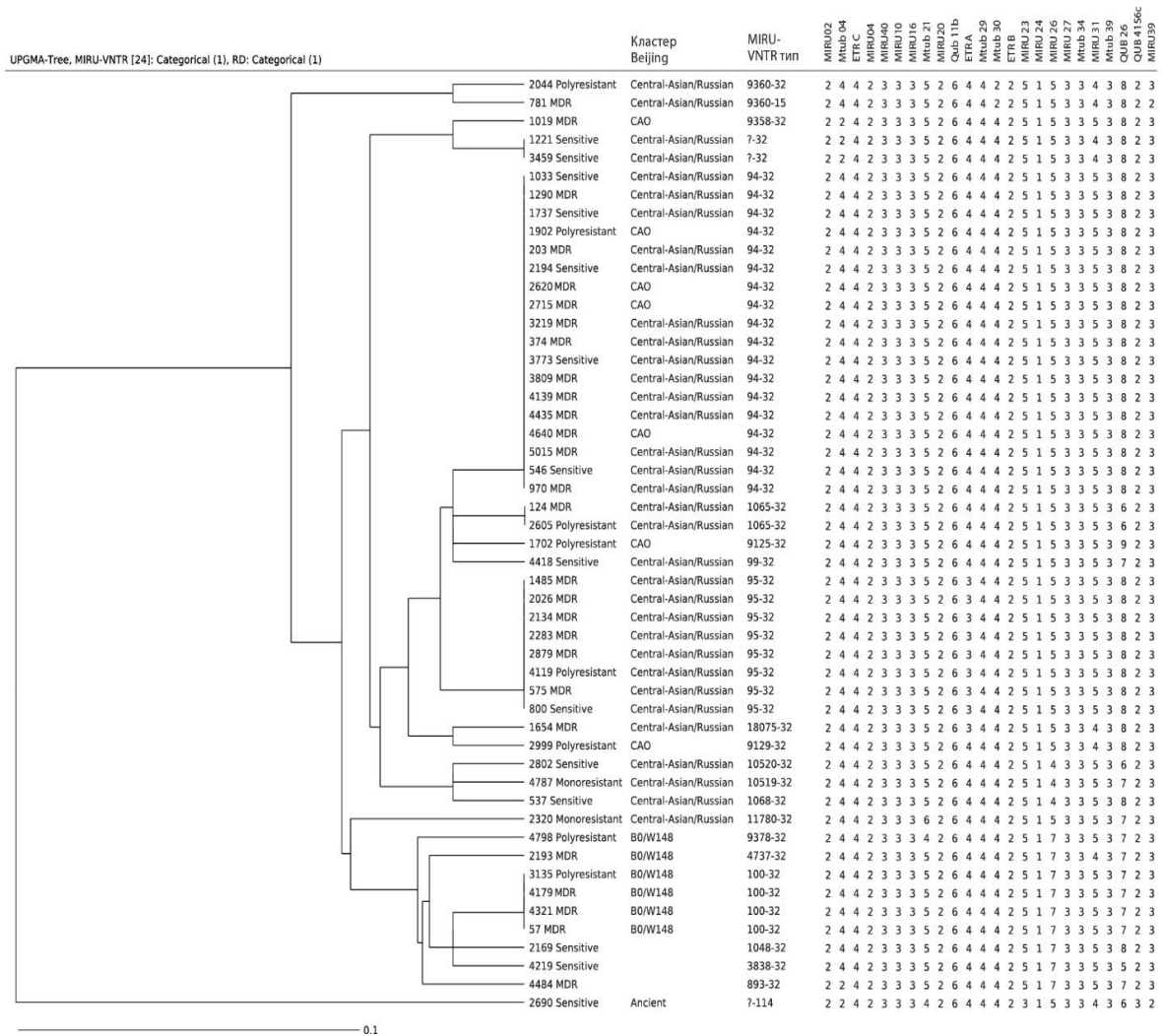


Рисунок 12 – Дендрограмма профилей MIRU-VNTR<sub>24</sub> штаммов *M. tuberculosis* Beijing в Вологодской области

Примечание: для каждого штамма указаны номер и отношение к ПТП (Sensitive – ЛЧ, Monoresistant – монорезистентность, Polyresistant – полирезистентность, MDR – МЛУ)





Анализ мутаций, обуславливающих устойчивость к изониазиду (INH) и рифампицину (RIF), с учетом генотипа МЛУ-штаммов выявил преобладание замены Ser531Leu в гене *rpoB* у штаммов генотипа Beijing (Таблица 22).

Таблица 22 – Мутации МЛУ-штаммов *M. tuberculosis* в Вологодской области

ПТП	Мутации	Число штаммов (%)		p
		Beijing (n=27)	non-Beijing (n=6)	
INH	<i>inhA</i> C (-15) T	1 (3,7)	-	0,610
	<i>katG</i> Ser315Thr	24 (88,9)	5 (83,3)	
	<i>katG</i> Ser315Thr, <i>inhA</i> C (-15) T	1 (3,7)	1 (16,7)	
	<i>katG</i> Ser315Thr, <i>inhA</i> T (-8) A/C	1 (3,7)	-	
RIF	<i>rpoB</i> Asp516Val	-	1 (16,7)	0,009*
	<i>rpoB</i> His526Asp	-	1 (16,7)	
	<i>rpoB</i> Ser531Leu	26 (96,3)	3 (50,0)	
	нд	1 (3,7)	1 (16,7)	

Примечание: INH – изониазид, RIF – рифампицин; нд – нет данных. \* – различия показателей статистически значимы ( $p < 0,05$ )

Анализ клинико-эпидемиологических данных пациентов в зависимости от генотипа штаммов *M. tuberculosis* выявил значимые различия показателя «возраст» между группами (Таблицы 23, 24).

Таблица 23 – Генотипы *M. tuberculosis* и характеристика пациентов в Вологодской области

Показатель	Число штаммов (%)		p
	Beijing (n=51)	non-Beijing (n=31)	
Пол			
Мужчины	29 (56,9)	22 (71,0)	0,202
Женщины	22 (43,1)	9 (29,0)	
Возраст, лет			
18–30	13 (25,5)	-	0,032*
31–40	12 (23,5)	10 (32,3)	
41–50	9 (17,6)	9 (29,0)	
51–60	10 (19,6)	9 (29,0)	
старше 60	7 (13,7)	3 (9,7)	
ВИЧ-позитивные	8 (15,7)	1 (3,2)	0,081
Место проживания			
Город	32 (62,7)	18 (58,1)	0,674
Сельская местность	19 (37,3)	13 (41,9)	

Таблица 24 – Генотипы *M. tuberculosis* и клинические формы туберкулеза

Показатель	Число штаммов (%)		p
	Beijing (n=51)	non-Beijing (n=31)	
ИТЛ	30 (58,8)	17 (54,8)	0,949
ДТЛ	11 (21,6)	8 (25,8)	
ОТЛ	3 (5,9)	2 (6,5)	
ФКТЛ	2 (3,9)	2 (6,5)	
Прочие	5 (9,8)	2 (6,5)	

Примечание: \* – различия показателей статистически значимы ( $p < 0,05$ )

Проведен сравнительный анализ распределения основных генотипов у штаммов *M. tuberculosis* больных туберкулезом в Вологде и на территориях Вологодской области: северо-западе (4 района), юго-западе (6 районов), в центральной части (8 районов) и на востоке (8 районов) (Таблица 25).

Таблица 25 – Территориальное распределение штаммов *M. tuberculosis*

Генотип	Число штаммов (%)				Вологда n=33
	северо-запад n=11	юго-запад n=17	центр n=11	восток n=10	
Beijing	9 (81,8)	8 (47,1)	7 (63,6)	5 (50,0)	22 (66,7)
B0/W148	2 (18,2)	1 (5,9)	-	1 (10,0)	2 (6,1)
Central Asian/Russian	5 (45,5)	7 (41,2)	5 (45,5)	3 (30,0)	14 (42,4)
субтип CAO	2 (18,2)	-	1 (9,1)	-	4 (12,1)
другие	-	-	1 (9,1)	1 (10,0)	2 (6,1)
non-Beijing	2 (18,2)	9 (52,9)	4 (36,4)	5 (50,0)	11 (33,3)
T	-	-	-	3 (30,0)	6 (18,2)
LAM	-	4 (23,5)	1 (9,1)	2 (20,0)	2 (6,1)
Ural	-	2 (11,8)	1 (9,1)	-	1 (3,0)
Haarlem	1 (9,1)	2 (11,8)	-	-	2 (6,1)
Unknown	1 (9,1)	1 (5,9)	2 (18,2)	-	-

Штаммы генотипа Beijing доминировали на территориях, обладающих наиболее развитой транспортной инфраструктурой (северо-запад области – 81,8%), однако, различия не были статистически значимыми ( $p=0,357$ ). В Вологде штаммы non-Beijing представляли все основные генетические семейства *M. tuberculosis* – T, LAM, Ural и Haarlem (Таблица 25).

### 3.3. Молекулярно-генетическая характеристика популяции возбудителя туберкулеза в Калининградской области

Исследовано 73 штамма *M. tuberculosis*, выделенных от больных (в т.ч. от четырех ВИЧ-положительных), преимущественно ИТЛ (73,9%), в Калининградской области в 2015 г. Медианный возраст пациентов, среди которых преобладали мужчины (72,6%), составил 37 лет (95% ДИ 29–48 лет).

Установлена принадлежность 63,0% (46/73) штаммов *M. tuberculosis* (в т.ч. трёх штаммов от ВИЧ-положительных пациентов) к генотипу Beijing. Подавляющее большинство штаммов генотипа Beijing принадлежали к современной сублинии (95,7%; 44/46), в частности, к кластерам Central Asian/Russian (в т.ч. субтип CAO) (47,7%; 21/44) и B0/W148 (38,6%; 17/44) (Таблица 26).

Таблица 26 – Генотипы и лекарственная устойчивость штаммов *M. tuberculosis* в Калининградской области

Генотип	Число штаммов			
	ЛЧ (n=26)	М/П (n=14)	МЛУ (n=33)	Всего (n=73)
Beijing	12	8	26	46
современная сублиния:	11	8	25	44
B0/W148	-	-	17	17
Central Asian/Russian	6	8	3	17
субтип CAO	-	-	4	4
другие	5	-	1	6
древняя сублиния	1	-	1	2
non-Beijing	14	6	7	27
T	7	1	3	11
LAM	5	2	3	10
Ural	1	2	1	4
S	-	1	-	1
X	1	-	-	1

Примечание: \* М/П – моно- или полирезистентность

Все три штамма генотипа Beijing, выделенные от ВИЧ-положительных пациентов, относились к кластеру Central Asian/Russian.

MIRU-VNTR<sub>24</sub> – типирование 46 штаммов генотипа Beijing выявило 24 варианта профилей (NGI=0,904), из которых шесть были представлены кластерами (Рисунок 13).

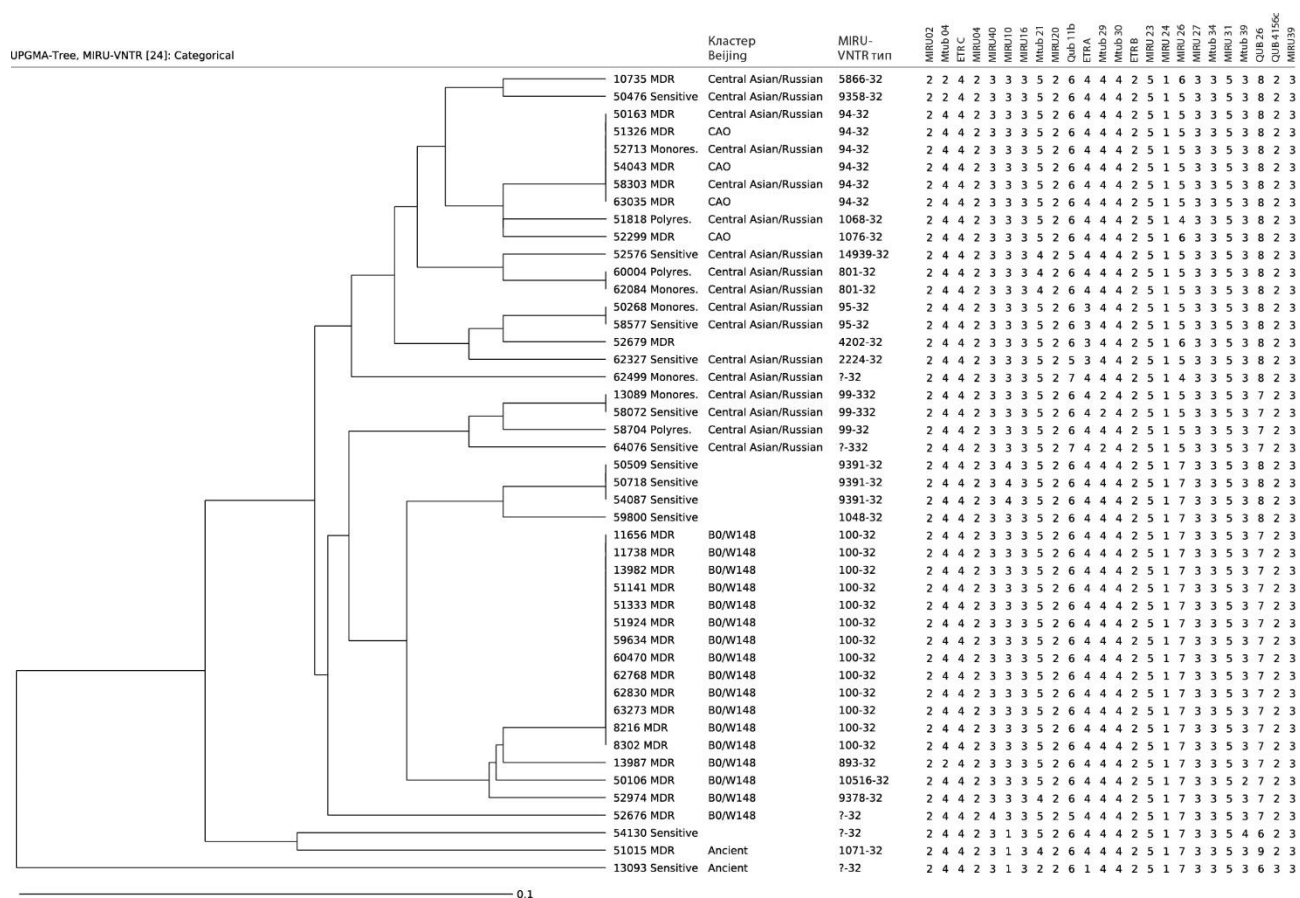


Рисунок 13 – Дендрограмма профилей MIRU-VNTR<sub>24</sub> штаммов *M. tuberculosis* Beijing в Калининградской области

Наиболее крупный кластер 100-32 включал 76,5% (13/17) штаммов B0/W148 (все обладали МЛУ); кластер 94-32 (28,8%; 6/21) Central Asian/Russian (в т.ч. субтип CAO) – включал 4 из 6 (66,7%) МЛУ-штаммов. У трёх ЛЧ-штаммов современной сублинии Beijing (не относящихся к B0/W148 и Central Asian/Russian) определен паттерн 9391-32. Два штамма древней сублинии Beijing имели разные профили MIRU-VNTR<sub>24</sub> (Рисунок 13).

У 27 штаммов non-Beijing выявлено 15 сполиготипов 5 генетических семейств – T, LAM, Ural, X и S (Таблица 27). Наиболее крупными были сполигокластеры SIT53 и SIT42 семейств T и LAM соответственно. В группе T превалировали ЛЧ-штаммы (63,6%), половина штаммов LAM проявляли ЛУ, 30% – МЛУ. Группа



Таблица 28 – Мутации МЛУ-штаммов *M. tuberculosis* в Калининградской области

ПТП	Мутации	Число штаммов (%)		P
		Beijing (n=26)	non-Beijing (n=7)	
INH	<i>katG</i> Ser315Thr	25 (96,2)	4 (57,1)	0,023*
	<i>katG</i> Ser315Thr, <i>inhA</i> C (-15) T	1 (3,8)	3 (42,9)	
RIF	<i>rpoB</i> His526Tyr	2 (7,7)	3 (42,9)	0,052
	<i>rpoB</i> Ser531Leu	24 (92,3)	4 (57,1)	

Примечание: INH – изониазид, RIF – рифампицин; \* – различия показателей статистически значимы ( $p < 0,05$ )

Анализ клинико-эпидемиологических данных пациентов в зависимости от генотипа штаммов *M. tuberculosis* не выявил статистически значимых различий между группами (Таблица 29).

Таблица 29 – Генотип *M. tuberculosis* и характеристика пациентов в Калининградской области

Показатель	Число штаммов (%)		p
	Beijing (n=46)	non-Beijing (n=27)	
Пол			
Мужчины	35 (76,1)	18 (66,7)	0,384
Женщины	11 (23,9)	9 (33,3)	
Возраст, лет			
18–30	13 (28,3)	9 (33,3)	0,815
31–40	15 (32,6)	6 (22,2)	
41–50	10 (21,7)	8 (29,6)	
51–60	7 (15,2)	3 (11,1)	
старше 60	1 (2,2)	1 (3,7)	
ВИЧ-позитивные	3 (6,5)	1 (3,7)	0,610
Клинические формы туберкулеза			
ИТЛ	34 (73,9)	20 (74,1)	0,745
ДТЛ	7 (15,2)	3 (11,1)	
ОТЛ	1 (2,2)	2 (7,4)	
ФКТЛ	1 (2,2)	-	
прочие	3 (6,5)	2 (7,4)	

### 3.4. Молекулярно-генетическая характеристика популяции возбудителя туберкулеза в Республике Карелия

Изучены 67 штаммов *M. tuberculosis*, выделенных от больных преимущественно ИТЛ (85,1%) в 2014 году в Республике Карелия. Медианный возраст пациентов составил 41 год (95% ДИ 33–50 лет); преобладали мужчины (70,1%).

Более половины (53,7%; 36/67) штаммов *M. tuberculosis* принадлежали к генетическому семейству Beijing (Таблица 30), представленному сполиготипами SIT1 (кластер штаммов, n=35) и SIT265.

В целом в Республике Карелия наиболее распространенными были штаммы *M. tuberculosis* генотипа Beijing современной сублинии (33/36) среди которых преобладали кластеры Central Asian/Russian (включая субтип CAO) (54,5%; 18/33) и B0/W148 (39,4%; 13/33) (Таблица 30).

Таблица 30 – Генотипы и лекарственная устойчивость штаммов *M. tuberculosis* в Республике Карелия

Генотип	Число штаммов			
	ЛЧ (n=28)	М/П (n=5)	МЛУ (n=34)	Всего (n=67)
Beijing	5	3	28	36
современная сублиния:	5	3	25	33
B0/W148	-	1	12	13
Central Asian/Russian	4	2	9	15
субтип CAO	-	-	3	3
другие	1	-	1	2
древняя сублиния	-	-	3	3
non-Beijing	23	2	6	31
T	10	-	-	10
LAM	4	1	3	8
Ural	6	-	3	9
Haarlem	2	1	-	3
X	1	-	-	1

Примечание: \* М/П – моно- или полирезистентность

Генотипирование 36 штаммов генотипа Beijing *M. tuberculosis* по 24 локусам MIRU-VNTR выявило 18 вариантов родственных паттернов (HGI = 0,881) (Рисунок 14).

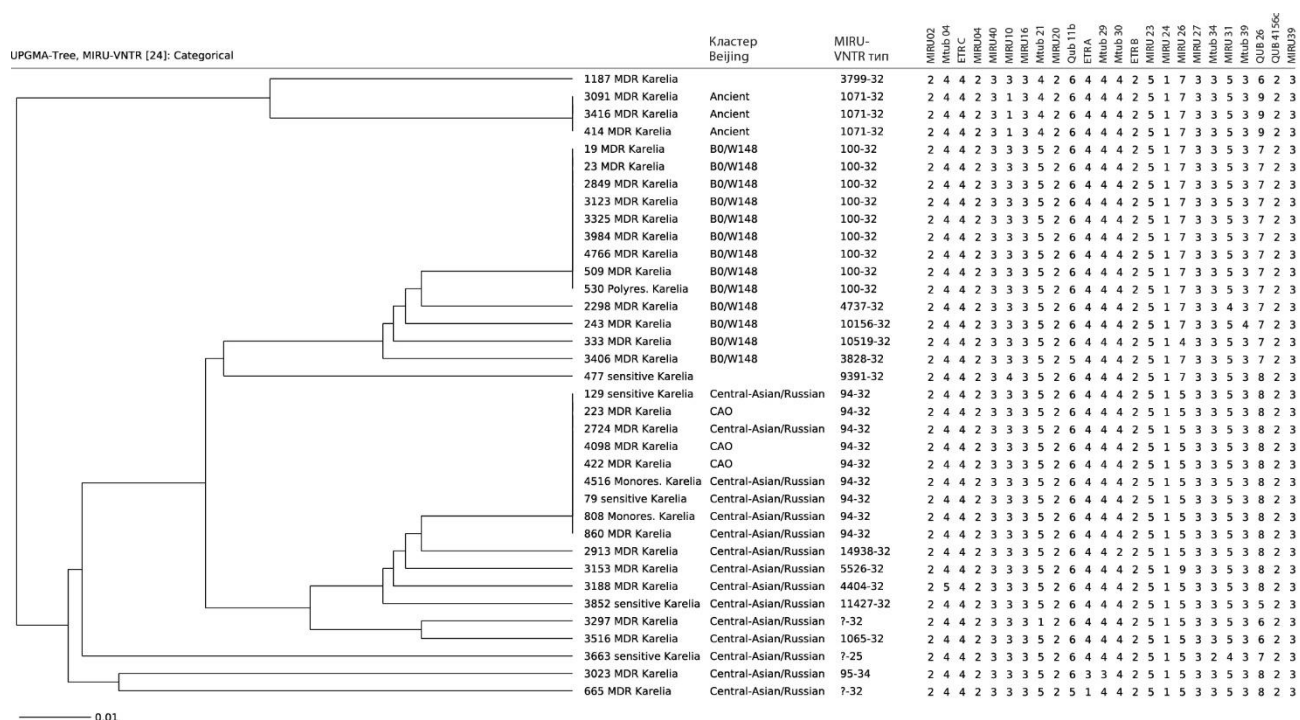


Рисунок 14 – Дендрограмма профилей MIRU-VNTR<sub>24</sub> штаммов *M. tuberculosis* Beijing в Республике Карелия

Как видно на рисунке 14, штаммы генотипа Beijing современной сублинии в равных долях (по 27,3%; 9/33) были представлены кластерами 94-32 (Central Asian/Russian и CAO) и 100-32 (B0/W148), кластер 1071-32 включал штаммы древней сублинии; остальные штаммы имели индивидуальные цифровые профили MIRU-VNTR<sub>24</sub>.

У 31 штамма *M. tuberculosis* non-Beijing выявлено 19 профилей сполитипирования, из них семь представлены кластерами (Таблица 31).

Наиболее крупный кластер SIT40 группы штаммов non-Beijing принадлежал семейству T (32,3%; 10/31), представленному только ЛЧ-штаммами. Среди штаммов генотипа Ural (29,0%; 9/31) было выявлено три сполитипофиля, ранее не описанные в международной базе данных SITVIT2. Генотип LAM (25,8%) был представлен семью сполитипами. Остальные штаммы принадлежали семействам Haarlem и X (Таблица 31).





Таблица 32 – Мутации МЛУ-штаммов *M. tuberculosis* в Республике Карелия

ПТП	Мутации	Число штаммов (%)		P
		Beijing (n=28)	non-Beijing (n=6)	
INH	<i>katG</i> Ser315Thr	26 (92,9)	2 (33,3)	0,004*
	<i>katG</i> Ser315Thr, <i>inhA</i> C (-15) T	2 (7,1)	4 (66,7)	
RIF	<i>rpoB</i> His526Asp	-	1 (16,7)	0,168
	<i>rpoB</i> Leu533Pro	1 (3,6)	-	
	<i>rpoB</i> Ser531Leu	23 (82,1)	4 (66,7)	
	нд	4 (14,3)	1 (16,7)	

Примечание: INH – изониазид, RIF – рифампицин; нд – нет данных. \* – различия показателей статистически значимы ( $p < 0,05$ )

Группы больных туберкулезом в Республике Карелия значимо не различались в зависимости от генотипа возбудителя (Таблица 33).

Таблица 33 – Генотип *M. tuberculosis* и характеристика пациентов в Республике Карелия

Характеристика	Число штаммов (%)		P
	Beijing (n=36)	non- Beijing (n=31)	
Пол			
Мужчины	28 (77,8)	19 (61,3)	0,141
Женщины	8 (22,2)	12 (38,7)	
Возрастные группы, лет			
18–30	7 (19,4)	5 (16,1)	0,671
31–40	9 (25,0)	9 (29,0)	
41–50	10 (27,8)	12 (38,7)	
51–60	6 (16,7)	4 (12,9)	
старше 60	4 (11,1)	1 (3,2)	
Клинические формы туберкулеза			
ИТЛ	30 (83,3)	27 (87,1)	0,773
ДТЛ	2 (5,6)	2 (6,5)	
ОТЛ	2 (5,6)	-	
ФКТЛ	1 (2,8)	1 (3,2)	
прочие	1 (2,8)	1 (3,2)	

### 3.5. Молекулярно-генетическая характеристика популяции возбудителя туберкулеза в Республике Коми

Изучены 130 штаммов *M. tuberculosis*, выделенных в 2017 году в Республике Коми от больных впервые выявленным туберкулезом (в т.ч. 11 ВИЧ-позитивных), преимущественно, ИТЛ (51,5%) и ДТЛ (26,2%). Медианный возраст пациентов составил 42 года (95% ДИ 35–54 лет); преобладали мужчины (73,8).

Определена принадлежность 56,2% (73/130) штаммов *M. tuberculosis* к генотипу Beijing; из них к современной сублинии принадлежали 129 штаммов (Таблица 34). Единственный штамм древней сублинии Beijing обладал наиболее распространенным споллигопрофилем SIT1.

Таблица 34 – Генотипы и лекарственная устойчивость штаммов *M. tuberculosis* в Республике Коми

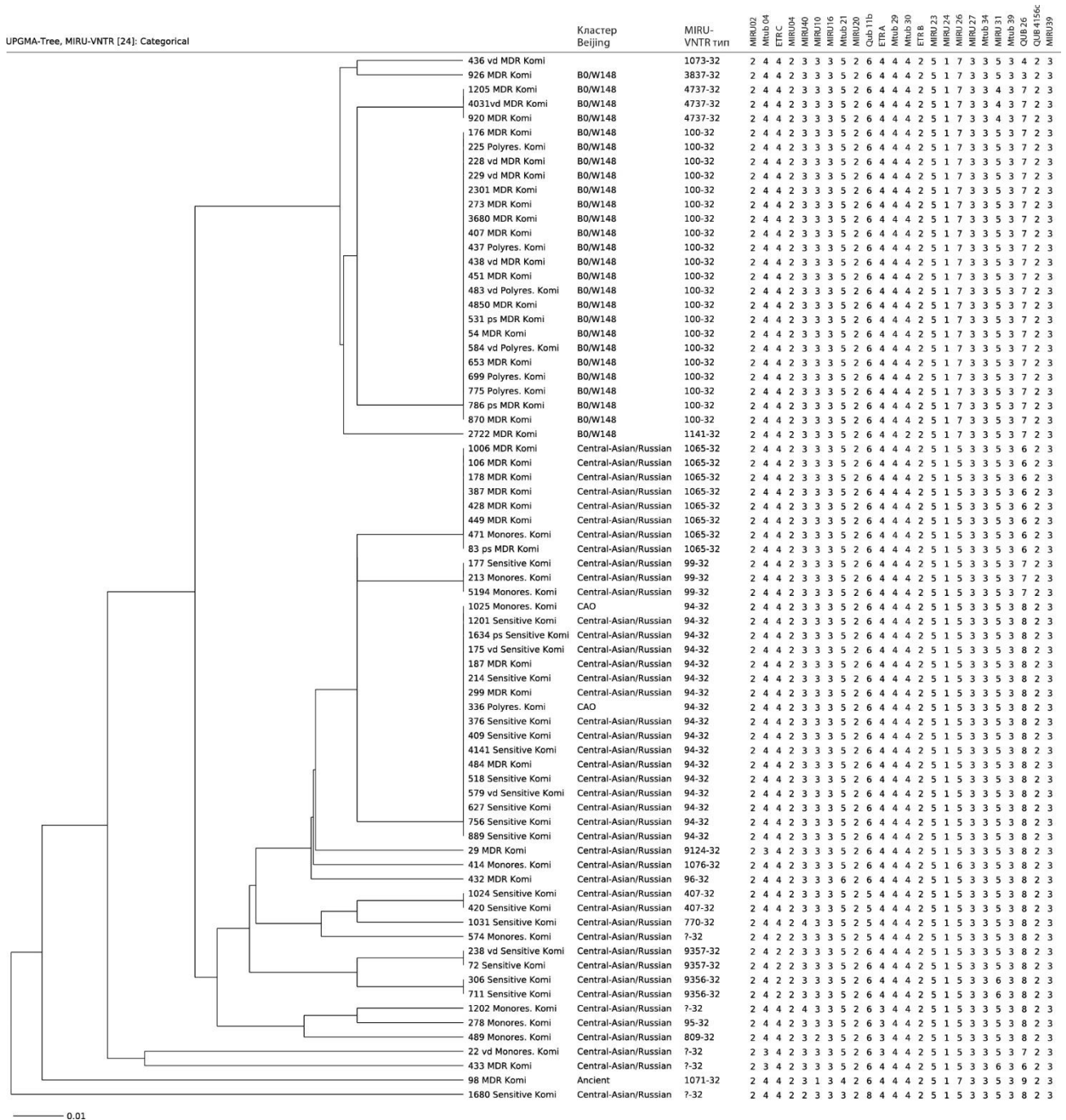
Генотип	Число штаммов			
	ЛЧ (n=64)	М/П (n=26)	МЛУ (n=40)	Всего (n=130)
Beijing	21	17	35	73
<i>современная сублиния:</i>	21	17	34	72
B0/W148	-	6	20	26
Central Asian/Russian	21	9	13	43
субтип CAO	-	2	-	2
другие	-	-	1	1
<i>древняя сублиния</i>	-	-	1	1
non-Beijing	43	9	5	57
T	20	1	2	23
LAM	11	4	1	16
Ural	6	2	1	9
Haarlem	5	2	-	7
X	1	-	-	1
Unknown	-	-	1	1

Примечание: М/П – моно- или полирезистентность

Более половины (61,6%; 45/73) штаммов генотипа Beijing принадлежали к кластеру Central Asian/Russian (в т.ч. субтип CAO), 35,6% (26/73) – B0/W148 (Таблица 34). Эти кластеры включали 4 (36,4%) и 2 (18,2%, оба МЛУ) из 11 штаммов, выделенных от ВИЧ-позитивных пациентов соответственно.

Как видно из таблицы 34, доля МЛЮ-штаммов Beijing (47,9%; 35/73) статистически значимо превышала таковую non-Beijing (8,8%; 5/57) ( $p < 0,001$ ;  $OR = 9,58 [3,43-26.73]$ ). Доли МЛЮ-штаммов кластеров Central Asian/Russian (включая субтип CAO) и B0/W148 значимо различались ( $p < 0,001$ ;  $OR = 0,12 [0,04-0,34]$ ), составляя 28,9% (13/45) и 76,9% (20/26) соответственно.

MIRU-VNTR<sub>24</sub> типирование 73 штаммов Beijing *M. tuberculosis* выявило 23 варианта родственных паттернов (HGI =0,854) (Рисунок 15).





сполигопрофилем SIT4164 были выделены у пациентов, проживающих в столице региона Сыктывкаре, на соседних улицах, что может свидетельствовать об общем источнике инфекции.

Семейство X и Unknown включали по одному штамму (Таблица 35). Среди штаммов non-Beijing, выделенных от ВИЧ-позитивных, выявлены по два штамма SIT42 и SIT254 (LAM) и один SIT280 (T).

Устойчивость к изониазиду и рифампицину у большинства (92,5%, 37/40) МЛУ-штаммов *M. tuberculosis* была обусловлена заменами *katG* Ser315Thr и *rpoB* Ser531Leu соответственно (Таблица 36).

Таблица 36 – Мутации МЛУ-штаммов *M. tuberculosis* в Республике Коми

ПТП	Мутации	Число штаммов, (%)		P
		Beijing (n=35)	non-Beijing (n=5)	
INH	<i>katG</i> Ser315Thr	33 (94,3)	5 (100)	1,000
	<i>katG</i> Ser315Thr, <i>inhA</i> C (-15) T	2 (5,7)	-	
RIF	<i>rpoB</i> Asp516 Tyr	1 (2,9)	-	0,061
	<i>rpoB</i> His526Asp	-	1 (20,0)	
	<i>rpoB</i> Ser531Leu	33 (94,3)	4 (80,0)	
	<i>rpoB</i> Ser531 Trp	1 (2,9)	-	

Анализ клинико-эпидемиологических данных пациентов в зависимости от генотипа штаммов *M. tuberculosis* выявил статистически значимые различия между группами лишь для показателя «пол» пациентов ( $p = 0,048$ ) (Таблица 37).

Таблица 37 – Генотип *M. tuberculosis* и характеристика пациентов в Республике Коми

Показатель	Число штаммов (%)		P
	Beijing (n=73)	non-Beijing (n=57)	
Пол			
Мужчины	49 (67,1)	47 (82,5)	0,048*
Женщины	24 (32,9)	10 (17,5)	
Возраст, лет			
18–30	10 (13,7)	6 (10,5)	0,102
31–40	29 (39,7)	15 (26,3)	
41–50	14 (19,2)	11 (19,3)	
51–60	11 (15,1)	20 (35,1)	
старше 60	9 (12,3)	5 (8,8)	
ВИЧ-позитивные	6 (8,2)	5 (8,8)	0,911

## Продолжение таблицы 37

Показатель	Число штаммов (%)		P
	Beijing (n=73)	non-Beijing (n=57)	
Пол			
Место проживания			
Город	50 (68,5)	35 (61,4)	0,400
Сельская местность	23 (31,5)	22 (38,6)	
Клинические формы туберкулеза			
ИТЛ	37 (50,7)	30 (52,6)	0,084
ДТЛ	14 (19,2)	20 (35,1)	
ОТЛ	14 (19,2)	5 (8,8)	
ФКТЛ	2 (2,7)	-	
прочие	6 (8,2)	2 (3,5)	

Примечание: \* – различия показателей статистически значимы ( $p < 0,05$ )

Республика Коми отличается от других субъектов СЗФО этническим составом: здесь проживает многочисленная финно-угорская народность – коми (208 580 чел.) (<https://istina.msu.ru/publications/article/405612547/>), чья доля превышает 50% в четырех районах республики.

В этой связи проведен анализ территориального распределения основных генотипов возбудителя туберкулеза с учетом этнического состава населения в республике. Штаммы *M. tuberculosis*, выделенные от больных туберкулезом, были распределены на три группы в зависимости от этнической характеристики пациентов:

I – основная доля коренного населения – коми (Ижемском (88,9%), Усть-Куломском (76,9%), Корткеросском (68,4%), Сысольском (64,8%);

II – численность коми и других народностей существенно не различалась;

III – преобладали русские (более 60%).

Для объективного анализа были исключены штаммы, полученные от больных проживающих в г. Сыктывкар (Таблица 38).

Таблица 38 – Распределение генотипов *M. tuberculosis* в зависимости от этнического состава населения Республика Коми

Показатель	Число штаммов (%)		P
	Beijing (n=73)	non-Beijing (n=57)	
Пол			
Мужчины	49 (67,1)	47 (82,5)	0,048*
Женщины	24 (32,9)	10 (17,5)	
Возраст, лет			
18–30	10 (13,7)	6 (10,5)	0,102
31–40	29 (39,7)	15 (26,3)	
41–50	14 (19,2)	11 (19,3)	
51–60	11 (15,1)	20 (35,1)	
старше 60	9 (12,3)	5 (8,8)	
ВИЧ-позитивные	6 (8,2)	5 (8,8)	0,911
Место проживания			
Город	50 (68,5)	35 (61,4)	0,400
Сельская местность	23 (31,5)	22 (38,6)	
Клинические формы туберкулеза			
ИТЛ	37 (50,7)	30 (52,6)	0,084
ДТЛ	14 (19,2)	20 (35,1)	
ОТЛ	14 (19,2)	5 (8,8)	
ФКТЛ	2 (2,7)	-	
прочие	6 (8,2)	2 (3,5)	

Доля штаммов *M. tuberculosis* генотипа Beijing была выше в третьей группе (61,7%). В структуре генотипа Beijing также выявлены различия: так, если в I группе преобладал кластер 94-32 (42,9%), в группах II и III на его долю приходилось 28,6% и 29,8% соответственно ( $p = 0,3380$ ). Штаммы кластера B0/W148 выявляли реже в I группе больных ТБ в районах давнего расселения народа коми (7,1%); в группах II и III – 21,4% и 25,5% соответственно ( $p = 0,0764$ ). В группе I были обнаружены в основном штаммы Haarlem (21,4%) и Ural (14,3%), в группе II – LAM (28,6%). Третья группа оказалась наиболее гетерогенной по составу генотипов возбудителя. Сравнение лекарственной чувствительности штаммов *M. tuberculosis* показало, что в группе I преобладали ЛЧ штаммы (71,4%, 10/14), в группе II ЛЧ- и ЛУ-штаммы представлены поровну, в группе III преобладали ЛУ-штаммы (65,9%), МЛУ – 44,7% (21/47).



### 3.6. Молекулярно-генетическая характеристика популяции возбудителя туберкулеза в Мурманской области

Изучено 67 штаммов *M. tuberculosis*, выделенных в Мурманской области в 2017 году от больных (в т.ч. от шести ВИЧ-положительных), преимущественно ИТЛ (82,1%). Медианный возраст пациентов составил 42 года (95% ДИ 36–52 лет); преобладали мужчины (74,6).

К генотипу Beijing современной сублинии принадлежали 52,2% (35/67) штаммов *M. tuberculosis* (в т.ч. четыре штамма ВИЧ-положительных пациентов). (Таблица 39).

К кластеру Central Asian/Russian (включая штамм субтипа CAO, устойчивый к изониазиду и этионамиду) были отнесены 34,3% (23/67), к кластеру B0/W148 – 10,4% (7/67) штаммов Beijing.

Доли МЛУ-штаммов кластеров B0/W148 и Central Asian/Russian генотипа Beijing существенно различались и составляли 85,7% (6/7) и 36,4% (8/22) ( $p=0,026$ ) соответственно.

Таблица 39 – Генотипы и лекарственная устойчивость штаммов *M. tuberculosis* в Мурманской области

Генотип	Число штаммов			
	ЛЧ (n=41)	М/П (n=8)	МЛУ (n=18)	Всего (n=67)
Beijing	17	3	15	35
современная сублиния:	17	3	15	35
B0/W148	-	1	6	7
Central Asian/Russian	13	1	8	22
субтип CAO	-	1	-	1
другие	4	-	1	5
non-Beijing	24	5	3	32
T	6	-	-	6
LAM	5	-	-	5
Ural	9	4	-	13
Haarlem	1	1	-	2
X	1	-	-	1
Unknown	2	-	3	5

Примечание: М/П – моно- или полирезистентность

MIRU-VNTR-типирование 35 штаммов Beijing выявило 13 вариантов профилей (HGI=0,79), из которых почти все принадлежали к известным типам согласно номенклатуре MLVA MtbC 15-9 (Рисунок 16).

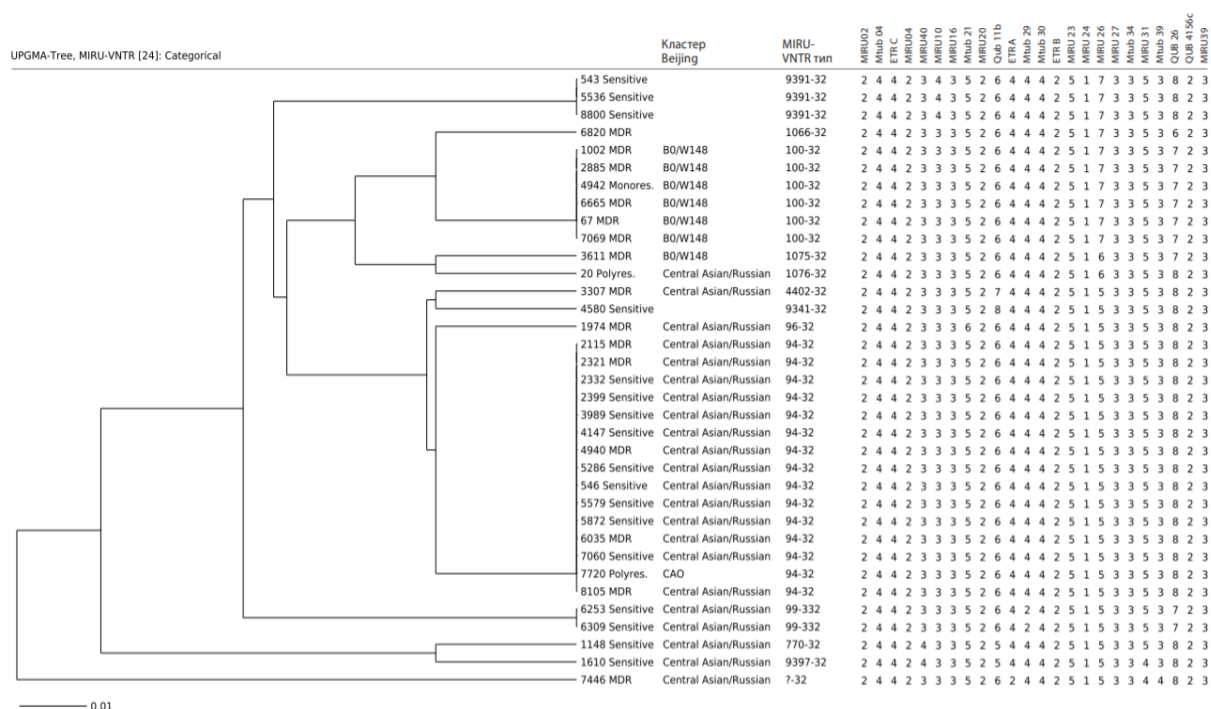


Рисунок 16 – Дендрограмма профилей MIRU-VNTR<sub>24</sub> штаммов *M. tuberculosis* Beijing в Мурманской области

Наиболее распространенными в изученной субпопуляции *M. tuberculosis* Beijing были паттерны MIRU-VNTR<sub>24</sub> – 94-32 (42,9%; 15/35) и 100-32 (17,1%; 6), которые включали штаммы кластеров Central Asian/Russian (в т.ч. субтип CAO; МЛУ – 6; 40,0%) B0/W148 (МЛУ – 5; 83,3%) соответственно. У трёх штаммов (все ЛЧ), не относящихся к этим кластерам, определен паттерн MIRU-VNTR<sub>24</sub> – 9391-32 (Рисунок 16).

У 32 штаммов non-Beijing *M. tuberculosis* выявлено 17 профилей сполитипирования (6 кластеров), представляющих генетические семейства Ural, T, LAM, Haarlem и X (Таблица 40).



С учетом выявленной принадлежности штаммов *M. tuberculosis* к группам Beijing и non-Beijing был проведен анализ клинико-эпидемиологических данных пациентов, в результате которого статистически значимые различия между группами не установлены (Таблица 42).

Таблица 42 – Генотипы *M. tuberculosis* и характеристика пациентов в Мурманской области

Показатель	Число штаммов (%)		P
	Beijing (n=35)	non-Beijing (n=32)	
Пол			
Мужчины	25 (71,4)	25 (78,1)	0,584
Женщины	10 (28,6)	7 (21,9)	
Возраст, лет			
18–30	3 (8,6)	4 (12,5)	0,932
31–40	15 (42,9)	11 (34,4)	
41–50	8 (22,9)	8 (25,0)	
51–60	5 (14,3)	4 (12,5)	
старше 60	4 (11,4)	5 (15,6)	
ВИЧ-позитивные	4 (11,4)	2 (6,2)	0,459
Место проживания			
Город	35 (100,0)	31 (96,9)	0,293
Сельская местность	-	1 (3,1)	
Клинические формы туберкулеза			
ИТЛ	29 (82,9)	26 (81,2)	0,186
ДТЛ	1 (2,9)	4 (12,5)	
ОТЛ	2 (5,7)	-	
ФКТЛ	1 (2,9)	2 (6,2)	
Прочие	2 (5,7)	-	

### 3.7. Молекулярно-генетическая характеристика популяции возбудителя туберкулеза в Новгородской области

Изучены штаммы *M. tuberculosis*, выделенные от 45 (в т.ч. 11 ВИЧ-положительных) больных, преимущественно, ИТЛ (57,8%) и ДТЛ (31,1%), в 2019 году в Новгородской области. Медианный возраст пациентов составил 37 лет (95% ДИ 32 – 46 лет); преобладали мужчины (66,7%).

Более половины штаммов *M. tuberculosis* (в т.ч. семь штаммов от ВИЧ-положительных пациентов) принадлежали к генотипу Beijing (55,6%; 25/45), остальные – к группе non-Beijing.

В популяции *M. tuberculosis* Новгородской области выявлены штаммы генотипа Beijing только современной сублинии – кластеры Central Asian/Russian, включая субтип CAO, (60,0%; 15/25) и B0/W148 (40,0%; 10/25) (Таблица 43). Среди МЛУ-штаммов доля Beijing составила 70,8%.

Таблица 43 – Генотипы и лекарственная устойчивость штаммов *M. tuberculosis* в Новгородской области

Генотип	Число штаммов			
	ЛЧ n=19	М/П n=2	МЛУ n=24	Всего n=45
Beijing	7	1	17	25
современная сублиния:	7	1	17	25
B0/W148	-	1	9	10
Central Asian/Russian	7	-	5	12
субтип CAO	-	-	3	3
non-Beijing	12	1	7	20
T	5	-	-	5
LAM	4	-	-	4
Ural	2	-	2	4
Haarlem	-	-	3	3
Unknown	1	1	2	4

Примечание: М/П – моно- или полирезистентность

Кластеры B0/W148 и Central Asian/Russian включали, соответственно, три и четыре штамма Beijing, выделенных от ВИЧ-положительных больных туберкулезом.



Анализ мутаций устойчивости в зависимости от генотипа возбудителя не установил статистически значимых различий между группами (Таблица 45).

Таблица 45 – Мутации МЛУ-штаммов *M. tuberculosis* в Новгородской области

ПТП	Мутации	Число штаммов (%)		P
		Beijing (n=17)	non-Beijing (n=7)	
INH	<i>katG</i> Ser315Thr	17 (100)	5 (71,4)	0,076
	<i>katG</i> Ser315Thr, <i>inhA</i> C (-15)T	-	2 (28,6)	
	<i>rpoB</i> Asp516Tyr	-	1 (14,3)	
	<i>rpoB</i> Asp516Val	-	2 (28,6)	
	<i>rpoB</i> His526Leu	1 (5,9)	-	
	<i>rpoB</i> Ser531Leu	15 (88,2)	4 (57,1)	
	<i>rpoB</i> Ser531Trp	1 (5,9)	-	

Примечание: INH – изониазид, RIF – рифампицин

Сравнение показателей пола, возрастных групп и клинических диагнозов в зависимости от генотипа возбудителя не выявило статистически значимых различий между группами (Таблица 46).

Таблица 46 – Генотип *M. tuberculosis* и характеристика пациентов в Новгородской области

Показатель	Число штаммов (%)		P
	Beijing (n=25)	non-Beijing (n=20)	
Пол			
Мужчины	18 (72,0)	12 (60,0)	0,527
Женщины	7 (28,0)	8 (40,0)	
Возрастные группы, лет			
18–30	6 (24,0)	1 (5,0)	0,349
31–40	8 (32,0)	10 (50,0)	
41–50	7 (28,0)	4 (20,0)	
51–60	3 (12,0)	3 (15,0)	
старше 60	1 (4,0)	2 (10,0)	
ВИЧ-позитивные	7 (28,0)	4 (20,0)	0,026*
Клинические формы туберкулеза			
ИТЛ	16 (64,0)	10 (50,0)	0,360
ДТЛ	5 (20,0)	9 (45,0)	
ОТЛ	1 (4,0)	-	
ФКТЛ	1 (4,0)	-	
Прочие	2 (8,0)	1 (5,0)	

Примечание: \* – различия показателей статистически значимы ( $p < 0,05$ )

### 3.8. Молекулярно-генетическая характеристика популяции возбудителя туберкулеза в Псковской области

Исследовано 232 штамма *M. tuberculosis*, выделенных в разные периоды в Псковской области (65 – в 2008–2009, 89 – в 2015 г. и 78 – в 2018 г.) от больных, преимущественно, ИТЛ (69,2%, 69,7%, 64,1%). Анализ эпидемиологических показателей (пола, возрастных групп, клинических диагнозов) в зависимости от периода наблюдения не выявил статистически значимых различий между группами (Таблица 47).

Таблица 47 – Генотип *M. tuberculosis* и характеристика пациентов в Псковской области

Характеристика	Число штаммов (%)			P
	2008–2009	2015	2018	
Пол				
Женщины	23 (35,4)	26 (29,2)	22 (28,2)	0,696
Мужчины	44 (67,7)	63 (70,8)	56 (71,8)	
Возраст, лет				
18–30	19 (29,2)	12 (13,5)	12 (15,4)	>0,05
31–40	18 (27,7)	33 (37,1)	17 (21,8)	
41–50	12 (18,5)	15 (16,9)	22 (28,2)	
51–60	10 (15,4)	23 (25,8)	18 (23,1)	
старше 60	6 (9,2)	6 (6,7)	9 (11,5)	
Клинические формы туберкулеза				
ДТЛ	14 (21,5)	17 (19,1)	17 (21,8)	>0,05
ОТЛ	2 (3,1)	8 (9,0)	8 (10,3)	
ИТЛ	45 (69,2)	62 (69,7)	50 (64,1)	
ФКТЛ	1 (1,5)	1 (1,1)	2 (2,6)	
Прочие	3 (4,6)	1 (1,1)	1 (1,3)	

В целом (за период 2008–2018 гг.) установлена принадлежность 49,1% (114/232) штаммов *M. tuberculosis* к генотипу Beijing (Таблица 48).



Таблица 48 – Генотипы и лекарственная чувствительность штаммов *M. tuberculosis* в Псковской области

Генотип	Число штаммов (%)											
	2008–2009				2015				2018			
	ЛЧ n=34	М/П n=10	МЛУ n=21	Всего n=65	ЛЧ n=56	М/П n=17	МЛУ n=16	Всего n=89	ЛЧ n=44	М/П n=17	МЛУ n=17	Всего n=78
Beijing	6 (20,7)	7 (24,1)	16 (55,2)	29 (44,6)	15 (37,5)	13 (32,5)	12 (30,0)	40 (44,9)	14 (31,1)	14 (31,1)	17 (37,8)	45 (57,7)
<i>современная сублиния:</i>	6 (21,4)	7 (25,0)	15 (53,6)	28 (43,1)	15 (39,5)	13 (34,2)	10 (26,3)	38 (42,7)	14 (31,8)	14 (31,8)	16 (36,4)	44 (56,4)
ВО/W148	-	1 (12,5)	7 (87,5)	8 (12,3)	-	2 (33,3)	4 (66,7)	6 (6,7)	-	1 (12,5)	7 (87,5)	8 (10,3)
Central Asian/Russian	3 (23,1)	4 (30,8)	6 (46,2)	13 (20,0)	14 (58,3)	6 (25,0)	4 (16,7)	24 (26,9)	12 (46,2)	5 (19,2)	9 (34,6)	26 (33,3)
субтип CAO	-	-	-	-	-	2 (100)	-	2 (2,2)	-	2 (100)	-	2 (2,6)
Другие	3 (42,9)	2 (28,6)	2 (28,6)	7 (10,8)	1 (16,7)	3 (50,0)	2 (33,3)	6 (6,7)	2 (25,0)	6 (75,0)	-	8 (10,3)
<i>древняя сублиния</i>	-	-	1 (100)	1 (1,5)	-	-	2 (100)	2 (2,2)	-	-	1 (100)	1 (1,3)
non-Beijing	28 (77,8)	3 (8,3)	5 (13,9)	36 (55,4)	41 (83,7)	4 (8,2)	4 (8,2)	49 (55,1)	30 (90,9)	3 (9,1)	-	33 (42,3)
Т	11 (91,7)	1 (8,3)	-	12 (18,5)	15 (88,2)	2 (11,8)	-	17 (19,1)	8 (100)	-	-	8 (10,3)
LAM	5 (55,6)	2 (22,2)	2 (22,2)	9 (13,8)	14 (73,7)	2 (10,5)	3 (15,8)	19 (21,3)	11 (84,6)	2 (15,4)	-	13 (16,7)
Ural	2(50,0)	-	2 (50,0)	4 (6,2)	2 (100)	-	-	2 (2,2)	1 (50,0)	1 (50,0)	-	2 (2,6)
Haarlem	5 (83,3)	-	1 (16,7)	6 (9,2)	6 (85,7)	-	1 (14,3)	7 (7,9)	7 (100)	-	-	7 (8,9)
Unknown	5 (100)	-	-	5 (7,7)	4 (100)	-	-	4 (4,4)	2 (100)	-	-	2 (2,6)
CAS1-Delhi	-	-	-	-	-	-	-	-	1 (100)	-	-	1 (1,3)

Примечание: М/П – моно- или полирезистентность

Доли штаммов генетического семейства Beijing (преимущественно современной сублинии) в структуре популяций *M. tuberculosis* значимо не различались: 44,6% (2008–2009), 44,9% (2015), достигая максимального значения 57,7% (2018) ( $p = 0,179$ ) (Таблица 48). При этом доля штаммов кластера Central Asian/Russian (включая штаммы субтипа CAO – моно- и полирезистентные) увеличилась с 20,0% в 2008–2009 гг. до 35,9% в 2018 г. ( $p = 0,037$ ). Доли кластера B0/W148 (12,3%, 6,7% и 10,3%), представленного преимущественно МЛУ-штаммами, существенно не различались ( $p = 0,488$ ).

Установлена ассоциация МЛУ с принадлежностью штаммов к генотипу Beijing ( $p < 0,05$ ) (Таблица 48). Статистически значимые различия выявлены при сравнении долей МЛУ-штаммов кластеров B0/W148 и Central Asian/Russian генотипа Beijing: 87,5% и 46,2% ( $p=0,023$ ) в 2008–2009 гг., 66,7% и 16,7% ( $p=0,009$ ) в 2015 г. и 87,5% и 34,6% ( $p=0,006$ ) в 2018 г. соответственно.

MIRU-VNTR<sub>24</sub>-типирование 45 штаммов Beijing (2018 г.) выявило 23 варианта профилей (NGI=0,921), из которых шесть были представлены кластерами (Рисунок 17).

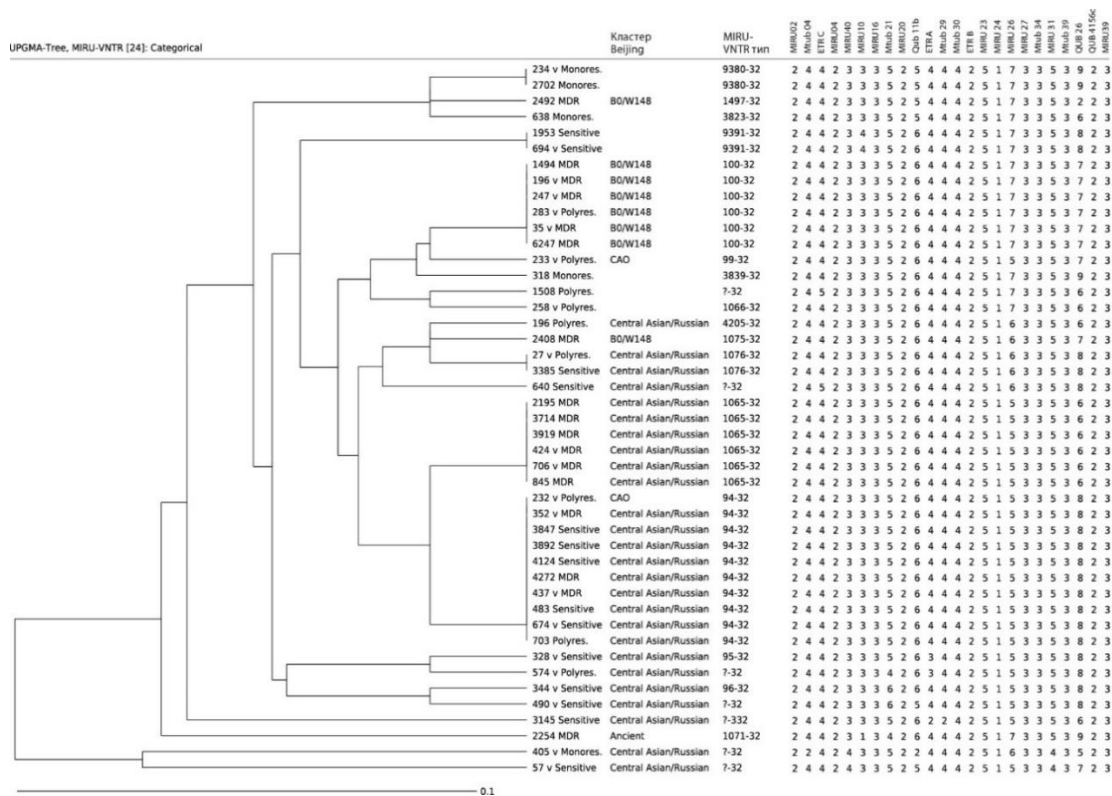


Рисунок 17 – Дендрограмма профилей MIRU-VNTR<sub>24</sub> штаммов *M. tuberculosis* Beijing в Псковской области (2018)

Крупные кластеры MIRU-VNTR<sub>24</sub> штаммов Central Asian/Russian (в т.ч. субтип CAO) – 94-32 и 1065-32 включали 35,7 (10/28) и 21,4% (6/28 – все обладали МЛЮ) соответственно. Кластер 100-32 включал 75,0% (6/8) штаммов B0/W148, при этом пять штаммов были МЛЮ. У двух ЛЧ и двух монорезистентных штаммов современной сублинии Beijing (не относящихся к B0/W148 и Central Asian/Russian) определены паттерны 9391-32 и 9380-32. Единственный МЛЮ-штамм древней сублинии Beijing имел профиль 1071-32.

Генотипирование 118 штаммов non-Beijing позволило выделить 41 сполиготип пяти генетических семейств – LAM (34,7%; 41/118), T (31,4%; 37), Haarlem (18,6%; 22), Ural (6,8%; 8), CAS1-Delhi. Принадлежность к генетическому семейству не определена (Unknown) для девяти штаммов (7,9%; 9/114) – SIT56, SIT3108 и с новыми сполигопрофилями (Таблица 49).

Сравнение субпопуляций *M. tuberculosis* non-Beijing показало, что в исследуемые периоды на территории доминировали штаммы семи сполиготипов (SIT42, SIT47, SIT52, SIT53, SIT102, SIT254, SIT262), при этом наиболее многочисленными были SIT42 и SIT53 генетических семейств LAM и T соответственно. В 2008–2009 гг. и 2015 г. наиболее крупным был SIT53 (T), в 2018 г. – SIT42 на фоне незначительного сокращения доли сполиготипов группы T до 10,3% и увеличения доли сполиготипов семейства LAM до 16,7% ( $p = 0,217$ ). В 2018 г. обнаружен ЛЧ-штамм SIT26 генотипа CAS1-Delhi, который редко встречается в России, но широко распространен в северной части Индии (Таблица 49).

Оценка вариабельности сполигопрофилей штаммов non-Beijing с помощью индекса разнообразия Хантера–Гастона (HGI) выявила неоднородность штаммов, которая прослеживается в рамках мониторинга: HGI=0,938 в 2008–2009 гг., HGI=0,954 в 2015 г. и HGI=0,947 в 2018 г. Это позволяет предполагать разнообразие источников происхождения вариантов возбудителя *M. tuberculosis* на исследуемой территории.



Оценка вариабельности споллигопрофилей штаммов non-Beijing с помощью индекса разнообразия Хантера–Гастона (HGI) выявила неоднородность штаммов, которая прослеживается в рамках мониторинга: HGI=0,938 в 2008–2009 гг., HGI=0,954 в 2015 г. и HGI=0,947 в 2018 г. Это позволяет предполагать разнообразие источников происхождения вариантов возбудителя *M. tuberculosis* на исследуемой территории.

У МЛУ-штаммов *M. tuberculosis*, независимо от года выделения, устойчивость к рифампицину и изониазиду была обусловлена преимущественно мутациями *rpoB* Ser531Leu и *katG* Ser315Thr (Таблица 50).

Как видно из таблицы 51, анализ клинико-эпидемиологических показателей в зависимости от генотипа возбудителя не установил статистически значимых различий между группами, за исключением соотношения мужчин и женщин в 2018 г. – штаммы генотипа Beijing чаще выявляли у пациентов мужского пола ( $p = 0,004$ ).

В популяции *M. tuberculosis* Псковской области на протяжении десяти лет преобладали штаммы генотипа Beijing, при этом установлена ассоциация МЛУ (обусловленная преимущественно мутациями *rpoB* Ser531Leu и *katG* Ser315Thr) с принадлежностью штаммов к кластеру B0/W148. Группа non-Beijing была представлена в основном ЛЧ-штаммами генотипов T и LAM, с различными споллигопрофилями.

Таблица 50 – Мутации, ассоциированные с устойчивостью к изониазиду и рифампицину, МЛУ-штаммов *M. tuberculosis* различных генотипов в Псковской области

Мутации	2008–2009		p	2015		p	2018		p
	Число штаммов (%)			Число штаммов (%)			Число штаммов (%)		
	Beijing n=16	non-Beijing n=5		Beijing n=12	non-Beijing n=4		Beijing n=17	non-Beijing n=0	
<i>katG</i> Ser315Thr	16 (100)	3 (60,0)	0,008*	11 (91,7)	2 (50,0)	0,136	17 (100)	-	-
<i>katG</i> Ser315Thr, <i>inhA</i> C(-15)T	-	2 (40,0)		1 (8,3)	2 (50,0)		-	-	
<i>rpoB</i> Asp516Val	-	1 (20,0)	0,109	-	-	0,050*	-	-	-
<i>rpoB</i> His526Asp	-	1 (20,0)		-	2 (50,0)		-	-	
<i>rpoB</i> His526Asn	-	-		-	-		-	-	
<i>rpoB</i> His526Tyr	1 (6,3)	-		-	-		-	-	
<i>rpoB</i> Ser531Leu	13 (81,3)	3 (60,0)		12 (100)	2 (50,0)		17(100)	-	
нд	2 (12,5)	-	-	-	-	-			

Примечание: нд – нет данных, \* – различия показателей статистически значимы ( $p < 0,05$ )

Таблица 51 – Генотип *M. tuberculosis* и характеристика пациентов в Псковской области

Показатель	2008–2009		P	2015		p	2018		p
	Число штаммов (%)			Число штаммов (%)			Число штаммов (%)		
	Beijing n=29	non-Beijing n=36		Beijing n=40	non-Beijing n=49		Beijing n=45	non-Beijing n=33	
Пол									
Мужчины	22 (75,9)	20 (55,6)	0,089	31 (77,5)	32 (65,3)	0,208	38 (84,4)	18 (54,5)	0,004*
Женщины	7 (24,1)	16 (44,4)		9 (22,5)	17 (34,7)		7 (15,6)	15 (45,5)	
Возраст, лет									
18–30	11 (37,9)	8 (22,2)	0,408	6 (15,0)	6 (12,2)	0,917	8 (17,8)	4 (12,1)	0,655
31–40	5 (17,2)	13 (36,1)		16 (40,0)	17 (34,7)		8 (17,8)	9 (27,3)	
41–50	6 (20,7)	6 (16,7)		7 (17,5)	8 (16,3)		13 (28,9)	9 (27,3)	
51–60	5 (17,2)	5 (13,9)		9 (22,5)	14 (28,6)		12 (26,7)	6 (18,2)	
старше 60	2 (6,9)	4 (11,1)		2 (5,0)	4 (8,2)		4 (8,9)	5 (15,2)	
Клинические формы туберкулеза									
ИТЛ	20 (68,9)	25 (69,4)	0,388	28 (70,0)	34 (69,4)	0,689	30 (66,7)	20 (60,6)	0,525
ДТЛ	8 (27,6)	6 (16,7)		9 (22,5)	8 (16,3)		11 (24,4)	6 (18,2)	
ОТЛ	1 (3,4)	1 (2,8)		3 (7,5)	5 (10,2)		3 (6,7)	5 (15,2)	
ФКТЛ	-	1 (2,8)		-	1 (2,0)		1 (2,2)	1 (3,0)	
прочие	-	3 (8,3)		-	1 (2,0)		-	1 (3,0)	

Примечание: \* – различия показателей статистически значимы ( $p < 0,05$ )

## ГЛАВА 4. Разнообразие структуры популяции *M. tuberculosis* в Северо-Западном федеральном округе России

### 4.1. Характеристика штаммов *M. tuberculosis*: генотипы и лекарственная устойчивость

Для подавляющего большинства – 695 (96,5%) из 720 штаммов *M. tuberculosis*, выделенных от больных впервые выявленным туберкулезом легких в регионах СЗФО, с помощью комплекса молекулярно-генетических методов, основанных на ПЦР, определена принадлежность к одной из 8 генетических линий (семейств, генотипов); остальные 25 штаммов были отнесены к неклассифицируемой группе Unknown (Таблица 52).

Таблица 52 – Генотипы штаммов *M. tuberculosis*

Филогенетическая линия	Генотип (генетическое семейство, линия)	Число штаммов, абс. (%)
Восточно-Азиатская (L2)	Beijing	411 (57,1)
Евро-Американская (L4)	T	102 (14,2)
	LAM	86 (11,9)
	Ural	51 (7,1)
	Haarlem	38 (5,3)
	S	1 (0,1)
	X	4 (0,6)
-	Unknown	25 (3,5)
Центрально-Азиатская (L3)	CAS1-Delhi	2 (0,3)

Как видно из таблицы 52, более половины штаммов *M. tuberculosis* принадлежали к Восточно-Азиатской (L2) филогенетической линии, в частности к генотипу Beijing (57,1%; 411/720).

Следует отметить, что в связи с недостаточной дискриминирующей способностью метода сполиготипирования в отношении *M. tuberculosis* Beijing (принадлежность подавляющего большинства штаммов к сполиготипу SIT1 (<http://www.pasteur-guadeloupe.fr:8081/SITVIT2>) сполиготипирование провели выборочно для 176 из 411 штаммов, выделенных в разных регионах СЗФО и



ранее отнесенных к генотипу Beijing на основании выявления инсерции IS6110 в межгенной области *dnaA-dnaN* *M. tuberculosis* методом ПЦР. Таким образом, у штаммов генотипа Beijing ожидаемо выявлено доминирование сполиготипа SIT1 (98,3%; 173/176); сполиготип SIT190 имели два штамма, SIT 265 – один из 176 штаммов (Приложение 1).

Все остальные 309 штаммов *M. tuberculosis* были представителями других генетических семейств (группа non-Beijing), причем подавляющее большинство принадлежали к Евро-Американской (L4) филогенетической линии, из них более половины (61,2%; 188/307) принадлежали к линиям T и LAM (Приложение 1).

Согласно данным сполиготипирования, штаммы Beijing, за исключением одного (SIT 265), входили в состав кластеров ( $n \geq 2$ ), что объясняет максимальное значение уровня кластеризации ( $CR = 0,98$ ) относительно штаммов других генотипов (non-Beijing) (Таблица 53, Рисунок 18).

Таблица 53 – Кластеры штаммов *M. tuberculosis* различных генотипов  
(по результатам сполиготипирования)

Генотип	Число штаммов**	Количество сполиготипов	Количество кластеров	Численность кластеров	Число штаммов в кластерах, абс. (%)	Уровень кластеризации (CR)
Beijing	176**	3	2	2–173	175 (99,4)	0,98
T	102	24	9	2–44	87 (85,3)	0,76
LAM	86	19	11	2–26	78 (91,0)	0,78
Ural	51	11	4	2–23	44 (86,3)	0,78
Haarlem	38	15	6	2–10	29 (76,3)	0,61
S	1	1	-	-	-	-
X	4	3	1	2	2 (50,0)	0,25
CAS1-Delhi	2	1	1	2	2 (100,0)	0,50
Unknown	25	16	7	2–4	16 (64,0)	0,36

Примечание: \*\*по данным сполиготипирования

Характеристика профилей (паттернов) сполиготипирования штаммов *M. tuberculosis*, входящих в кластеры, представлена согласно номенклатуре SITVIT2 на рисунке 18.



Сравнительный анализ доли штаммов *M. tuberculosis*, принадлежащих к различным генетическим линиям (генотипам), выявил значимые различия ( $p < 0,001$ ) в структуре популяций возбудителя туберкулеза в регионах СЗФО (Таблица 54).

На всех изученных территориях СЗФО в генетически неоднородных популяциях возбудителя туберкулеза отмечено абсолютное доминирование (более 50% штаммов) генотипа Beijing. Минимальная доля данного генотипа в популяции *M. tuberculosis* в Псковской области составила 50,9%, тогда как максимальная достигала 67,4% в Архангельской области, однако, различия между регионами не были статистически значимыми ( $p = 0,222$ ).

Фенотипическая лекарственная чувствительность (ЛЧ) к противотуберкулезным препаратам (ПТП) была сохранена у 364 (50,6%) из 720 штаммов *M. tuberculosis*, остальные штаммы проявляли лекарственную устойчивость (ЛУ). МЛУ обладали 245 (34,0%) из 720 штаммов.

Между регионами СЗФО выявлены значимые различия ( $p < 0,001$ ) и в структуре лекарственной устойчивости штаммов *M. tuberculosis* (Рисунок 19).

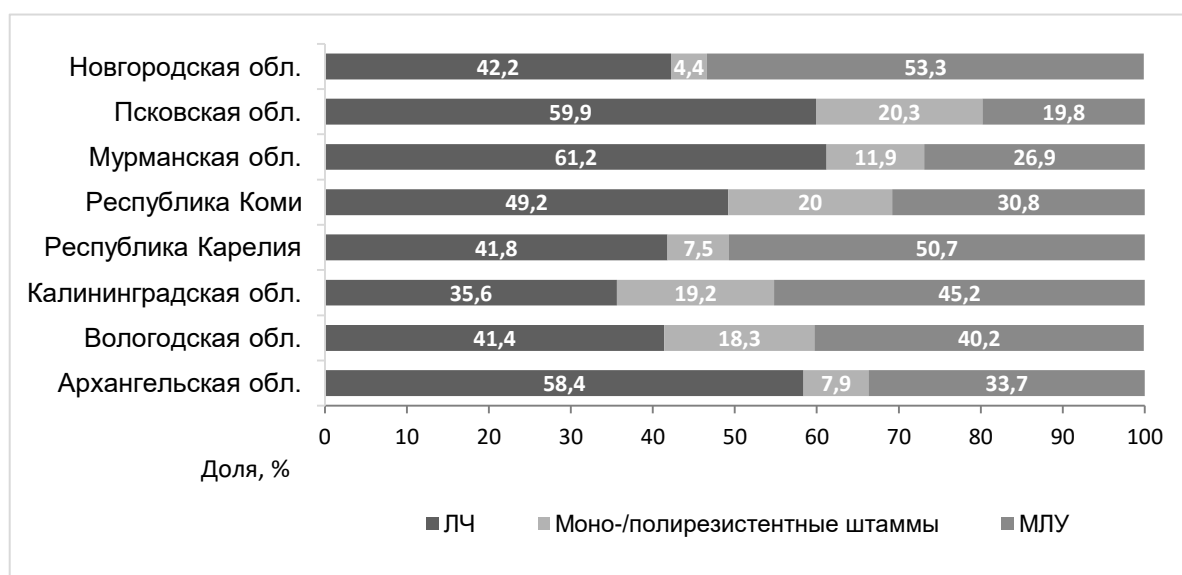


Рисунок 19 – Отношение к ПТП штаммов *M. tuberculosis* в регионах СЗФО. МЛУ-штаммы преобладали в популяциях *M. tuberculosis* Новгородской области (53,3%) и Республики Карелия (50,8%).

Таблица 54 – Генотипы *M. tuberculosis* в регионах СЗФО

Регион	Число штаммов <i>M. tuberculosis</i> (%)									p
	Beijing	T	LAM	Ural	Haarlem	S	X	CAS1-Delhi	Unknown	
Архангельская обл.	60 (67,4)	13 (14,6)	2 (2,3)	4 (4,5)	4 (4,5)	–	–	1 (1,1)	5 (5,6)	$p_{\text{Архангельская обл. – Калининградская обл.}} = 0,043^*$ $p_{\text{Калининградская обл. – Псковская обл.}} = 0,043^*$
Вологодская обл.	51 (62,2)	9 (11,0)	9 (10,9)	4 (4,9)	5 (6,1)	–	–	–	4 (4,9)	
Калининградская обл.	46 (63,0)	11 (15,1)	10 (13,7)	4 (5,5)	–	1 (1,4)	1 (1,4)	–	–	
Республика Карелия	36 (53,7)	10 (14,9)	8 (11,9)	9 (13,4)	3 (4,5)	–	1 (1,5)	–	–	
Республика Коми	73 (56,2)	23 (17,9)	16 (12,3)	9 (6,9)	7 (5,4)	–	1 (0,8)	–	1 (0,8)	
Мурманская обл.	35 (52,2)	6 (8,9)	5 (7,5)	13 (19,4)	2 (3,0)	–	1 (1,5)	–	5 (7,5)	
Псковская обл.	85 (50,9)	25 (15,0)	32 (19,2)	4 (2,4)	14 (8,4)	–	–	1 (0,6)	6 (3,6)	
Новгородская обл.	25 (55,6)	5 (11,1)	4 (8,9)	4 (8,9)	3 (6,7)	–	–	–	4 (8,9)	

Примечание: \* – различия показателей статистически значимы ( $p < 0,05$ ) (метод: Точный критерий Фишера для многопольных таблиц)

Значимые различия ( $p = 0,042$ ) выявлены и в структуре лекарственной чувствительности штаммов *M. tuberculosis* в возрастных группах пациентов (Таблица 55).

Таблица 55 – Структура чувствительности к ПТП штаммов *M. tuberculosis*, выделенных от больных туберкулезом разных возрастных групп

Отношение к ПТП	Число штаммов, абс. (%)					p
	18–30	31–40	41–50	51–60	старше 60	
ЛЧ	42 (11,54)	114 (31,32)	90 (24,73)	79 (21,7)	39 (10,71)	0,042*
М/П**	21 (18,92)	30 (27,03)	26 (23,42)	29 (26,13)	5 (4,5)	
МЛУ	47 (19,18)	78 (31,84)	60 (24,49)	38 (15,51)	22 (8,98)	

Примечание. \* – различия показателей статистически значимы ( $p < 0,05$ ) \*\*Моно- или полирезистентность

Как видно из таблицы 55, МЛУ штаммы возбудителя чаще выделяли от больных среднего возраста (31–40 лет), нежели больных старше 60 лет (31,8% против 8,9%).

Сопоставление данных генотипирования и определения фенотипической лекарственной чувствительности *M. tuberculosis* выявило существенные различия ( $p < 0,001$ ) между группами штаммов Beijing и non-Beijing (Таблица 56).

Таблица 56 – Отношение к ПТП штаммов *M. tuberculosis* различных генотипов

Генотип	Число штаммов (%)		
	ЛЧ (n=364)	М/П (n=111)	МЛУ (n=245)
Beijing	132 (36,3)	74 (66,7)	205 (83,7)
non-Beijing	232 (63,7)	37 (33,3)	40 (16,3)
T	92 (25,3)	5 (4,5)	5 (2,0)
LAM	60 (16,5)	14 (12,6)	12 (4,9)
Ural	32 (8,8)	10 (9,0)	9 (3,7)
Haarlem	27 (7,4)	5 (4,5)	6 (2,5)
S	-	1 (0,9)	-
X	4 (1,1)	-	-
CAS1-Delhi	2 (0,6)	-	-
Unknown	15 (4,1)	2 (1,8)	8 (3,3)

Примечание: М/П – моно- или полирезистентность

Согласно данным таблицы 56, МЛУ штаммы *M. tuberculosis* преобладали (83,7%) в группе Beijing, в то время как ЛЧ сохраняли более половины штаммов

non-Beijing (63,7%). Таким образом, установлена связь МЛУ с принадлежностью штаммов *M. tuberculosis* к генотипу Beijing ( $P < 0,0001$ ; OR=6,69 [4,56–9,83]).

Несмотря на то, что большинство штаммов группы non-Beijing (в отличие от Beijing) были чувствительны к ПТП, генетические семейства различались по доле ЛЧ штаммов. Так, среди ЛЧ штаммов non-Beijing наибольшая доля (25,3%; 92/364) принадлежала к генетической линии Т. Напротив, среди МЛУ-штаммов, помимо Beijing, чаще определяли штаммы генотипа LAM (4,9%; 12/245) (Таблица 56). Характеристика профилей фенотипической устойчивости к ПТП штаммов *M. tuberculosis* различных генотипов представлена в приложении 2.

Канонические мутации в генах *rpoB*, *katG315* и *inhA* были определены у 245 МЛУ-штаммов, 53 полирезистентных (SH, HE, SHE) и 21 монорезистентных (к изониазиду – 17 или рифампицину – 4) штаммов *M. tuberculosis* (Таблица 57).

Таблица 57 – Мутации, ассоциированные с устойчивостью к изониазиду и рифампицину, лекарственно-устойчивых штаммов *M. tuberculosis*

Ген, кодон*	Замена нуклеотида	Замена аминокислот	Число штаммов
<i>katG</i> 315	AGC→ACC	Ser315Thr	314
<i>inhA</i>	C(-15)T	-	27
<i>inhA</i>	T(-8)A/C	-	1
<i>rpoB</i> 516 (435)	GAC→TAC	Asp516Tyr	2
<i>rpoB</i> 516 (435)	GAC→GTC	Asp516Val	3
<i>rpoB</i> 526 (445)	CAC→AAC	His526Asn	1
<i>rpoB</i> 526 (445)	CAC→GAC	His526Asp	5
<i>rpoB</i> 526 (445)	CAC→CTC	His526Leu	1
<i>rpoB</i> 526 (445)	CAC→TAC	His526Tyr	6
<i>rpoB</i> 531 (450)	TCG→TTG	Ser531Leu	218
<i>rpoB</i> 531 (450)	TCG→TGG	Ser531Trp	2
<i>rpoB</i> 533 (452)	CTG→CCG	Leu533Pro	1

Примечание: \* – нумерация кодонов в гене *rpoB* согласно общепринятой аннотации нуклеотидной последовательности *Escherichia coli*. В скобках приведена альтернативная аннотация кодонов согласно нуклеотидной последовательности референс-штамма *M. tuberculosis* H37Rv [318]

Как видно из таблицы 57, наиболее распространенными были ассоциированные с резистентностью к изониазиду и рифампицину

несинонимические замены в генах *katG315* и *rpoB*, приводящие к заменам аминокислот Ser315Thr и Ser531Leu соответственно.

В таблице 58 показан вклад различных мутаций в формирование фенотипической устойчивости штаммов *M. tuberculosis* к изониазиду.

Таблица 58 – Мутации, ассоциированные с устойчивостью к изониазиду, ЛУ штаммов *M. tuberculosis*

Мутации	Число штаммов (%)	
	моно- / полирезистентность	МЛУ
<i>inhA</i> C(-15)T	1 (1,4)	1 (0,4)
<i>katG</i> Ser315Thr	67 (93,1)	221 (90,6)
<i>katG</i> Ser315Thr, <i>inhA</i> C(-15)T	4 (5,6)	21 (8,6)
<i>katG</i> Ser315Thr, <i>inhA</i> T(-8)A/C	–	1 (0,4)

Замена *rpoB* Ser531Leu была выявлена у всех фенотипически монорезистентных к рифампицину и у 87,7% МЛУ-штаммов *M. tuberculosis* (Таблица 59).

Таблица 59 – Мутации, ассоциированные с устойчивостью к рифампицину ЛУ штаммов *M. tuberculosis*

Мутации <i>rpoB</i>	Число штаммов (%)	
	моно- / полирезистентность	МЛУ
Asp516Tyr	–	2 (0,8)
Asp516Val	–	3 (1,2)
His526Asn	–	1 (0,4)
His526Asp	–	5 (2,1)
His526Leu	–	1 (0,4)
His526Tyr	–	6 (2,5)
Leu533Pro	–	1 (0,4)
Ser531Leu	4 (100)	214 (87,7)
Ser531Trp	-	2 (0,8)

У единичных МЛУ-штаммов были обнаружены мутации в кодонах 516, 526 и 533 гена *rpoB*; у 9 МЛУ-штаммов канонические мутации в генах *rpoB* не найдены.

В целом у 80,8% (198/245) МЛУ-штаммов устойчивость к рифампицину была обусловлена заменой *rpoB* Ser531Leu (TCG→TTG), устойчивость к изониазиду – заменой *katG* Ser315Thr (AGC→ACC), причем у 15 (6,1%) МЛУ-штаммов обнаружена дополнительная мутация в гене *inhA*.

По спектру мутаций устойчивости к изониазиду региональные популяции *M. tuberculosis* значимо не различались ( $p = 0,499$ ) (Таблица 60).

Таблица 60 – Мутации фенотипически устойчивых к изониазиду штаммов *M. tuberculosis* в регионах СЗФО

Регион	Число штаммов, абс. (%)				p
	<i>inhA</i> C(-15)T	<i>katG</i> Ser315Thr	<i>katG</i> Ser315Thr, <i>inhA</i> C(-15)T	<i>katG</i> Ser315Th, <i>inhA</i> T(-8)A/C	
Архангельская обл.	-	36 (97,3)	1 (2,7)	–	0,499
Вологодская обл.	1 (2,3)	38 (86,4)	4 (9,1)	1 (2,3)	
Калининградская обл.	–	36 (90,0)	4 (10,0)	–	
Республика Карелия	–	30 (83,3)	6 (16,7)	–	
Республика Коми	–	52 (94,6)	3 (5,5)	–	
Мурманская обл.	–	23 (95,8)	1 (4,2)	–	
Псковская обл.	–	50 (92,6)	4 (7,4)	–	
Новгородская обл.	1 (3,9)	23 (88,5)	2 (7,7)	–	

Примечание: \* – различия показателей статистически значимы ( $p < 0,05$ )

Напротив, существенные различия ( $p < 0,001$ ) выявлены в распределении мутаций *rpoB* в региональных популяциях *M. tuberculosis* (Таблица 61). При этом во всех регионах у фенотипически устойчивых к рифампицину штаммов *M. tuberculosis* превалировала замена Ser531Leu в гене *rpoB*. Наиболее разнообразный спектр мутаций *rpoB* *M. tuberculosis* был выявлен в Новгородской области. В Мурманской области, напротив, выявлена лишь замена *rpoB* Ser531Leu, у одного МЛУ-штамма мутаций устойчивости к рифампицину, определяемых набором реагентов «Амплицуб-МЛУ-РВ», не обнаружено. В Калининградской области у штаммов *M. tuberculosis* выявлена относительно высокая по сравнению с другими регионами доля (15,6%) замены *rpoB* His526Tyr.

Анализ распространенности мутаций в генах *katG315*, *inhA* и *rpoB* штаммов *M. tuberculosis* выявил существенные различия ( $p < 0,001$ ) между возрастными группами больных ТБ лишь в отношении мутаций устойчивости к рифампицину (Таблица 62). Так, наиболее широкий спектр мутаций в гене *rpoB* обнаружен у штаммов *M. tuberculosis*, выделенных от больных ТБ в возрасте 31–40 лет.



Таблица 61 – Мутации в гене *rpoB* у фенотипически устойчивых к рифампицину штаммов *M. tuberculosis* в регионах СЗФО

Регион	Число штаммов, абс. (%)									p
	Asp516Tyr	Asp516Val	His526Asn	His526Asp	His526Leu	His526Tyr	Leu533Pro	Ser531Leu	Ser531Trp	
Архангельская обл.	–	–	1 (3,3)	–	–	1 (3,3)	–	27 (90,0)	–	< 0,001*
Вологодская обл.	–	1 (3,0)	–	1 (3,0)	–	–	–	29 (87,9)	–	
Калининградская обл.	–	–	–	–	–	5 (15,6)	–	27 (84,4)	–	
Респ. Карелия	–	–	–	1 (2,9)	–	–	1 (2,94)	27 (79,4)	–	
Респ. Коми	1 (2,3)	–	–	1 (2,3)	–	–	–	40 (93,0)	1 (2,3)	
Мурманская обл.	–	–	–	–	–	–	–	18 (94,7)	–	
Псковская обл.	–	–	–	2 (6,1)	–	–	–	31 (93,9)	–	
Новгородская обл.	1 (4,2)	2 (8,3)	–	–	1 (4,2)	–	–	19 (79,2)	1 (4,2)	

Таблица 62 – Мутации в гене *rpoB* у штаммов *M. tuberculosis*, выделенных от больных туберкулезом разных возрастных групп

Возрастные группы	Число штаммов абс. (%)									p
	Asp516Tyr	Asp516Val	His526Asn	His526Asp	His526Leu	His526Tyr	Leu533Pro	Ser531Leu	Ser531Trp	
18–30	–	–	1 (2,1)	2 (4,3)	–	1 (2,1)	1 (2,1)	42 (89,4)	–	< 0,001*
31–40	–	1 (1,2)	–	1 (1,2)	1 (1,2)	2 (2,4)	–	72 (87,8)	1 (1,2)	
41–50	1 (1,7)	1 (1,7)	–	2 (3,3)	–	2 (3,3)	–	50 (83,3)	–	
51–60	1 (2,7)	1 (2,7)	–	–	–	1 (2,7)	–	34 (91,9)	–	
старше 60	–	–	–	–	–	–	–	20 (90,9)	1 (4,6)	

Примечание: \* – различия показателей статистически значимы ( $p < 0,05$ )

Сравнительный анализ мутаций, ассоциированных с устойчивостью к изониазиду и рифампицину штаммов *M. tuberculosis* Beijing и non-Beijing приведен в таблице 63

Таблица 63 – Мутации, ассоциированные с устойчивостью к изониазиду и рифампицину, штаммов *M. tuberculosis* Beijing и других генетических семейств

ПТП	Мутации	Число штаммов (%)		p
		Beijing	non-Beijing	
INH	<i>inhA</i> C(-15)T	1 (50,0)	1 (50,0)	< 0,001* P <sub>Ser315Thr - Ser315Thr, C(-15)T</sub> < 0,001*
	<i>katG</i> Ser315Thr	243 (84,4)	45 (15,6)	
	<i>katG</i> Ser315Thr, <i>inhA</i> C(-15)T	10 (40,0)	15 (60,0)	
	<i>katG</i> Ser315Thr, <i>inhA</i> T(-8)A/C	1 (100)	–	
RIF	<i>rpoB</i> Asp516Tyr	1 (50,0)	1 (50,0)	< 0,001* P <sub>Asp516Val - Ser531Leu</sub> = 0,008* P <sub>His526Asp - Ser531Leu</sub> < 0,001*
	<i>rpoB</i> Asp516Val	–	3 (100)	
	<i>rpoB</i> His526Asn	1 (100)	–	
	<i>rpoB</i> His526Asp	–	5 (100)	
	<i>rpoB</i> His526Leu	1 (100)	–	
	<i>rpoB</i> His526Tyr	3 (50,0)	3 (50,0)	
	<i>rpoB</i> Leu533Pro	1 (100)	–	
	<i>rpoB</i> Ser531Leu	193 (88,5)	25 (11,5)	
	<i>rpoB</i> Ser531Trp	2 (100)	–	
	нд	7 (77,8)	2 (22,2)	

Примечание: \* – различия показателей статистически значимы ( $p < 0,05$ ), нд – нет данных

Как видно из таблицы 63, у штаммов генотипа Beijing и non-Beijing фенотипическая устойчивость к рифампицину и изониазиду была обусловлена преимущественно заменами *rpoB* Ser531Leu и *katG* Ser315Thr соответственно. В обеих группах штаммов замены Asp516Tyr и His526Tyr в гене *rpoB* встречались с одинаковой частотой; замены Asp516Val и His526Asp выявлены только у штаммов non-Beijing.

Анализ лекарственно-устойчивых штаммов различных генотипов выявил все варианты и сочетания мутаций устойчивости к изониазиду у штаммов Beijing (Таблица 64). Так, у 99,6% (n=254) штаммов Beijing определены мутации в гене *katG*, причем доминировала (95,3%) замена Ser315Thr, которая также встречалась в комбинациях с мутациями *inhA*.

Таблица 64 – Мутации ассоциированные с устойчивостью к изониазиду ЛУ штаммов *M. tuberculosis* различных генотипов

Генотип	Число штаммов (%)				p
	<i>inhA</i> C(-15)T	<i>katG</i> Ser315Thr	<i>katG</i> Ser315Thr, <i>inhA</i> C(-15)T	<i>katG</i> Ser315Thr, <i>inhA</i> T(-8)A/C	
Beijing	1 (0,4)	243 (95,3)	10 (3,9)	1 (0,4)	< 0,001*
T	–	5 (100)	–	–	
LAM	–	10 (47,6)	11 (52,4)	–	
Haarlem	–	7 (100)	–	–	
Ural	–	15 (88,2)	2 (11,8)	–	
S	–	1 (100)	–	–	
Unknown	1 (10,0)	7 (70,0)	2 (20,0)	–	

Примечание: \* – различия показателей статистически значимы ( $p < 0,05$ )

У всех штаммов линий T, Haarlem и S фенотипическая устойчивость к изониазиду также была обусловлена мутацией *katG* Ser315Thr. В отличие от упомянутых генотипов *M. tuberculosis* более половины (52,4%) устойчивых к изониазиду штаммов LAM имели сочетание мутаций *katG* Ser315Thr и *inhA* C (-15) (Таблица 64).

У штаммов генотипа Beijing определен наиболее широкий спектр мутаций устойчивости к рифампицину с доминированием *rpoB* Ser531Leu (92,3%), у 50% штаммов LAM выявлены мутации в кодонах 516 и 526 гена *rpoB*. (Таблица 65).

Таблица 65 – Мутации в гене *rpoB* у фенотипически устойчивых к рифампицину штаммов *M. tuberculosis* разных генотипов

Генотип	Число штаммов (%)										p
	Asp 516 Tyr	Asp 516 Val	His 526 Asn	His 526 Asp	His 526 Leu	His 526 Tyr	Leu 533 Pro	Ser 531 Leu	Ser 531 Trp	нд	
Beijing	1 (0,5)	–	1 (0,5)	–	1 (0,5)	3 (1,4)	1 (0,5)	193 (92,3)	2 (1,0)	7 (3,4)	<0,001*
T	–	–	–	–	–	1 (25,0)	–	3 (75,0)	–	–	
LAM	–	1 (8,3)	–	3 (25,0)	–	2 (16,7)	–	6 (50,0)	–	–	
Haarlem	–	–	–	1 (16,7)	–	–	–	4 (66,7)	–	1 (16,7)	
Ural	1 (11,1)	–	–	–	–	–	–	7 (77,8)	–	1 (11,1)	
Unknown	–	2 (25,0)	–	1 (12,5)	–	–	–	5 (62,5)	–	–	

Примечание: \* – различия показателей статистически значимы ( $p < 0,05$ ), нд – нет данных

Следует отметить, что четверть (3/12) МЛУ-штаммов LAM, несущих мутацию *rpoB* His526Asp, принадлежали к сполиготипу SIT266, причем у данных штаммов также выявлено сочетание мутаций *katG* Ser315Thr и *inhA* C(-15)T, ассоциированных с устойчивостью к изониазиду.

В таблице 66 суммированы данные о мутациях устойчивости к ПТП 245 МЛУ-штаммов *M. tuberculosis*.

Таблица 66 – Профили мутаций устойчивости к изониазиду и рифампицину  
МЛУ штаммов *M. tuberculosis*

Профиль мутаций	Число штаммов (%)	
	Beijing (n=205)	non-Beijing (n=40)
<i>katG</i> Ser315Thr, <i>rpoB</i> Ser531Leu	179 (87,3)	20 (50,0)
<i>katG</i> Ser315Thr, <i>rpoB</i> His526Tyr	3 (1,5)	2 (5,0)
<i>katG</i> Ser315Thr, <i>rpoB</i> His526Asp	-	2 (5,0)
<i>katG</i> Ser315Thr, <i>rpoB</i> His526Asn	1 (0,5)	-
<i>katG</i> Ser315Thr, <i>rpoB</i> His526Leu	1 (0,5)	-
<i>katG</i> Ser315Thr, <i>rpoB</i> Asp516Tyr	1 (0,5)	1 (2,5)
<i>katG</i> Ser315Thr, <i>rpoB</i> Ser531Trp	1 (0,5)	-
<i>katG</i> Ser315Thr, <i>rpoB</i> Leu533Pro	1 (0,5)	-
<i>katG</i> Ser315Thr, <i>inhA</i> C(-15)T, <i>rpoB</i> Asp516Val	-	3 (7,5)
<i>katG</i> Ser315Thr, <i>inhA</i> C(-15)T, <i>rpoB</i> His526Asp	-	3 (7,5)
<i>katG</i> Ser315Thr, <i>inhA</i> C(-15)T, <i>rpoB</i> His526Tyr	-	1 (2,5)
<i>katG</i> Ser315Thr, <i>inhA</i> C(-15)T, <i>rpoB</i> Ser531Leu	9 (4,4)	5 (12,5)
<i>inhA</i> C(-15)T, <i>rpoB</i> Ser531Leu	1 (0,5)	-
<i>katG</i> Ser315Thr, <i>inhA</i> T(-8)A/C, <i>rpoB</i> Ser531Leu	1 (0,5)	-
<i>katG</i> Ser315Thr, <i>rpoB</i> *	7 (3,4)	3 (7,5)

Примечание: \* мутации устойчивости к рифампицину, определяемые набором реагентов «Амплитуб-МЛУ-РВ», не обнаружены

Анализ профилей устойчивости к изониазиду и рифампицину выявил доминирование сочетания мутаций *katG* Ser315Thr и *rpoB* Ser531Leu у всех изученных МЛУ-штаммов (81,2%; 199/245). Дополнительную мутацию устойчивости к изониазиду – *inhA* C(-15)T имели 5,7% (14/245) штаммов (Beijing – 9; non-Beijing – 5). Другие сочетания мутаций в генах *rpoB*, *katG* и *inhA* встречались у единичных штаммов. У 10 МЛУ-штаммов канонические мутации устойчивости к рифампицину, определяемые набором реагентов «Амплитуб-МЛУ-РВ», не обнаружены (Таблица 66).

#### 4.2. Характеристика субпопуляции *M. tuberculosis* генотипа Beijing

В целом в изученной популяции *M. tuberculosis* подавляющее большинство штаммов доминирующего генотипа Beijing (411/720) принадлежали к его современной сублинии (97,3%; 400/411). При сравнении долей современной сублинии Beijing между регионами СЗФО не удалось выявить статистически значимых различий ( $p = 0,493$ ). В структуре сублинии *M. tuberculosis* Beijing наиболее многочисленными были генетические кластеры Central Asian/Russian (61,5%; 253/411 штаммов) и B0/W148 (26,7%; 110/411).

При отсутствии значимых различий ( $p = 0,222$ ) в частоте встречаемости генотипа Beijing в популяциях возбудителя, регионы СЗФО значительно различались ( $p < 0,001$ ) по числу штаммов *M. tuberculosis*, принадлежащих к крупным кластерам Central Asian/Russian и B0/W148 (Таблица 67).

Таблица 67 – Структура субпопуляции *M. tuberculosis* Beijing в регионах СЗФО

Регион	Число штаммов (% от всех Beijing)				
	B0/W148	Central Asian/Russian (без CAO)	Central Asian/Russian CAO	Другие, современ. сублиния	Древняя сублиния
Архангельская обл.	18 (30,0)	34 (56,7)	2 (3,3)	5 (8,3)	1 (1,7)
Вологодская обл.	6 (11,8)	34 (66,7)	7 (13,7)	3 (5,9)	1 (2,0)
Калининградская обл.	17 (37,0)	17 (37,0)	4 (8,7)	6 (13,0)	2 (4,3)
Республика Карелия	13 (36,1)	15 (41,7)	3 (8,3)	2 (5,6)	3 (8,3)
Республика Коми	26 (35,6)	43 (58,9)	2 (2,7)	1 (1,4)	1 (1,4)
Мурманская обл.	7 (20,0)	22 (62,9)	1 (2,9)	5 (14,3)	-
Псковская обл.	14 (16,5)	50 (58,8)	4 (4,7)	14 (16,5)	3 (3,5)
Новгородская обл.	10 (40,0)	12 (48,0)	3 (12,0)	-	-

Во всех регионах среди штаммов генотипа Beijing обнаружены штаммы субтипа CAO Central Asian/Russian: наибольшая доля – 13,7% (7/51) в Вологодской области, наименьшая – 2,7% (2/73) в Республике Коми. Доля субтипа CAO в общей популяции *M. tuberculosis* составила 3,6% (26/720).

Во всех регионах среди штаммов генотипа Beijing обнаружены штаммы субтипа CAO Central Asian/Russian: наибольшая доля – 13,7% (7/51) в Вологодской области, наименьшая- 2,7% (2/73) в Республике Коми. Доля субтипа CAO в общей популяции *M. tuberculosis* составила 3,6% (26/720).

Процентные доли генотипа Beijing (включая варианты B0/W148, Central Asian/Russian и другие) и прочих генотипов (non-Beijing, суммарно) в структуре региональных популяций возбудителя графически представлены на рисунке 20. Наибольшая доля кластера Central Asian/Russian (50%), как и наименьшая доля кластера B0/W148 (7%), обнаружены в структуре популяции *M. tuberculosis* Вологодской области. В субпопуляциях Калининградской и Новгородской областей выявлены наибольшие доли штаммов кластера B0/W148 (22%).

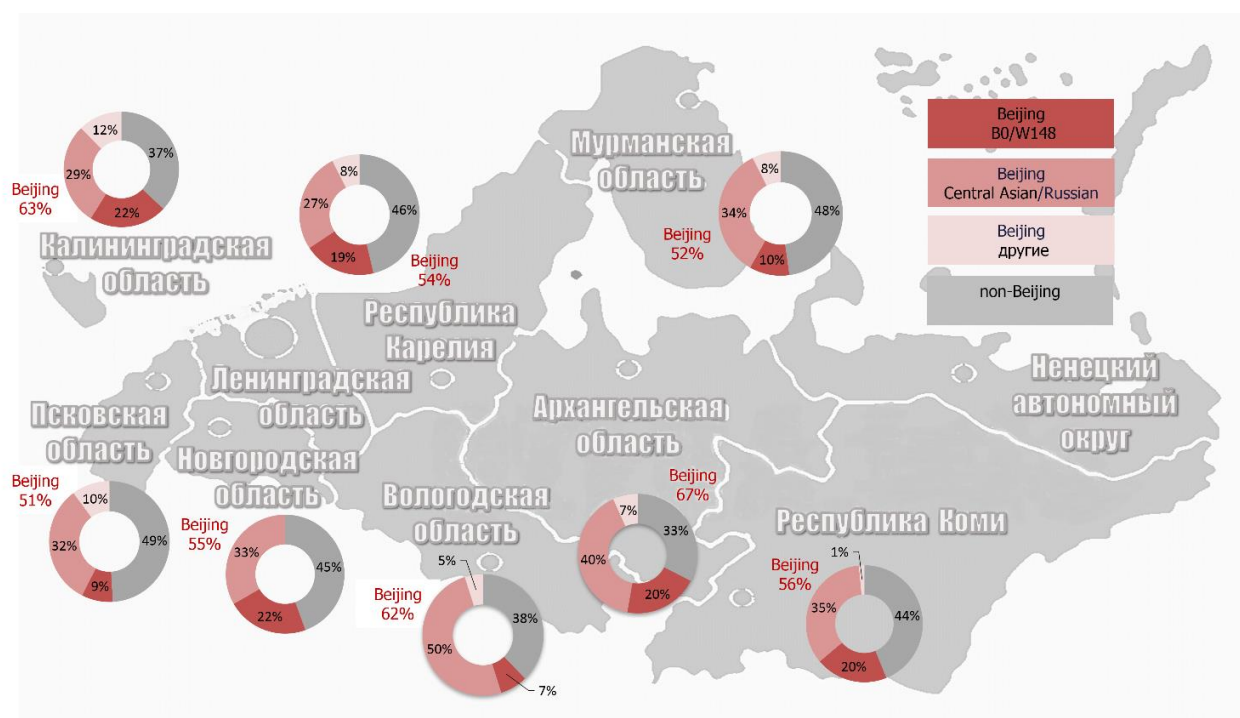


Рисунок 20 – Структура субпопуляций *M. tuberculosis* генотипа Beijing в регионах СЗФО

Анализ отношения к ПТП штаммов *M. tuberculosis*, принадлежащих к различным кластерам, субтипам и сублиниям генотипа Beijing показал, что наибольшие доли лекарственно-чувствительных штаммов Beijing выявлены среди представителей генотипа Central Asian/Russian (45,1%). Большинство штаммов B0/W148 (87,3%), древней сублинии Beijing (81,8%) и более половины субтипа CAO обладали МЛУ (Таблица 68).

Таблица 68 – Фенотипическая лекарственная чувствительность штаммов

*M. tuberculosis* генотипа Beijing

Отношение к ПТП	Число штаммов, абс. (%)					P
	B0/W148 (n=110)	Central Asian/Russian (без CAO), (n=227)	Субтип CAO (n=26)	Другие, современ. сублиния (n=37)	Древняя сублиния (n=11)	
ЛЧ	–	114 (45,1)	-	16 (43,2)	2 (18,2)	< 0,001*
М/П**	14 (12,7)	39 (17,2)	11 (42,5)	10 (27,3)	-	
МЛУ	96 (87,3)	74 (32,6)	15 (57,7)	11 (29,7)	9 (81,8)	

Примечание: \* – различия показателей статистически значимы ( $p < 0,05$ ) (метод: Критерий Хи-квадрат Пирсона для многопольных таблиц); \*\*Моно- и полирезистентность

Анализ генотипической устойчивости к ПТП 205 МЛУ-штаммов *M. tuberculosis*, принадлежащих к различным кластерам генотипа Beijing, приведен в таблице 69.

Таблица 69 – Профили мутаций МЛУ штаммов *M. tuberculosis* генотипа Beijing

Профиль мутаций	Кластеры Beijing		
	B0/W148 (n=96)	Central Asian/Russian (n=89)	Другие (n=20)
<i>katG</i> Ser315Thr, <i>rpoB</i> Ser531Leu	89 (92,7)	70 (78,7)	20 (100)
<i>katG</i> Ser315Thr, <i>rpoB</i> His526Tyr	1 (1,0)	2 (2,2)	-
<i>katG</i> Ser315Thr, <i>rpoB</i> His526Asn	-	1 (1,1)	-
<i>katG</i> Ser315Thr, <i>rpoB</i> His526Leu	-	1 (1,1)	-
<i>katG</i> Ser315Thr, <i>rpoB</i> Asp516Tyr	-	1 (1,1)	-
<i>katG</i> Ser315Thr, <i>rpoB</i> Ser531Trp	-	1 (1,1)	-
<i>katG</i> Ser315Thr, <i>rpoB</i> Leu533Pro	-	1 (1,1)	-
<i>katG</i> Ser315Thr, <i>inhA</i> C(-15)T, <i>rpoB</i> Ser531Leu	2 (2,1)	7 (7,9)	-
<i>inhA</i> C(-15)T, <i>rpoB</i> Ser531Leu	-	1 (1,1)	-
<i>katG</i> Ser315Thr, <i>inhA</i> T(-8)A/C, <i>rpoB</i> Ser531Leu	-	1 (1,1)	-
<i>katG</i> Ser315Thr, <i>rpoB</i> *	4 (4,2)	3 (3,4)	-

Примечание: мутации устойчивости к рифампицину, определяемые набором реагентов «Амплитуб-МЛУ-РВ», не обнаружены

Ведущими мутациями устойчивости к изониазиду и рифампицину у МЛУ-штаммов, независимо от принадлежности к определенному кластеру Beijing, были *katG* Ser315Thr и *rpoB* Ser531Leu соответственно (Таблица 69). Однако при этом штаммы кластера Central Asian/Russian отличались от B0/W148 более разнообразным спектром мутаций в гене *rpoB*.

Мутации в гене *inhA*, ассоциированные с устойчивостью к изониазиду, чаще встречались у штаммов кластера Central Asian/Russian (10,1%; 9/89) чем B0/W148 (2,0%; 2/96) ( $P = 0,022$ ;  $OR=5,29$  [1,11–25,19]).

Для оценки однородности субпопуляции и родства между штаммами *M. tuberculosis* Beijing была использована схема MIRU-VNTR-типирования, позволяющая оценить аллельный полиморфизм 24 локусов [293, 295].

Для количественной оценки полиморфизма 24 локусов MIRU-VNTR у 288 из 411 штаммов Beijing, выделенных в шести из восьми регионов СЗФО (за исключением Архангельской и Новгородской областей), использовали расчетный показатель – индекс разнообразия Хантера–Гастона (HGI) [179].

Анализ аллельного полиморфизма каждого из 24 локусов MIRU-VNTR в отдельности продемонстрировал разную степень варибельности исследованных локусов у штаммов Beijing: наибольшее число аллельных вариантов встречалось в локусах QUB26 (8 аллельных вариантов), Mtub21 (6) и MIRU26 (5); 7 из 24 локусов были однородны – все штаммы имели один и тот же аллельный вариант. Таким образом, разрешающая способность была наибольшей для локусов QUB26 ( $HGI=0,617$ ) и MIRU26 ( $HGI=0,543$ ).

Значения HGI для 24 локусов MIRU-VNTR штаммов *M. tuberculosis* Beijing Central Asian/Russian и B0/W148 представлены в таблице 70. Как видно у штаммов Central Asian/Russian наиболее варибельными были локусы QUB26 ( $HGI$  0,382) и ETRA ( $HGI$  0,224); 9 (37,5%) из 24 локусов были однородны ( $HGI$  0). Штаммы B0/W148 по сравнению с Central Asian/Russian представляли более гомогенную группу, поскольку не различались по 15 (62,5%) из 24 локусов MIRU-VNTR. Наиболее полиморфным у штаммов B0/W148 был локус MIRU31 ( $HGI$  0,123).

В целом для всех штаммов Beijing дискриминирующая способность метода MIRU-VNTR-типирования по 24 локусам в соответствии с индексом Хантера–Гастона ( $HGI$ ) составила 0,713. Для отдельных генотипов  $HGI$  значительно отличалось, составляя 0,830 для штаммов Central Asian/Russian (без CAO), по сравнению с очень низким разнообразием CAO (0,471) и B0/W148 (0,410).



Таблица 70 – Разнообразие аллелей 24 локусов MIRU-VNTR у штаммов

*M. tuberculosis* Central Asian/Russian и B0/W148 генотипа Beijing

Локус VNTR	Другое название локуса	Число аллелей	Число копий	Индекс разнообразия (HGI)	Число аллелей	Число копий	Индекс разнообразия (HGI)
		Central Asian/Russian (n=176)			B0/W148 (n=77)		
154	MIRU02	1	2	0	1	2	0
424	Mtub04	4	2–5	0,109	2	2,4	0,026
577	ETRC	3	2,4,5	0,067	1	4	0
580	MIRU04	1	2	0	1	2	0
802	MIRU40	3	2–4	0,078	2	3–4	0,026
960	MIRU10	2	2,3	0,011	1	3	0
1644	MIRU16	1	3	0	1	3	0
1955	Mtub21	5	1,3–6	0,120	2	4–5	0,051
2059	MIRU20	1	2	0	1	2	0
2165	ETRA	4	1–4	0,224	1	4	0
2347	Mtub29	3	2–4	0,077	1	4	0
2401	Mtub30	2	2,4	0,034	2	2,4	0,026
2461	ETRB	1	2	0	1	2	0
2531	MIRU23	1	5	0	1	5	0
2687	MIRU24	1	1	0	1	1	0
2996	MIRU26	4	4–6,9	0,161	3	4–6,7	0,077
3007	MIRU27	1	3	0	1	3	0
3171	Mtub34	2	2,3	0,011	1	3	0
3192	MIRU31	3	4–6	0,149	2	4–5	0,123
3690	Mtub39	2	3–4	0,011	3	2–4	0,052
4052	QUB26	5	5–9	0,382	3	2,3,7	0,052
4156	QUB4156	1	2	0	1	2	0
4348	MIRU39	2	2,3	0,011	1	3	0
2163b	QUB11b	5	2,5–8	0,170	2	5–6	0,076

Для графического отображения результатов анализа родства между штаммами *M. tuberculosis* использовали алгоритм построения минимального охватывающего древа (MST, minimum spanning tree) на основе полиморфизма 24 локусов MIRU-VNTR (Рисунок 21).

MIRU-VNTR<sub>24</sub>-типирование 288 штаммов Beijing выявило 82 варианта цифровых профилей (Приложение 3). Из них 24 (28,0%) профиля были представлены кластерами, включающими от 2 до 75 штаммов, что составило 79,9% (230/288) штаммов.

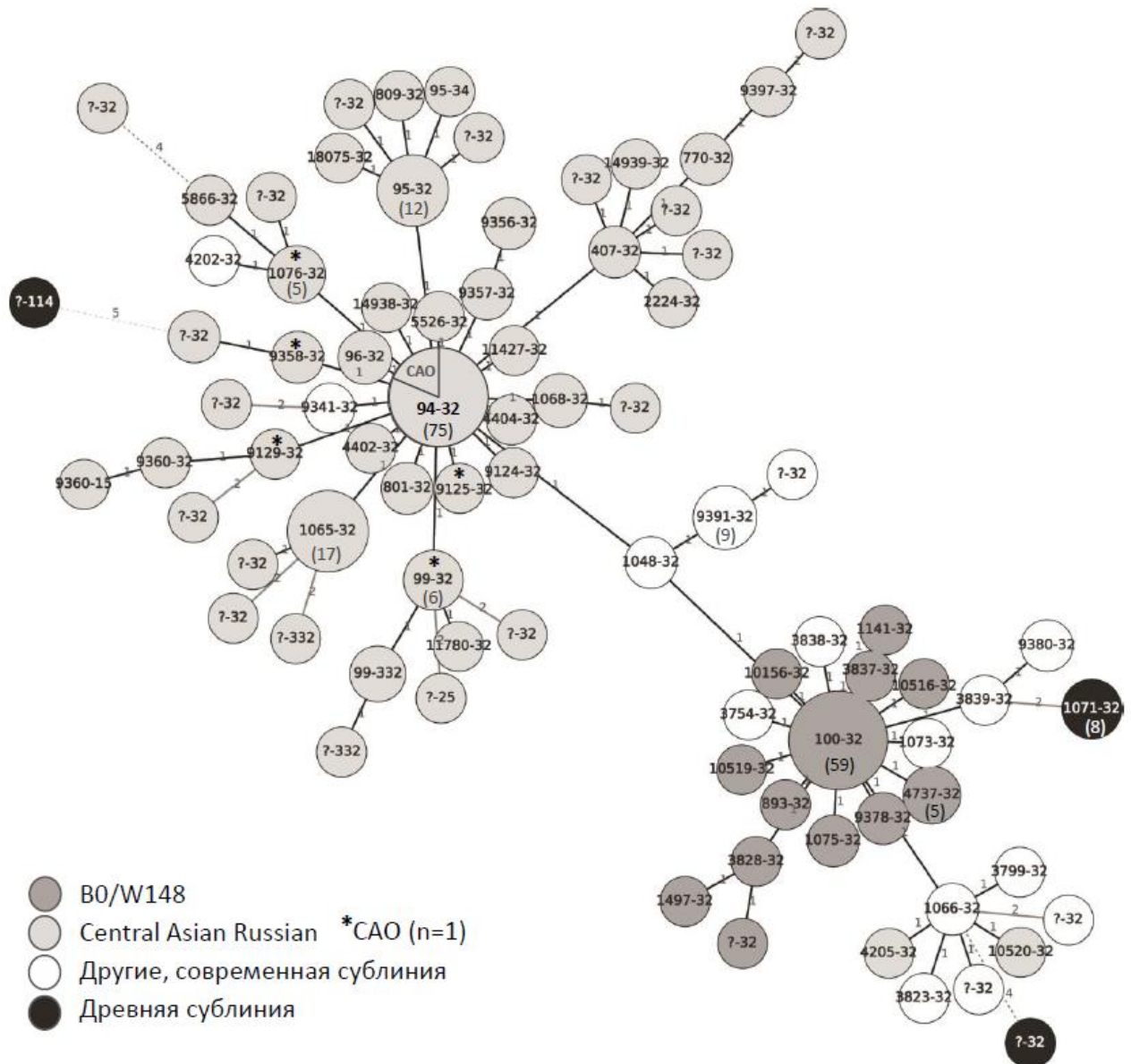


Рисунок 21 – Минимальное охватывающее дерево (Minimum Spanning Tree) профилей MIRU-VNTR<sub>24</sub> локуса 288 штаммов *M. tuberculosis* Beijing (<https://www.miru-vntrplus.org>)

Примечание: размеры узлов пропорциональны числу штаммов (цифры в скобках обозначают число штаммов) в составе кластера MIRU-VNTR<sub>24</sub>. Обозначения профилей MIRU-VNTR приведены согласно номенклатуре MLVA MtbC15-9. Линии между узлами показывают изменения, касающиеся одного локуса – сплошные жирные, двух локусов – сплошные тонкие, трех и более локусов – прерывистая линии

Среди 82 MIRU-VNTR<sub>24</sub>-профилей 288 штаммов Beijing выявлено 59 типов согласно номенклатуре MLVA MtbC 15-9 MIRU-VNTRplus (<https://www.miru-vntrplus.org>), 13 и 14 типов согласно номенклатурам <sub>24</sub>MIT и <sub>12</sub>MIT SITVIT2 (<http://www.pasteur-guadeloupe.fr:8081/SITVIT2>).

Анализ профилей MIRU-VNTR<sub>24</sub> штаммов *M. tuberculosis* генотипа Beijing, представленных крупными кластерами Central Asian/Russian и B0/W148, представлен в таблице 71.

Таблица 71 – Характеристика профилей MIRU-VNTR<sub>24</sub> штаммов *M. tuberculosis* Central Asian/Russian и B0/W148 генотипа Beijing

Кластеры Beijing	Профиль MIRU-VNTR <sub>24</sub> *	MLVA MtbC 15-9	<sub>24</sub> MIT	<sub>12</sub> MIT	СС	Число штаммов
Central Asian/Russian (n=176)	223325153533324682454433	9358-32	32	16	CC1	2
	223325153533424682444433	801-32	Orphan	16	CC1	2
	223325153533422682454433	9357-32	-	16	CC1	2
	223325153633422682454433	9356-32	71	138	CC1	2
	223325153533424582454433	407-32	-	16	CC4	2
	223325153534424582454433	770-32	-	571	CC4	2
	223325153433424682254433	?-32	-	137	-	2
	223325143533424682454433	1068-32	-	137	CC3	3
	223325153533424682464433	96-32	-	16	CC1	3
	223325153533424672452433	99-332	-	16	CC1	4
	223325163533424682454433	1076-32	Orphan	83	CC3	5
	223325153533424672454433	99-32	-	16	CC1	6
	223325153533324682454433	95-32	32	16	CC1	12
	223325153533424662454433	1065-32	28	16	CC1	17
223325153533424682454433	94-32	25	16	CC1	75	
B0/W148 (n=77)	223325173533424672444433	9378-32	35	17	CC2	2
	223325163533424672454433	1075-32	-	83	CC2	2
	223325173433424672454433	4737-32	Orphan	86	CC2	5
	223325173533424672454433	100-32	27	17	CC2	59

Примечание: \* числовой профиль штамма – число повторов в каждом из 24 локусов MIRU-VNTR в следующем порядке: 12 локусов MIRU, ETR-A, ETR-B, ETR-C, QUB-11b, QUB-26, QUB-4156, Mtub04, Mtub21, Mtub29, Mtub30, Mtub34 и Mtub39; клональный комплекс (clonal complex, CC) согласно базе данных [221]. Пробел обозначает отсутствие обозначения данного числового профиля в базе

У 176 штаммов *M. tuberculosis* Beijing Central Asian/Russian выявлено 52 профиля MIRU-VNTR<sub>24</sub>. Индивидуальные профили имели 37 (21,0%) штаммов; 139 (79,0%) штаммов входили в состав 15 кластеров. Из них три наиболее крупных кластера (n>10) в международных базах MIRU-VNTR<sub>plus</sub> и SITVIT2 классифицированы как: 94-32 MtbC 15-9/<sub>24</sub>MIT 25/<sub>12</sub>MIT 16/CC1 (n=75), 1065-32 MtbC 15-9/<sub>24</sub>MIT 28/<sub>12</sub>MIT 16/CC1 (n=17) и 95-32 MtbC 15-9/<sub>24</sub>MIT 32/<sub>12</sub>MIT 16/CC1 (n=12) (Таблица 71, Рисунок 22).

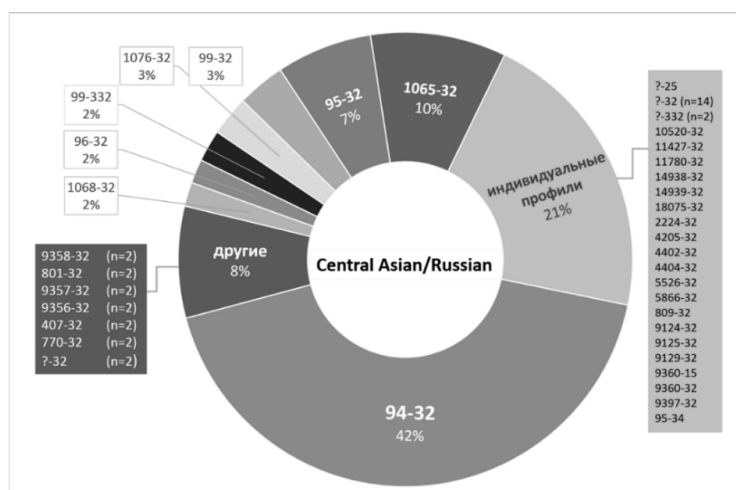


Рисунок 22 – Структура субпопуляции *M. tuberculosis* Beijing Central Asian/Russian (обозначения согласно номенклатуре MLVA MtbC 15-9)

Большинство (78,9%;15/19) штаммов CAO имели базовый профиль 94-32 Central Asian/Russian (Рисунок 22).

Преимущественно штаммы *M. tuberculosis* B0/W148 – 88,3% (68 из 77) принадлежали к четырем кластерам MIRU-VNTR<sub>24</sub>, причем самый крупный из них – 100-32 MtbC 15-9/24MIT 9/12MIT 17 содержал 59 (77%) штаммов. Остальные 9 штаммов имели индивидуальные профили (Таблица 71, Рисунок 23).

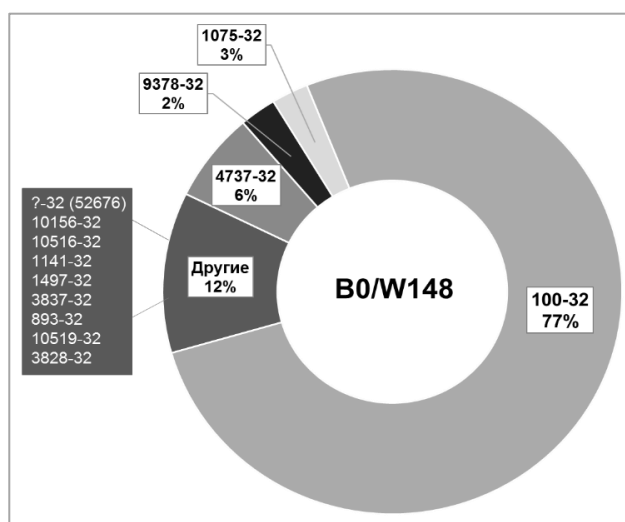


Рисунок 23 – Структура субпопуляции *M. tuberculosis* B0/W148 Beijing

Пятнадцать из 25 штаммов современной сублинии Beijing, не принадлежавших к Central Asian/Russian или B0/W148, были сгруппированы в 4 кластера: 9391-32 (9 штаммов), 9380-32, 1066-32 и 1048-32 включали по 2

штамма. Восемь штаммов древней сублинии Beijing представляли кластер 1071-32, два штамма имели уникальные профили MIRU-VNTR<sub>24</sub> (Рисунок 21).

Доли кластеризованных штаммов Central Asian/Russian и B0/W148 существенно не различались ( $p \geq 0,5$ ), однако, высокий уровень кластеризации ( $CR = 0,83$ ) свидетельствует о более выраженной однородности генотипа B0/W148 (Таблица 72).

Таблица 72 – Уровень кластеризации штаммов *M. tuberculosis* Beijing

Beijing	Число штаммов	Число кластеров	Численность кластеров	CR
B0/W148	77	4	2–59	0,83
Central Asian/Russian	176	15	2–75	0,71
Другие, современной сублинии	25	4	2–9	0,44
Древняя сублиния	10	1	8	0,70

В распределении генотипов Central Asian/Russian и B0/W148, а также кластеров MIRU-VNTR<sub>24</sub> в возрастных группах пациентов значимых различий не выявлено ( $p = 0,752$  и  $0,517$  соответственно). Однако отмечены разнонаправленные тенденции уменьшения доли кластера 100-32 (B0/W148) и увеличения доли кластера 94-32 (Central Asian/Russian) в старших возрастных группах (Рисунок 24).

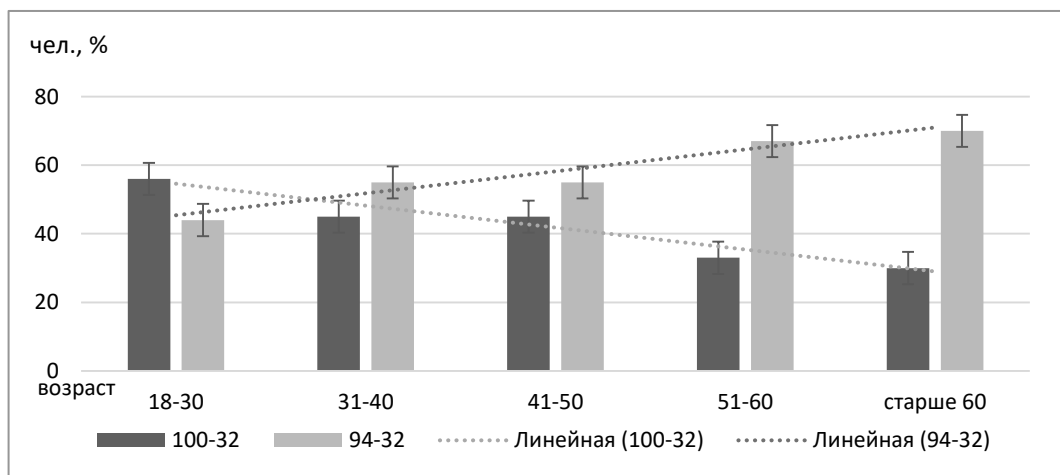


Рисунок 24 – Распределение кластеров MIRU-VNTR<sub>24</sub> в зависимости от возраста пациентов

Для оценки однородности субпопуляций штаммов Beijing в регионах был проведен расчет уровня кластеризации и индекса разнообразия HGI (Таблица 73).

Таблица 73 – Уровень кластеризации и индекса разнообразия штаммов *M. tuberculosis* Beijing в регионах СЗФО

Регион	Число штаммов	Число MIRU-VNTR-типов	Число кластеров	Численность кластеров	Число штаммов в кластерах (%)	CR	HGI
Вологодская обл.	51	22	5	2–18	34 (66,7)	0,57	0,852
Калининградская обл.	46	24	6	2–13	28 (60,9)	0,48	0,904
Республика Карелия	36	18	3	3–9	21 (58,3)	0,50	0,881
Республика Коми	73	23	8	2–21	58 (79,5)	0,68	0,854
Мурманская обл.	35	13	4	2–15	26 (74,3)	0,63	0,790
Псковская обл.	45	23	6	2–10	28 (62,2)	0,49	0,921

Как видно из таблицы 73, согласно данным MIRU-VNTR<sub>24</sub>-типирования штаммов Beijing, наибольшим разнообразием (HGI > 0,900) отличались субпопуляции *M. tuberculosis* Псковской (CR = 0,49) и Калининградской областей (CR = 0,48).

Проведен анализ встречаемости девяти наиболее многочисленных ( $n \geq 5$ ) кластеров MIRU-VNTR<sub>24</sub> в региональных субпопуляциях *M. tuberculosis* генотипа Beijing (Таблица 74). На долю B0/W148, представленных кластером 100-32, приходилось около четверти штаммов: в Калининградской области (28,3%), Республиках Коми (28,8%) и Карелии (25,0%); в наименьшей доле (7,8%) данный кластер был в Вологодской области. В Республике Коми среди штаммов B0/W148 также выявлен кластер 4737-32 (4,1%). В Мурманской (42,9%) и Вологодской (35,3%) областях преобладали штаммы Central Asian/Russian кластера 94-32. Минимальная доля штаммов 94-32 была выявлена в Калининградской области (13,0%). Штаммы Central Asian/Russian были представлены и кластером 1065-32 в Республике Коми, Псковской и Вологодской областях. Штаммы 9391-32 современной сублинии Beijing, не относящиеся к B0/W148 и Central Asian/Russian, присутствовали в субпопуляциях *M. tuberculosis* Мурманской, Калининградской, Псковской областях и Республики Карелия. Кластеры штаммов 1071-32 древней сублинии Beijing в разных долях выявлены лишь в Республике Карелия и Псковской области, единичные штаммы – в Калининградской области и Республике Коми (Таблица 74).

Таблица 74 – Распределение основных кластеров MIRU-VNTR<sub>24</sub> штаммов Beijing в регионах СЗФО

Регион	Число штаммов (%) в составе кластера									p
	B0/W148		Central Asian/Russian					Современная сублиния	Древняя сублиния	
	100-32	4737-32	94-32	1065-32	95-32	99-32	1076-32	9391-32	1071-32	
Вологодская обл.	4 (7,8)	1 (2,0)	18 (35,3)	2 (3,9)	8 (15,7)	1 (2,0)	-	-	-	< 0,001* p <sub>100-32 – 95-32</sub> = 0,002
Калининградская обл.	13 (28,3)	-	6 (13,0)	-	2 (4,3)	1 (2,2)	1 (2,2)	3 (6,5)	1 (2,2)	
Республика Карелия	9 (25,0)	1 (2,8)	9 (25,0)	1 (2,8)	-	-	-	1 (2,8)	3 (8,3)	
Республика Коми	21 (28,8)	3 (4,1)	17 (23,3)	8 (11,0)	1 (1,4)	3 (4,1)	1 (1,4)	-	1 (1,4)	
Мурманская обл.	6 (17,1)	-	15 (42,9)	-	-	-	1 (2,9)	3 (8,6)	-	
Псковская обл.	6 (13,3)	-	10 (22,2)	6 (13,3)	1 (2,2)	1 (2,2)	2 (4,4)	2 (4,4)	3 (6,7)	

Примечание: \* – различия показателей статистически значимы (p < 0,05)

Штаммы 9391-32 современной сублинии Beijing (CC3), не относящиеся к B0/W148 и Central Asian/Russian, присутствовали в субпопуляциях *M. tuberculosis* Мурманской, Калининградской, Псковской областях и Республики Карелия. Кластеры штаммов 1071-32 древней сублинии Beijing в разных долях выявлены лишь в Республике Карелия и Псковской области, единичные штаммы – в Калининградской области и Республике Коми (Таблица 74).

Сравнение наиболее многочисленных кластеров MIRU-VNTR<sub>24</sub> показало статистически значимые различия между ними по показателю фенотипической чувствительности штаммов к ПТП (Таблица 75). Данные по лекарственной чувствительности остальных MIRU-VNTR<sub>24</sub>-типов приведены в приложении 3.

Таблица 75 – Отношение к ПТП штаммов *M. tuberculosis* Beijing основных кластеров MIRU-VNTR<sub>24</sub>

Профили MIRU-VNTR <sub>24</sub>	Число штаммов (%)			p
	ЛЧ	М/П	МЛУ	
100-32	-	10 (16,9)	49 (83,1)	$< 0,001^*$ $p_{100-32 - 1076-32} = 0,003$ $p_{100-32 - 9391-32} < 0,001$ $p_{100-32 - 94-32} < 0,001$ $p_{100-32 - 95-32} = 0,008$ $p_{100-32 - 99-32} < 0,001$ $p_{1065-32 - 9391-32} < 0,001$ $p_{1065-32 - 94-32} = 0,048$ $p_{1065-32 - 99-32} = 0,010$ $p_{1071-32 - 99-32} = 0,026$ $p_{94-32 - 99-32} = 0,039$
4737-32	-	-	5 (100)	
94-32	33 (44,0)	9 (12,0)	33 (44,0)	
1065-32	-	2 (11,8)	15 (88,2)	
95-32	3 (25,0)	3 (25,0)	6 (50,0)	
99-32	2 (33,3)	4 (66,7)	-	
1076-32	1 (20,0)	3 (60,0)	1 (20,0)	
9391-32	9 (100)	-	-	
1071-32	-	-	8 (100)	

Примечание: М/П – моно- или полирезистентность,\* различия показателей статистически значимы

Как видно из таблицы 75, МЛУ-штаммы преобладали в структуре кластеров 100-32 и 4737-32 генотипа B0/W148. Штаммы Central Asian/Russian включали гетерогенные по лекарственной чувствительности кластеры MIRU-VNTR<sub>24</sub>. Так, наиболее многочисленный кластер 94-32 в равных долях (по 44,0%) был представлен ЛЧ и МЛУ штаммами. Наибольшая доля (88%) МЛУ-штаммов выявлена в кластере 1065-32. Все штаммы современной сублинии кластера 9391-32, не принадлежавшие к генотипам Central Asian/Russian или B0/W148, были чувствительны к ПТП. Напротив, все восемь штаммов древней сублинии Beijing, представленные единственным кластером 1071-32, обладали МЛУ (Таблица 75).





элемента IS6110, впервые описанный в 1996 г. [40]. Штаммы Beijing 100-32 были еще более гомогенны по трем гипервариабельным локусам (CR=0,83) (Таблица 76).

Таблица 76 – Характеристика кластеров 100-32, 94-32 и 1065-32 Beijing

Beijing MIRU- VNTR <sub>24</sub> - типы	Число штам- мов	IS6110-RFLP				VNTR			
		Число RFLP- типов	Число кластеров	Число штаммов в кластерах (%)	CR	Число VNTR- типов	Число кластеров	Число штаммов в кластерах (%)	CR
100-32	23	8	2	17 (73,9)	0,65	3	1	21(91,3)	0,83
94-32	18	9	3	12 (66,7)	0,50	7	2	12 (66,7)	0,50
1065-32	10	2	1	9 (90,0)	0,80	3	1	9 (90,0)	0,80

Так, локусы VNTR3232, VNTR3820 и VNTR4120 содержали 14, 14 и 10 повторов соответственно у 91,3% штаммов 100-32. Практически все штаммы 1065-32 (90,0%), за исключением одного, имели профиль A0 IS6110-RFLP и одинаковый числовой профиль по трем гипервариабельным локусам – 12 16 18 (CR=0,80). Штаммы 94-32 отличались большей гетерогенностью (CR=0,50) по сравнению с 100-32 и 1065-32.

#### 4.3. Характеристика субпопуляции *M. tuberculosis* non-Beijing

Сравнение профилей сполиготипирования 309 штаммов *M. tuberculosis* non-Beijing с имеющимися в международной базе данных позволило установить их принадлежность к определенному сполиготипу и генетическому семейству (линии) в соответствии с номенклатурой SITVIT2 (Приложение 1).

На рисунке 26 показана численность кластеров ( $n \geq 2$ ), включающих штаммы *M. tuberculosis* различных сполиготипов, принадлежащих к генетическим семействам T, LAM, Ural и Haarlem. Согласно SITVIT2 102 штамма (14,2%, 102/720), отнесенные к так называемому «семейству T» (в настоящее время не рассматривается в качестве истинной филогенетической группы [109]), были представлены 24 сполиготипами, из которых наиболее многочисленными оказались кластеры SIT53 (43,1%; 44/102) и SIT52 (14,7%; 15/102) (Рисунок 26).

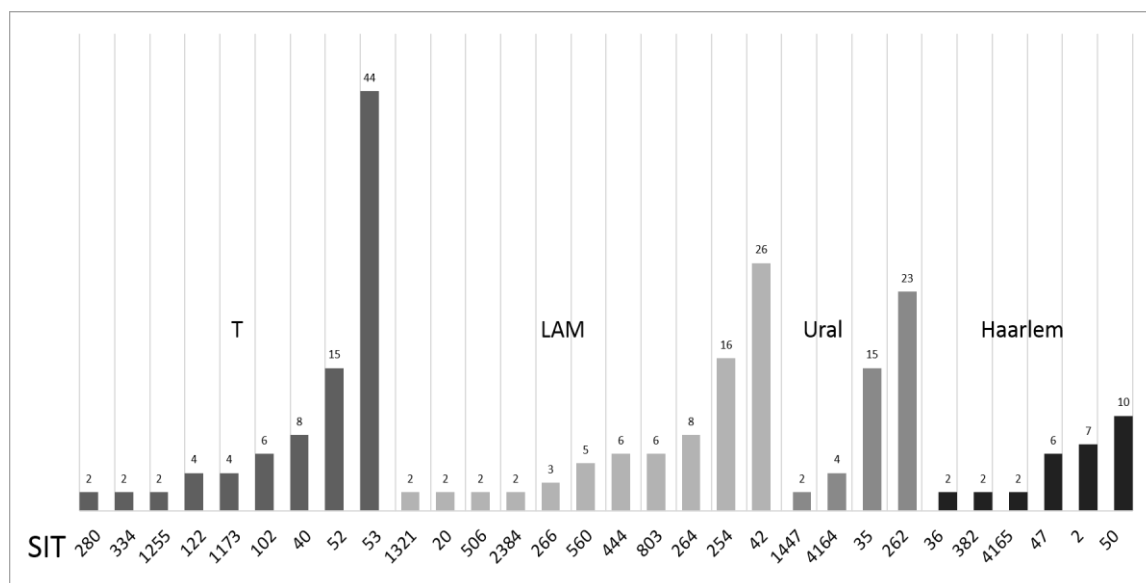


Рисунок 26 – Кластеры штаммов *M. tuberculosis*, принадлежащих к различным сполиготипам (SIT) генетических семейств T, LAM, Ural и Haarlem

Примечание: числа над столбиками отражают численность кластеров, включающих штаммы *M. tuberculosis* данного сполиготипа (SIT)

У штаммов SIT444 и SIT2384 (Рисунок 26) и SIT251, SIT561, SIT4251, (Приложение 1), ранее относимых к семейству T согласно SITVIT2, а также штаммов SIT263, SIT267 и SIT560, филогенетический статус которых не определен в SITVIT2, методом ПЦР была выявлена замена G/A в кодоне 103 гена *Rv0129c*, что служит доказательством их принадлежности к генотипу LAM [163]. Таким образом, генетическое семейство LAM (11,9%; 86/720) было представлено штаммами 19 сполиготипов (Приложение 1), среди которых преобладали SIT42 (30,2%; 26/86), SIT254 (18,6%; 16/86) (Рисунок 26).

Подавляющее большинство штаммов LAM (93%; 80/86) были отнесены к сублинии LAM-RUS, поскольку методом ПЦР у них была выявлена делеция RD115 и специфическую вставку IS6110 в гене *plcA* [145, 232, 300]; шесть штаммов: SIT42 (n=2), SIT20 (n=2) и SIT1321 (n=2) имели делеции RD174 и RD-Rio, и поэтому были определены как LAM RD174/RD-Rio [163, 300].

Штаммы генотипа Ural (7,1%; 51/720) были представлены 11 сполиготипами (Приложение 1), причем превалировали SIT262 (45,1%; 23/51) и SIT35 (29,4%; 15/51).

Штаммы семейства Haarlem (5,3%; 38/720) представлены 14 сполиготипами (Приложение 1), при этом чаще определяли SIT50 (26,3%; 10/38).

Остальные семейства группы non-Beijing (X, CAS1-Delhi и S) в изученной популяции были представлены суммарно семью штаммами редко встречающихся в России сполиготипов *M. tuberculosis*. Так, семейство X включало штаммы SIT119 (n=2), SIT137 и SIT708; CAS1-Delhi – SIT26 (n=2) и S – SIT1253 (Приложение 1).

В таблице 77 и на рисунке 27 приведен сравнительный анализ структуры сполиготипов *M. tuberculosis* non-Beijing, выявленных более, чем в одном регионе. Субпопуляции non-Beijing были неоднородны по спектру сполиготипов. Единственным сполиготипом, который был выявлен у штаммов во всех восьми регионах СЗФО, был SIT262 генотипа Ural, причем его доля была наибольшей (18,8%) в Мурманской области и наименьшей (2,4%) в Псковской области. Штаммы SIT254 (LAM) и SIT53 (T) обнаружены в семи, SIT35, SIT50 и SIT52 – в шести из восьми регионов. SIT50 и SIT52 не выявлены в Калининградской области (полуэкслав). Один из наиболее распространенных сполиготипов в мире и России, SIT42, не был выявлен в субпопуляциях *M. tuberculosis* соседних областей – Новгородской, Вологодской и Архангельской.

В целом штаммы *M. tuberculosis* non-Beijing в регионах характеризовались разнообразием сполигопротипов, что нашло отражение в значениях HGI, которые превышали 0,950 в субпопуляциях Республики Карелия, Псковской и Вологодской областей (Таблица 78).

Таблица 78 – Разнообразие сполиготипов штаммов *M. tuberculosis* non-Beijing в регионах СЗФО

Регион	Число штаммов	Число сполиготипов	Число кластеров	HGI
Архангельская обл.	29	17	6	0,919
Вологодская обл.	31	16	9	0,951
Калининградская обл.	27	15	4	0,917
Республика Карелия	31	19	7	0,957
Республика Коми	57	26	11	0,948
Мурманская обл.	32	17	6	0,927
Псковская обл.	82	37	16	0,952
Новгородская обл.	20	12	5	0,926

Таблица 77 – Сполиготипы штаммов *M. tuberculosis* в региональных субпопуляциях non-Beijing

SIT	Генотип	Число штаммов (%)							
		Архангельская обл. (n=29)	Вологодская обл. (n=31)	Калининградская обл. (n=27)	Республика Карелия (n=31)	Республика Коми (n=57)	Мурманская обл. (n=32)	Псковская обл. (n=82)	Новгородская обл. (n=20)
262	Ural	1 (3,4)	4 (12,9)	2 (7,4)	3 (9,7)	3 (5,3)	6 (18,8)	2 (2,4)	2 (10,0)
254	LAM	1 (3,4)	4 (12,9)	1 (3,7)	1 (3,2)	2 (3,5)	1 (3,1)	6 (7,3)	-
53	T	8 (27,6)	2 (6,5)	6 (22,2)	2 (6,5)	9 (15,8)	-	12 (14,6)	5 (25,0)
52	T	2 (6,9)	3 (9,7)	-	2 (6,5)	5 (8,8)	1 (3,1)	2 (2,4)	-
35	Ural	2 (6,9)	-	1 (3,7)	3 (9,7)	-	6 (18,8)	1 (1,2)	2 (10,0)
50	Haarlem	2 (6,9)	1 (3,2)	-	2 (6,5)	1 (1,8)	-	2 (2,4)	2 (10,0)
42	LAM	-	-	5 (18,5)	2 (6,5)	6 (10,5)	3 (9,4)	10 (12,2)	-
264	LAM	-	2 (6,5)	-	-	1 (1,8)	-	4 (4,9)	1 (5,0)
40	T	1 (3,4)	-	1 (3,7)	5 (16,1)	-	1 (3,1)	-	-
444	LAM	-	-	3 (11,1)	-	2 (3,5)	-	1 (1,2)	-
803	LAM	1 (3,4)	-	-	-	4 (7,0)	-	-	1 (5,0)
560	LAM	-	-	1 (3,7)	-	-	-	2 (2,4)	2 (10,0)
122	T	-	1 (3,2)	-	-	-	2 (6,3)	1 (1,2)	-
2	Haarlem	-	2 (6,5)	-	-	-	2 (6,3)	3 (3,7)	-
47	Haarlem	1 (3,4)	-	-	-	3 (5,3)	-	2 (2,4)	-
56	Unknown	1 (3,4)	2 (6,5)	-	-	-	-	1 (1,2)	-
266	LAM	-	-	-	1 (3,2)	-	-	2 (2,4)	-
20	LAM	-	-	-	1 (3,2)	-	-	1 (1,2)	-
506	LAM	-	-	-	-	1 (1,8)	-	1 (1,2)	-
1173	T	-	3 (9,7)	-	-	-	-	1 (1,2)	-
334	T	-	-	1 (3,7)	-	1 (1,8)	-	-	-
1255	T	-	-	-	1 (3,2)	-	1 (3,1)	-	-
1447	Ural	-	-	-	-	1 (1,8)	1 (3,1)	-	-
36	Haarlem	1 (3,4)	-	-	-	-	-	1 (1,2)	-
237	Unknown	-	-	-	-	1 (1,8)	1 (3,1)	-	-
119	X	-	-	-	1 (3,2)	1 (1,8)	-	-	-
26	CAS1-Delhi	1 (3,4)	-	-	-	-	-	1 (1,2)	-

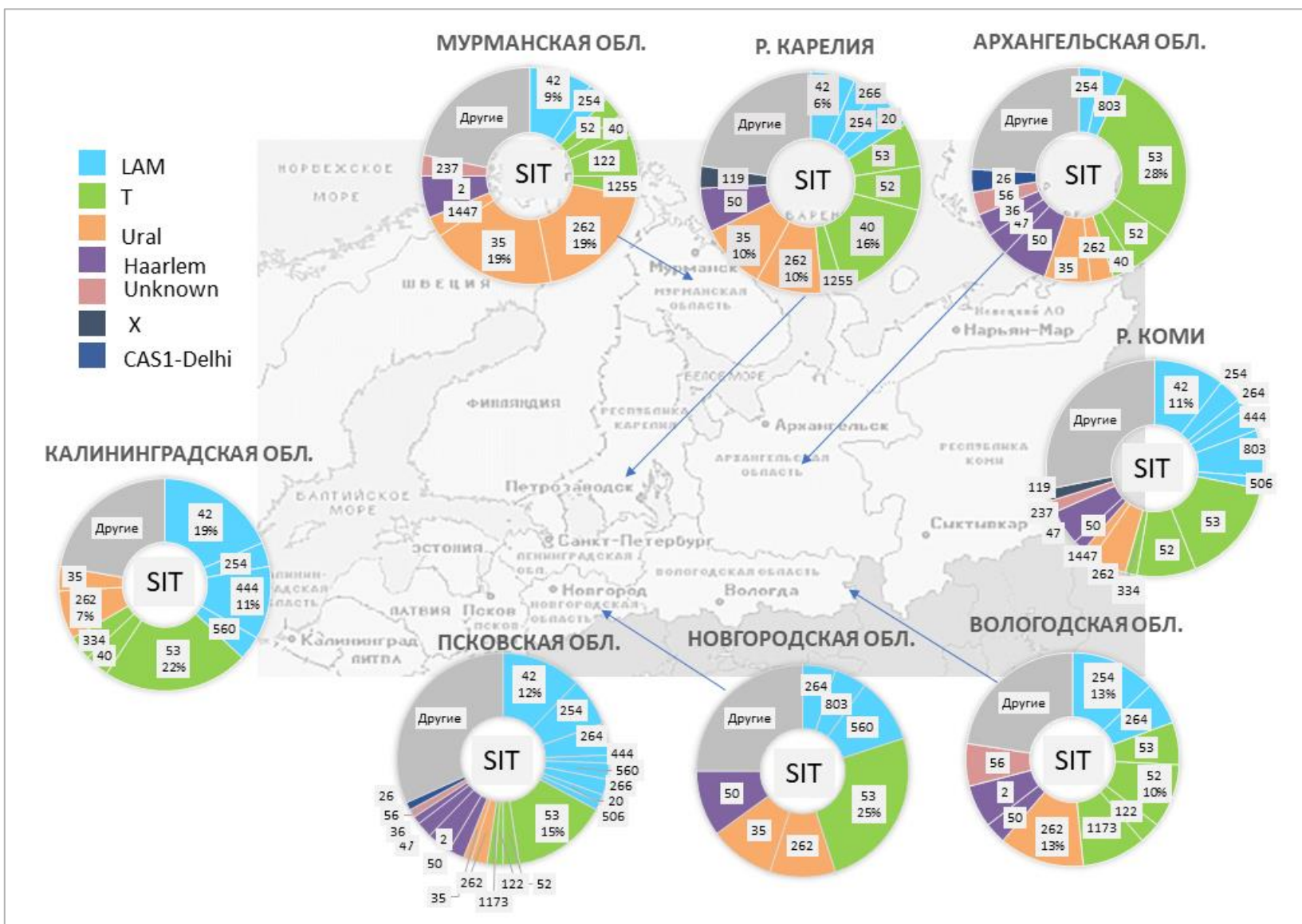


Рисунок 27 – Распределение сполито-кластеров в структуре региональных популяций



Среди МЛЮ штаммов преобладали принадлежащие к сполиготипам SIT262 (Ural) – 20,0% (8/40) и SIT42 (LAM) -12,5% (5/40), доли остальных сполиготипов составляли менее 10%.

Характеристика генотипической устойчивости к ПТП 40 МЛЮ-штаммов *M. tuberculosis* различных генетических семейств приведена в таблице 80.

Таблица 80 – Профили мутаций устойчивости к изониазиду и рифампицину МЛЮ штаммов *M. tuberculosis* non-Beijing

Профиль мутаций	Генотипы				
	T (n=5)	LAM (n=12)	Ural (n=9)	Haarlem (n=6)	Unknown (n=8)
<i>katG</i> Ser315Thr, <i>rpoB</i> Ser531Leu	3 (60,0)	3 (25,0)	5 (55,6)	4 (66,7)	5 (62,5)
<i>katG</i> Ser315Thr, <i>rpoB</i> His526Tyr	1 (20,0)	1 (8,3)	-	-	-
<i>katG</i> Ser315Thr, <i>rpoB</i> His526Asp	-	-	-	1 (16,7)	1 (12,5)
<i>katG</i> Ser315Thr, <i>rpoB</i> Asp516Tyr	-	-	1 (11,1)	-	-
<i>katG</i> Ser315Thr, <i>inhA</i> C(-15)T, <i>rpoB</i> Asp516Val	-	1 (8,3)	-	-	2 (25,0)
<i>katG</i> Ser315Thr, <i>inhA</i> C(-15)T, <i>rpoB</i> His526Asp	-	3 (25,0)	-	-	-
<i>katG</i> Ser315Thr, <i>inhA</i> C(-15)T, <i>rpoB</i> His526Tyr	-	1 (8,3)	-	-	-
<i>katG</i> Ser315Thr, <i>inhA</i> C(-15)T, <i>rpoB</i> Ser531Leu	-	3 (25,0)	2 (22,2)	-	-
<i>katG</i> Ser315Thr, <i>rpoB</i> *	1 (20,0)	-	1 (11,1)	1 (16,7)	-

Примечание: \* мутации устойчивости к рифампицину, определяемые набором реагентов «Амплитуб-МЛЮ-РВ», не обнаружены

Как видно из таблицы 80, у штаммов non-Beijing генотипов T, Ural, Haarlem и штаммов, генотип которых не определен, фенотипическая устойчивость к рифампицину и изониазиду была обусловлена преимущественно заменами *rpoB* Ser531Leu и *katG* Ser315Thr соответственно. Штаммы LAM отличались от других генетических семейств более разнообразными профилями мутаций в гене *rpoB*. Среди штаммов LAM встречались с одинаковой частотой (по 25,0%) штаммы с профилями *katG* Ser315Thr, *rpoB* Ser531Leu; *katG* Ser315Thr, *inhA* C(-15)T, *rpoB* Ser531Leu и *katG* Ser315Thr, *inhA* C(-15)T, *rpoB* His526Asp.



#### 4.4. Генотипы штаммов *M. tuberculosis*, выделенных от ВИЧ-положительных больных с впервые выявленным туберкулезом

Общая доля штаммов *M. tuberculosis*, выделенных от ВИЧ-положительных больных впервые выявленным туберкулезом, проживающих на территории шести регионов СЗФО (Архангельская обл., Вологодская обл., Калининградская обл., Мурманская обл., Новгородская обл., Республика Коми), составила 10,1% (49/483) (Таблица 81).

Таблица 81 – Сравнительная характеристика штаммов, выделенных от ВИЧ-негативных и ВИЧ-положительных пациентов

Показатель	ВИЧ-негативные (n=434)		ВИЧ-положительные (n=49)		p
	Абс.	%	Абс.	%	
	Генотип				
Beijing	256	59,0	34	69,4	0,159
non-Beijing	178	41,0	15	30,6	
	Основные генотипы Beijing				
B0/W148	72	28,1	11	32,4	0,711
CAO	16	6,2	3	8,8	
Central Asian/Russian	143	55,9	19	55,9	
	Основные генотип non-Beijing				
Haarlem	18	4,1	3	6,1	0,248
LAM	42	9,7	4	8,2	
T	65	15,0	2	4,1	
Ural	31	7,1	4	8,2	

Доля МЛУ-штаммов *M. tuberculosis* у пациентов ТБ/ВИЧ существенно превышала таковую в группе ВИЧ-негативных пациентов (53,1% (26/49) против 35,0% (152/434);  $p=0,045$ ). Относительный риск обнаружения МЛУ-ТБ у ВИЧ-положительных лиц был выше ( $RR=1,52$  [1,13–2,03]). В группе ТБ/ВИЧ отмечено незначительное преобладание доли генотипа Beijing, в частности B0/W148. При этом все штаммы B0/W148 обладали МЛУ, в то время как в группе ВИЧ-негативных пациентов, доля МЛУ-штаммов B0/W148 составляла 86,0% (62/72) ( $p=0,188$ ). 90,9% ВИЧ-положительных пациентов, инфицированных *M. tuberculosis* B0/W148, были в возрасте до 40 лет, что значительно превышало долю ВИЧ-негативных пациентов того же возраста – 48,6% ( $p=0,009$ ).

## ГЛАВА 5. Разработка способов ускоренного генотипирования штаммов Beijing и алгоритм исследования популяции *M. tuberculosis*

### 5.1. Разработка ускоренных способов генотипирования штаммов генетического семейства Beijing *M. tuberculosis*

Особенностью структуры популяции *M. tuberculosis* в России является принадлежность около половины штаммов возбудителя к семейству Beijing, неоднородному по ряду генетических маркеров [17, 25, 30, 33, 39, 51, 65, 94, 299]. Существующие методы выявления и генотипирования *M. tuberculosis* Beijing – IS6110-RFLP, MIRU-VNTR<sub>24</sub>, сполиготипирование, секвенирование нескольких генов или полногеномное секвенирование трудоемки, затратны по времени и требуют специальных знаний в области биоинформационной обработки полученных данных и филогенетического анализа [191, 185, 295, 304].

Учитывая изложенное, на основе различных модификаций ПЦР нами были разработаны ускоренные способы выявления актуальных вариантов – кластера 94-32 (Central Asian/Russian), субтипа CAO, древней и современной филогенетических сублиний и кластера 1071-32 древней сублинии в субпопуляции *M. tuberculosis* Beijing. Выбор мишеней для амплификации специфических участков генома, нуклеотидных последовательностей для конструирования праймеров и флуоресцентно меченных зондов проведен с использованием биоинформационного и филогенетического анализа данных полногеномного секвенирования референтного штамма H37Rv (GenBank NC\_000962.3) и нескольких сотен штаммов *M. tuberculosis*, представленных в международных электронных базах данных (National Center for Biotechnology Information и European Nucleotide Archive).

1. Аллель-специфическая ПЦР-РВ была разработана нами для идентификации кластера 94-32 (Central Asian/Russian) Beijing путем обнаружения в гене *sigE* специфической однонуклеотидной замены G>A в позиции 294, соответствует позиции 1364706 в геноме референтного штамма *M. tuberculosis* H37Rv (GenBank NC\_000962.3) (Патент на изобретение РФ № 2689800 «Способ

детекции изолятов *Mycobacterium tuberculosis* Beijing 94-32-кластера в формате реального времени»).

Нуклеотидные последовательности сконструированных праймеров (94-32For, 94-32Rev) и флуоресцентно-меченных зондов (94-32WT, 94-32MUT) (Рисунок 28), условия ПЦР по кривым накопления флуоресцентного сигнала приведены в таблице 82.

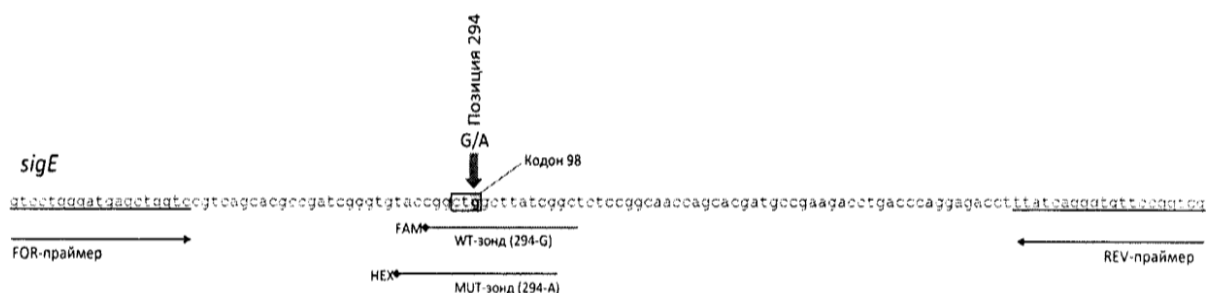


Рисунок 28 – Схема расположения праймеров и зондов для идентификации генотипа Central Asian/Russian Beijing

Примечание: Короткие стрелки – позиции праймеров и зондов в геноме H37Rv

Таблица 82 – Последовательности олигонуклеотидных праймеров и зондов, условия ПЦР-РВ для идентификации кластера 94-32 (Central Asian/Russian) Beijing *M. tuberculosis*

Праймер, зонд	Нуклеотидная последовательность 5' – 3'	Условия ПЦР
94-32FOR	gtcctgggatgagctggtc	ПЦР смесь (конечный объем 30 мкл): 1 U Taq ДНК полимеразы («Силекс», Москва), для ПЦР-РВ, 1,5 mM MgCl <sub>2</sub> («Силекс», Москва), 200 μM каждого из дНТФ («Евроген», Москва), по 5 пмоль праймеров и зондов. Режим ПЦР: 95 °С, 10 мин; далее 40 циклов 94 °С, 15 с; 60 °С, 40 с. Считывание сигнала флуоресценции - при 60°С.
94-32REV	cgaccggaacacctgataa	
94-32WT	FAM-cggctggcttatcggc-BHQ1	
94-32MUT	HEX -gtaccggctagcttatcg-BHQ2	

Анализ результатов ПЦР-РВ проводили по кривым накопления флуоресцентного сигнала по каждому из каналов: HEX – специфического продукта амплификации (фрагмента ДНК гена *sigE* с заменой G>A в позиции 294) для кластера 94-32, FAM – для любого другого варианта генотипа Beijing *M. tuberculosis*. При отсутствии сигнала флуоресценции по обоим каналам делается вывод о

недостаточном количестве и/или качестве ДНК или ингибировании реакции ПЦР и невозможности какого-либо вывода о наличии или отсутствии ДНК штамма Beijing 94-32-кластера в образце.

2. Мультиплексная ПЦР была разработана для идентификации субтипа CAO путем обнаружения специфической инсерции IS6110 в межгенном участке Rv1359 - Rv1360 в позиции 1531009 генома референтного штамма H37Rv (GenBank NC\_000962.3) (Патент на изобретение РФ № 2735415 «Способ выявления микобактерий туберкулеза Центрально-Азиатского эпидемического кластера генотипа Beijing») (Рисунок 29).

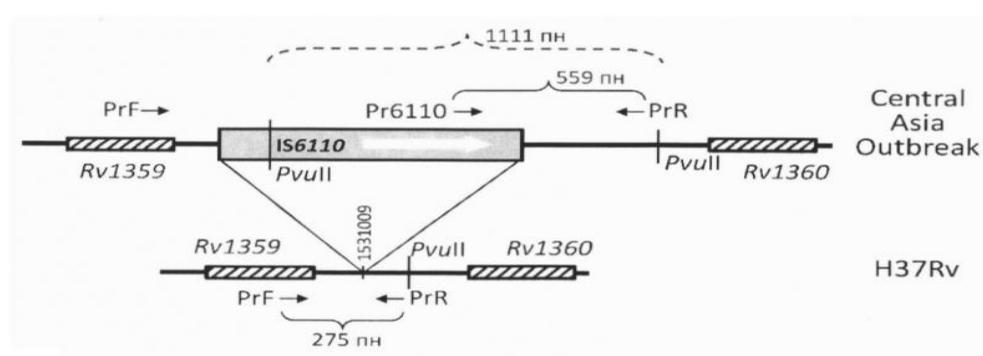


Рисунок 29 – Схема расположения праймеров для идентификации субтипа CAO Beijing

Нуклеотидные последовательности сконструированных праймеров представлены (Pr6110, PrF, PrR) в таблице 83.

Таблица 83 – Последовательности олигонуклеотидных праймеров и условия ПЦР для идентификации субтипа CAO

Праймер	Нуклеотидная последовательность 5' – 3'	Условия ПЦР
Pr6110	cg tactcgacstgaaagacg	ПЦР смесь (конечный объем 25 мкл): 1 U полимеразы Taq («Силекс», Москва), 1,5 mM MgCl <sub>2</sub> («Силекс», Москва), 200 μM каждого из дНТФ («Евроген», Москва), по 15 пмоль каждого праймера. Режим ПЦР: 95°C, 2 мин, 40 циклов 95°C, 20 с, 63°C, 30 с, 72°C, 50 с и элонгация 72°C, 50 с.
PrF	ggatggtccttgctgggtg	
PrR	gtatgagcacaagacaccgc	

Визуализацию продуктов амплификации проводили путем электрофореза в горизонтальном 1,3% агарозном геле, отмечая наличие характерного для штаммов *M. tuberculosis* Beijing кластера CAO фрагмента 559 п.н. (для других генотипов – 275 п.н.) (Рисунок 30).

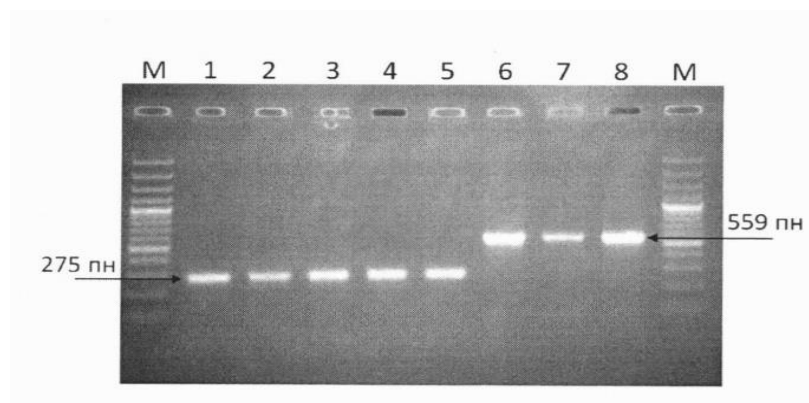


Рисунок 30 – Электрофореграмма продуктов амплификации

Примечание: М – маркер молекулярных весов GeneRuler 100 bp DNA Ladder («Thermo Fisher Scientific», США); 1–5 – ДНК *M. tuberculosis* различных генотипов; 6–8 – ДНК штаммов Beijing CAO

3. Нами разработан способ для дифференциации современной и древней сублиний Beijing на основе ПЦР-РВ путем обнаружения замен GGA>CGA в кодоне 58 гена *mutT2* и CGG>GGG в кодоне 48 гена *mutT4* (позиции 1286766 и 4393590, соответственно, в геноме референтного штамма H37Rv NC\_000962.3) (Патент на изобретение РФ № 2743365 «Способ детекции филогенетических сублиний генотипа Beijing *Mycobacterium tuberculosis* в формате реального времени») (Рисунок 31).

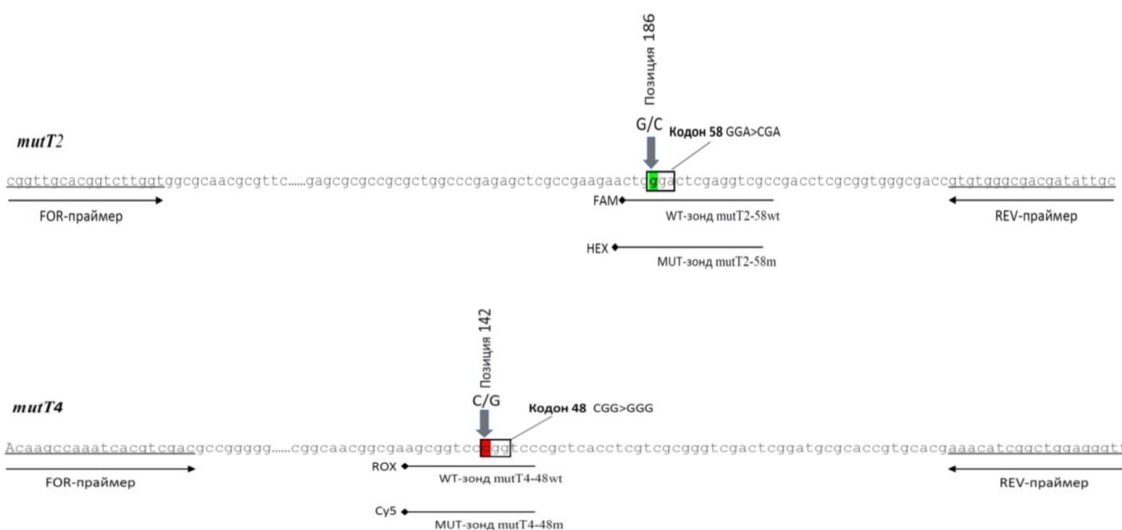


Рисунок 31 – Схема расположения праймеров и зондов для идентификации филогенетических сублиний генотипа Beijing

Примечание: Тонкие стрелки – позиции праймеров и зондов в геноме H37Rv, широкая стрелка – позиции маркерных нуклеотидных замен в генах *mutT2-58* *mutT4-48*

Нуклеотидные последовательности праймеров (58mutT2F, 58mutT2R, 48mutT4F, 48mutT4R), флуоресцентно-меченных зондов (58mutT2WT, 58mutT2MUT, 48mutT4WT, 48mutT4MUT) и условия ПЦР-РВ приведены в таблице 84

Таблица 84 – Последовательности олигонуклеотидных праймеров, зондов, условия ПЦР-РВ для идентификации филогенетических сублиний Beijing

Праймер, зонд	Нуклеотидная последовательность 5' – 3'	Условия ПЦР
58mutT2F	cgggtgcacggtcttggt	ПЦР смесь (конечный объем 30 мкл): 1 U Taq ДНК полимеразы «горячего старта» для ПЦР-РВ («Синтол», Москва), 1,5 mM MgCl <sub>2</sub> («Силекс», Москва), 200 μM каждого из дНТФ («Евроген», Москва), праймеры и зонды (по 5 пмоль каждый кроме зонда mutT2-58m-HEX-4 пмоль). Режим ПЦР: 95°C, 3 мин; далее 40 циклов 95°C, 15 с; 63°C, 40 с. Считывание сигнала флуоресценции – при 63°C.
58mutT2R	gcaatatcgtcgcccacac	
48mutT4F	acaagccaaatcacgtcgac	
48mutT4R	aacctccagccgatgttt	
58mutT2WT	FAM-5'-ctgggactcgaggtcgc-RTQ1	
58mutT2MUT	HEX-5'-actgcgactcgaggtcg-BHQ2	
48mutT4WT	ROX-5'-agcgggtcccgggtcc-BHQ2	
48mutT4MUT	Cy5-5'-agcgggtcccgggtcc-BHQ2	

Регистрацию экспоненциального роста накопления сигнала флуоресценции по каналам HEX и Cy5 указывала на принадлежность штамма к современной сублинии, по каналам FAM и Cy5 – к древней сублинии, по каналам FAM и ROX – к ранне-древней сублинии генотипа Beijing *M. tuberculosis* (Таблица 85).

Таблица 85 – Интерпретация результатов ПЦР-РВ для идентификации филогенетических сублиний Beijing

Сублиния Beijing	Ген, кодон, аллель	Краситель/канал детекции
Современная	<i>mutT2-58m</i> (CGA)	Cy5/Red
	<i>mutT4-48m</i> (GGG)	HEX/Yellow
Древняя	<i>mutT2-58wt</i> (GGA)	Cy5/Red
	<i>mutT4-48m</i> (GGG)	FAM/Green
Ранне-древняя	<i>mutT2-58wt</i> (GGA)	ROX/Orange
	<i>mutT4-48wt</i> (CGG)	FAM/Green

Примечание: wt – аллель дикого типа, m – мутантный аллель

4. Способ определения принадлежности к кластеру 1071-32 древней сублинии Beijing был разработан на основе метода ПЦР-РВ путем выявления замены нуклеотида 222C>T в гене *Rv0144* (кодон 74 GCC>GCT Ala-Ala, что соответствует позиции 170505 C>T в геноме референтного штамма H37Rv NC\_000962.3) (Патент на изобретение РФ № 2768021 «Способ детекции генотипа *M. tuberculosis* Beijing 1071-32-кластер в формате реального времени») (Рисунок 32).

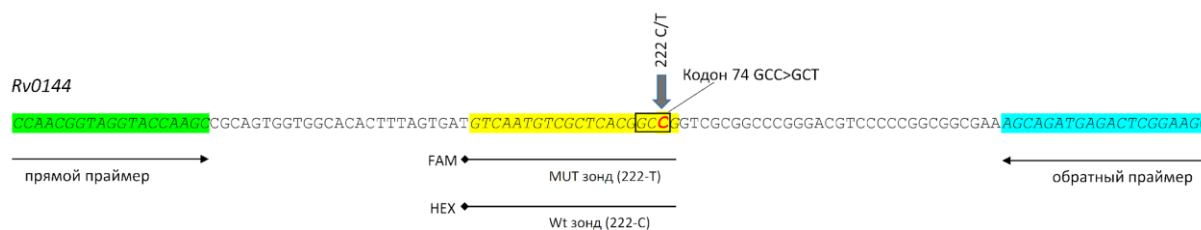


Рисунок 32 – Схема расположения праймеров и зондов для идентификации кластера 1071-32 древней сублинии Beijing

Примечание: Тонкие стрелки – позиции праймеров и зондов в геноме H37Rv; широкая стрелка – позиция нуклеотидной замены C>T в гене *Rv0144* в позиция 222 (кодон 74). Wt – аллель дикого типа, MUT – мутантный аллель

Нуклеотидные последовательности сконструированных праймеров (1071F, 1071R) и флуоресцентно-меченных зондов (1071WT, 1071MUT), условия ПЦР-РВ приведены в таблице 86.

Таблица 86 – Последовательности олигонуклеотидных праймеров, зондов, условия ПЦР-РВ для определения кластера 1071-32 древней сублинии Beijing

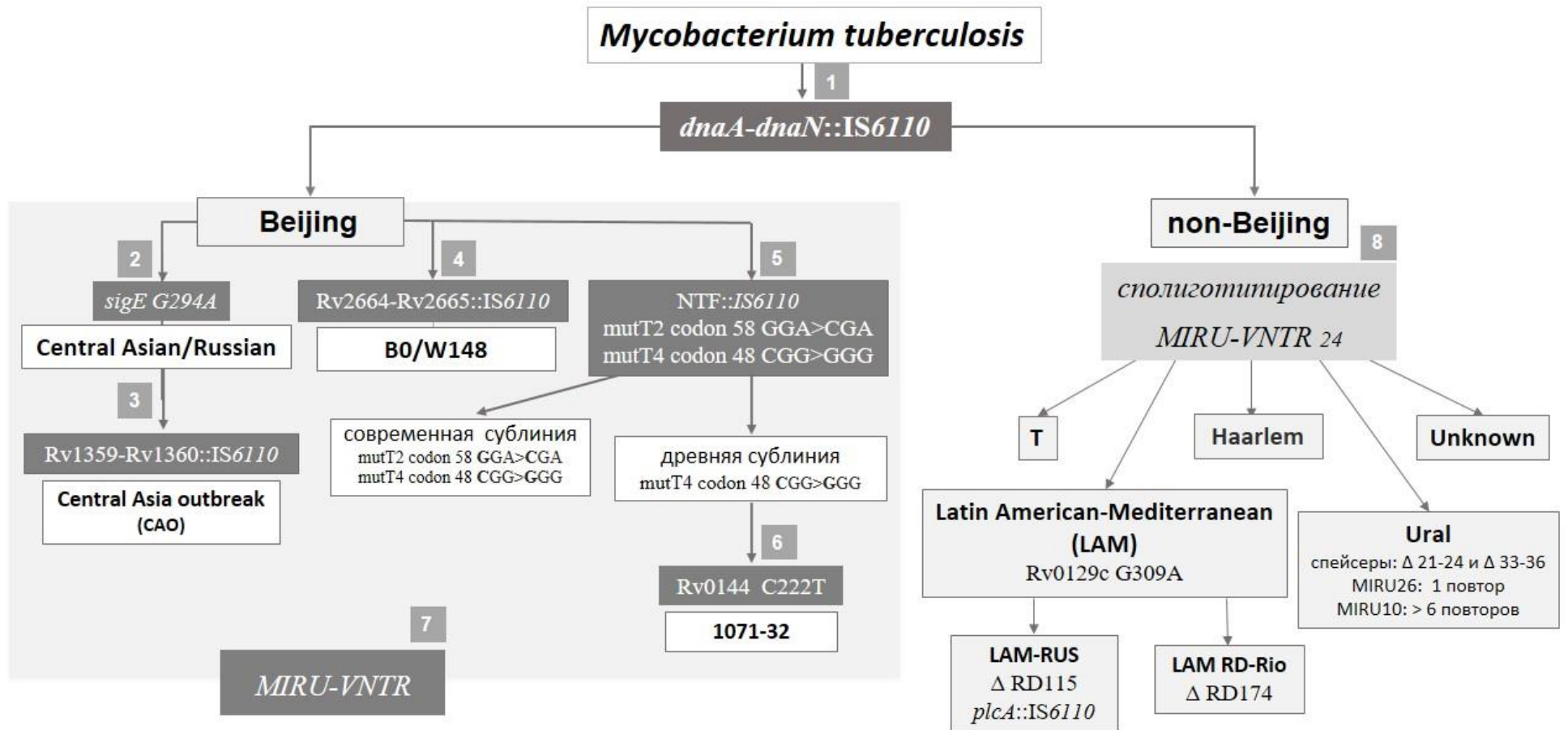
Праймер, зонд	Нуклеотидная последовательность 5' – 3'	Условия ПЦР
1071F	ccaacggtaggtaccsaagc	ПЦР смесь (конечный объем 30 мкл): 1 U Taq ДНК полимеразы для ПЦР-РВ «Синтол», Москва), 1,5 mM MgCl <sub>2</sub> «Синтол», Москва), 200 μM каждого из дНТФ («Евроген», Москва), по 5 пмоль праймеров и зондов. Режим ПЦР: 95°C, 5 мин; далее 45 циклов 95°C, 30 с; 60°C, 10 с, 72°C, 20 с. Считывание сигнала флуоресценции – при 60°C.
1071R	gcttccgagtctcatctgct	
1071WT	R6G-gttcaatgtcgcctcacggc[c-lna]g-BHQ1	
1071MUT	FAM-gttcaatgtcgcctcacggc[t-lna]g-BHQ1	

Оценку результатов проводили по кривым накопления флуоресцентного сигнала между 20–35 циклом ПЦР-РВ: по каналу FAM регистрировали накопление продукта амплификации фрагмента ДНК, специфического для кластера 1071-32 генотипа Beijing, по каналу HEX – для любого другого генотипа *M. tuberculosis*.

## 5.2. Алгоритм генотипирования штаммов при исследовании популяции *M. tuberculosis*

Обобщенные данные о распространенности линий, сублиний, генетических семейств (генотипов), кластеров, полученные в результате генотипирования 720 штаммов возбудителя туберкулеза, выявили принадлежность более половины (57,1%) изученных в СЗФО штаммов *M. tuberculosis* к генетическому семейству Beijing, превалирование в субпопуляции Beijing современной сублинии – штаммов Central Asian/Russian, включая ассоциированный с устойчивостью к ПТП субтип CAO, и эпидемиологически и клинически значимый генотип B0/W148. Анализ представленных в работе данных и публикаций, посвященных методам генотипирования *M. tuberculosis*, позволил создать оптимальный алгоритм поэтапного ускоренного генотипирования штаммов при исследовании гетерогенности популяции возбудителя с использованием разработанных на основе метода ПЦР способов идентификации актуальных вариантов Beijing (Рисунок 33).



Рисунок 33 – Алгоритм генотипирования *M. tuberculosis*

Этапы генотипирования штаммов *M. tuberculosis*:

1. определение принадлежности штаммов к генотипу Beijing путем выявления специфической инсерции IS6110 в межгенной области *dnaA-dnaN* методом мультиплексной ПЦР-РВ [100].

2. идентификация генотипа Central Asian/Russian (другое наименование – кластер кластера 94-32) Beijing разработанным нами способом на основе аллель-специфической ПЦР-РВ для амплификации фрагмента гена *sigE* с целью обнаружения замены G>A в в геномной позиции 1364706 референтного штамма *M. tuberculosis* H37Rv (GenBank NC\_000962.3) (Патент на изобретение РФ № 2689800 «Способ детекции изолятов *Mycobacterium tuberculosis* Beijing 94-32-кластера в формате реального времени»);

3. выявление субтипа CAO Central Asian/Russian разработанным нами способом на основе мультиплексной ПЦР для обнаружения генотип-специфической вставки IS6110 в межгенной области *Rv1359 - Rv1360* в позиции 1531009 генома референтного штамма *M. tuberculosis* H37Rv (GenBank NC\_000962.3) [221, 281] (Патент на изобретение РФ № 2735415 «Способ выявления микобактерий туберкулеза Центрально-Азиатского эпидемического кластера генотипа Beijing»);

4. идентификация B0/W148 у штаммов Beijing (которые не были отнесены к генотипу Central Asian/Russian) на основе мультиплексной ПЦР-РВ для выявления вставки IS6110 в области *Rv2664 - Rv2665* в позиции 2982598/9 генома референтного штамма *M. tuberculosis* H37Rv (GenBank NC\_000962.2). Нуклеотидные последовательности сконструированных праймеров (BZF, BZR, BZRi) и флуоресцентно-меченных зондов (PBZ, pPBZ), условия и оценка результатов ПЦР-РВ приведены в приложении 4.

5. установление принадлежности к современной либо древней сублинии остальных штаммов Beijing, не относящихся к Central Asian/Russian и B0/W148, с помощью ПЦР для выявления вставки IS6110 в локусе NTF *M. tuberculosis* [312] и ПЦР-РВ для обнаружения замен GGA>CGA в кодоне 58 гена *mutT2* и CGG>GGG в кодоне 48 гена *mutT4* (Патент на изобретение РФ № 2743365

«Способ детекции филогенетических сублиний генотипа *Beijing Mycobacterium tuberculosis* в формате реального времени»).

6. определение принадлежности к кластеру 1071-32 древней сублинии *Beijing* с использованием ПЦР-РВ для выявления замены нуклеотида 222С>Т в гене *Rv0144* (Патент на изобретение РФ № 2768021 «Способ детекции генотипа *Mycobacterium tuberculosis Beijing* 1071-32-кластер в формате реального времени»).

7. тонкая дифференциация штаммов генотипа *Beijing* с использованием метода MIRU-VNTR-типирования по дискриминирующим локусам [295] для мониторинга и оценки эпидемиологической значимости генотипов *M. tuberculosis*.

8. Сполиготипирование [191] и/или MIRU-VNTR по 24 локусам [295] штаммов *M. tuberculosis*, не относящиеся к генотипу *Beijing* (non-*Beijing*). При определении принадлежности штаммов *M. tuberculosis* с неоднозначно трактуемыми сполигопрофилями (SITVIT2) к генетическим семействам LAM и Ural следует учитывать дополнительные филогенетические маркеры: выявление замены G309A в гене *Rv0129c* для генотипа LAM, наличие единственного повтора в локусе MIRU26 и более шести повторов в локусе MIRU10, а также отсутствие сигналов гибридизации 29-31 и 33-36 в профиле сполиготипирования для генотипа Ural [163, 238].

## ГЛАВА 6. Мутации резистентности к бедаквину серийных изолятов

*M. tuberculosis*

Появление и распространение МЛУ/ШЛУ штаммов *M. tuberculosis* приводит к необходимости внедрения новых ПТП, одним из которых является перспективный пероральный препарат группы А – бедаквлин [323]. Если для препаратов первой и второй линии терапии туберкулеза молекулярные механизмы формирования устойчивости *M. tuberculosis* достаточно хорошо изучены, значение геномных мутаций в формировании устойчивости к бедаквину клинических изолятов возбудителя находится в процессе исследования.

Развитие устойчивости к бедаквину в ходе лечения изучали, используя изоляты *M. tuberculosis* больных МЛУ-ТБ, которые проходили курсы терапии ПТП, включая бедаквлин, в противотуберкулезном диспансере (ПТД) Калининградской области (Таблица 87). Фенотипическое определение чувствительности изолятов *M. tuberculosis* к бедаквину на момент исследования (2018–2019 гг.) не было доступно ни в региональной лаборатории ПТД (Калининград), ни в референс-лаборатории СПбНИИФ (Санкт-Петербург). Поэтому определяли мутации *mmpR5* (*Rv0678*), *atpE* (*Rv1305*), *pepQ* (*Rv2535c*) и *Rv1979c*, лишь недавно описанные в качестве генетических маркеров устойчивости к бедаквину (и перекрестной устойчивости к клоfazимину) в первом каталоге мутаций, ассоциированных с лекарственной устойчивостью *M. tuberculosis*, опубликованном ВОЗ [190, 253, 264, 308, 323].

Для этого на платформах MiSeq или NextSeq 500 (Illumina) провели полногеномное секвенирование 43 МЛУ, пре-ШЛУ и ШЛУ серийных изолятов возбудителя 11 больных МЛУ-ТБ.

Полногеномные нуклеотидные последовательности 43 серийных изолятов *M. tuberculosis* были депонированы в Sequence Read Archive (SRA) NCBI, USA (архив чтений последовательностей Национального центра биотехнологической информации): PRJNA525341 и PRJNA635788, BioProject «*Mycobacterium tuberculosis* raw sequence reads, Kaliningrad, Russia».

Таблица 87 – Характеристика серийных изолятов *M. tuberculosis*, выделенных от больных, леченных бедаквилином

Пациент (П), пол, возраст, диагноз, год заболевания, ВИЧ статус	Изолят, дата посева	Генотип штамма	Профиль фенотипической ЛУ до начала лечения бедаквилином	Характерист ика ЛУ	Лечение, период	Мутации устойчивости к бедаквилину (ген)	Исход Лечения
П1 Ж., 39 лет, ДТЛ, 2018, ВИЧ	51428 22.02.18 2901 18.04.18 3638 18.05.18 7591 18.10.18	Beijing B0/W148	HRSEtoCsPAS	МЛУ	ZELfxAmLzdBq 23.05.18–25.12.18	Не обнаружено	Эффективное, курс завершен
П2 М., 45 лет, ФКТЛ, 1999, ВИЧ	6982 24.09.18 7666 22.10.18 8424 20.11.18 9250 20.12.18	Beijing B0/W148	HRSEKmCmEto OfxCsAmPAS	ШЛУ	ZMfxLzdPczBq 26.10.18–26.02.19	<i>Rv0678</i>	Неудача лечения, летальный
П3 Ж., 26 лет, ИТЛ, 2016	20115 27.06.18 6024 16.08.18 8425 20.11.18	Beijing B0/W148	HRSEOfxEtoPAS	пре-ШЛУ	CmZMfxTrdPczBq 04.09.18 -25.12.18	<i>Rv0678</i>	Неудача лечения
П4 М., 34 года, ФКТЛ, 2010, ВИЧ	5851 13.08.18 6663 12.09.18 9000 12.12.18	Beijing B0/W148	HRSEKmCmEto OfxAmPAS	ШЛУ	ZCsCmMfxLfxPcz Bq 17.09.18 -26.03.19	Не обнаружено	Неудача лечения, летальный

продолжение таблицы 87

Пациент (П), пол, возраст, диагноз, год заболевания, ВИЧ статус	Изолят, дата посева	Генотип штамма	Профиль фенотипической ЛУ до начала лечения бедаквилином	Характер истика ЛУ	Лечение, период	Мутации устойчивости к бедаквилину в гене	Исход Лечения
П5 М, 31 год, ФКТЛ, 2016	2902 18.04.18 6831 18.09.18 7645 19.10.18 9194 19.12.18	Beijing B0/W148	HRSZEKmCm OfxCsPth	ШЛУ	AmZLfxPASpCz Bq 26.03.18 - 18.10.18	<i>atpE</i>	Неудача лечения
П6 Ж., 38 лет, ФКТЛ, 2007	6871 19.09.18 8295 15.11.18 9050 13.12.18	Beijing B0/W148	HRSEKmOfx	ШЛУ	ZCmMfxTrdPthB q 20.09.18 - 15.03.19	Не обнаружено	Эффективное, курс завершен
П7 М., 38 лет, ТБ бронхов, 2007	5175 16.07.18 6072 20.08.18	Beijing Central Asian/Russian CAO	HRSEKmCmAm PthOfxCsPAS	ШЛУ	ZLfxTrdPczBq 20.06.17 - 30.04.18	Не обнаружено	Эффективное, курс завершен
П8 М., 42 года, ФКТЛ, 2011, ВИЧ	1404 22.02.18 2184 23.03.18 3053 23.04.18 4702 26.06.18 6384 30.08.18 8628 27.11.18	Beijing Central Asian/Russian CAO	HRSZKmCmAm OfxPth	ШЛУ	ECsLfxLzdPczBq 09.01.18 - 07.09.18  (прерывал трижды)	<i>Rv0678</i>	Неудача лечения

## окончание таблицы 87

Пациент (П), пол, возраст, диагноз, год заболевания, ВИЧ статус	Изолят, дата посева	Генотип штамма	Профиль фенотипической ЛУ до начала лечения бедаквилином	Характер истика ЛУ	Лечение, период	Мутации устойчивости к бедаквилину в гене	Исход лечения
П9 М., 42 года, ФКТЛ, 2005, ВИЧ	4003 31.05.18 4815 28.06.18 5566 30.07.18 6254 24.11.18	Beijing B0/W148	HRSEK <sub>m</sub> EtoOfx AmCsZPAS	ШЛУ	ZLfxClzPczBq  15.05.18 - 01.03.19	Rv0678	Неудача лечения
П10 М., 41 год ФКТЛ, 2009	2229 26.03.18 3190 26.04.18 7835 26.10.18 8532 22.11.18 503 25.01.19	Beijing B0/W148	HSREK <sub>m</sub> EtoOfx Cs	ШЛУ	AmZLfxPASBq  13.03.18 - 27.12.18	Rv0678	Неудача лечения, летальный
П11 М., 46 лет, ИТЛ, 2015	4271 09.06.18 5053 11.07.18 5822 10.08.18 6592 10.09.18 7356 10.10.18	Beijing B0/W148	HRSZEEtoOfx CmPAS	ШЛУ	AmCsLfxPczBq  13.07.18 - 26.08.19	Не обнаружено	Эффективное, курс завершен

Примечания: М – мужчина, Ж – женщина; ДТЛ – диссеминированный туберкулез легких, ИТЛ – инфильтративный туберкулез легких, ФКТЛ – фиброзно-кавернозный туберкулез легких; Н – изониазид, R – рифампицин, S – стрептомицин, E – этамбутол, Z – пиразинамид, Km – канамицин, Am – амикацин, Eto – этионамид, Cm – капреомицин, Ofx – офлоксацин, Cs – циклосерин, PAS – пара-аминосалициловая кислота, Lfx – левофлоксацин, Mfx – моксифлоксацин, Pcz – перхлозон, Bq – бедаквилин, Clz – клофазимин, Lz – линезолид, Trd – теризидон, Pth – протионамид

Полученные последовательности были выровнены на полный геном эталонного штамма H37Rv (NC\_00962.3). Далее с помощью доступных онлайн-серверов «PhyResSE» Version 1.0 (<http://phyresse.org>) и «TB Profiler» (<https://tldr.lshtm.ac.uk/>) был проведен анализ данных секвенирования 43 изолятов *M. tuberculosis*: определена принадлежность к генотипам и выявлены основные и дополнительные мутации лекарственной устойчивости микобактерий туберкулеза. Результаты исследования были валидированы с использованием пакета программ Geneious 9 (<http://www.geneious.com>).

Все изученные изоляты *M. tuberculosis* были отнесены к генотипу Beijing (L2.2.1). При этом большинство (35 из 43, 81,4%) принадлежали к кластеру B0/W148, остальные – к кластеру CAO (Central Asia Outbreak) (Таблица 87).

Как видно из таблицы 88, все изоляты содержали основную мутацию p.Lys43Arg в гене *rpsL* – маркер устойчивости к стрептомицину. У восьми пациентов (П1 – П5, П9 – П11) устойчивость изолятов (генотипа B0/W148) к препаратам первого ряда рифампицину и изониазиду была обусловлена мутациями p.Ser531Leu в гене *rpoB* (p.Ser450Leu, согласно нумерации кодонов в гене *rpoB* нуклеотидной последовательности референс-штамма *M. tuberculosis* H37Rv) и p.Ser315Thr в гене *katG*, соответственно, причем у изолятов П4 обнаружена дополнительная мутация устойчивости к изониазиду p.Ile194Thr в гене *inhA*.

Развитие лекарственной устойчивости у *M. tuberculosis* часто сопровождается снижением жизнеспособности и одним из механизмов приспособления, позволяющим преодолеть снижение фитнеса, являются компенсаторные мутации [125]. Наиболее известная компенсаторная мутация в гене *rpoC*, приводящая к замене Val483Gly [81, 125], обнаружена у изолятов восьми пациентов (П1-П5, П9-П11), замена Glu1092Asp выявлена у изолятов П8. Мутация c.3225T>C в гене *rpoC*, выявленная в изолятах всех пациентов, является филогенетическим маркером генотипа Beijing согласно «PhyResSE» Version 1.0 (<http://phyresse.org>).



Таблица 88 – Основные мутации серийных изолятов *M. tuberculosis*

Изолят	Дата посева	Мутации в генах, которые обуславливают устойчивость к препаратам								
		RIF	INH	STM	EMB	PZA	FQ	AMK, CAP,KAN	ETO	CFZ, BDQ
		<i>rpoB</i> *	<i>katG; inhA</i>	<i>rpsL</i>	<i>embA; embB</i>	<i>pncA</i>	<i>gyrA; gyrB</i>	<i>rrs, eis</i>	<i>ethA; inhA</i>	<i>mmpR5; atpE</i>
П1_51428	22.02.18	Wt	p.Ser315Thr	p.Lys43Arg	c.-12C>T	wt	wt	<b>c.-37G&gt;T</b>	c.110 110del	wt
П1_2901	18.04.18	p.Ser450Leu	p.Ser315Thr	p.Lys43Arg	c.-12C>T	wt	wt	<b>c.-37G&gt;T</b>	c.110 110del	wt
П1_3638	18.05.18	p.Ser450Leu	p.Ser315Thr	p.Lys43Arg	c.-12C>T	wt	wt	<b>c.-37G&gt;T</b>	c.110 110del	wt
П1_7591	18.10.18	p.Ser450Leu	p.Ser315Thr	p.Lys43Arg	c.-12C>T	wt	p.Ala90Val	<b>c.-37G&gt;T</b>	c.110 110del	wt
П2_6982	24.09.18	p.Ser450Leu	p.Ser315Thr	p.Lys43Arg	c.-12C>T	p.Cys72Tyr	<b>p.Asp461Asn p.Asn499Thr</b>	r.1401a>g	c.110 110del	p.Leu43Pro
П2_7666	22.10.18	p.Ser450Leu	p.Ser315Thr	p.Lys43Arg	c.-12C>T	p.Cys72Tyr	<b>p.Asp461Asn p.Asn499Thr</b>	r.1401a>g	c.110 110del	p.Leu43Pro
П2_8424	20.11.18	p.Ser450Leu	p.Ser315Thr	p.Lys43Arg	c.-12C>T	p.Cys72Tyr	<b>p.Asp461Asn p.Asn499Thr</b>	r.1401a>g	c.110 110del	p.Leu43Pro
П2_9250	20.12.18	p.Ser450Leu	p.Ser315Thr	p.Lys43Arg	c.-12C>T	p.Cys72Tyr	<b>p.Asp461Asn</b>	r.1401a>g	c.110 110del	p.Leu43Pro
П3_20115	27.06.18	p.Ser450Leu	p.Ser315Thr	p.Lys43Arg	c.-12C>T	p.Thr142Met	p.Gly88Cys	r.1401a>g	c.110 110del	wt
П3_6024	16.08.18	p.Ser450Leu	p.Ser315Thr	p.Lys43Arg	c.-12C>T	p.Thr142Met	p.Gly88Cys	r.1401a>g	c.110 110del	wt
П3_8425	20.11.18	p.Ser450Leu	p.Ser315Thr	p.Lys43Arg	c.-12C>T	p.Thr142Met	p.Gly88Cys	r.1401a>g	c.110 110del	p.Gln76Lys c.422_430del
П4_5851	13.08.18	p.Ser450Leu	p.Ser315Thr; <b>p.Ile194Thr</b>	p.Lys43Arg	c.-12C>T; <b>p.Met306Val p.Gly406Ser</b>	p.Trp119Ser	wt	r.1401a>g <b>c.-10G&gt;A</b>	c.703 703del; <b>p.Ile194Thr</b>	wt
П4_6663	12.09.18	p.Ser450Leu	p.Ser315Thr; <b>p.Ile194Thr</b>	p.Lys43Arg	c.-12C>T, <b>p.Met306Val, p.Gly406Ser</b>	p.Trp119Ser, p.Ala171Val	wt	r.1401a>g <b>c.-10G&gt;A</b>	c.703 703del; <b>p.Ile194Thr</b>	wt
П4_9000	12.12.18	p.Ser450Leu	p.Ser315Thr; <b>p.Ile194Thr</b>	p.Lys43Arg	c.-12C>T, <b>p.Met306Val, p.Gly406Ser</b>	p.Trp119Ser, p.Ala171Val	wt	r.1401a>g <b>c.-10G&gt;A</b>	c.703 703del; <b>p.Ile194Thr</b>	wt

## продолжение таблицы 88

Изолят	Дата посева	Мутации в генах, которые обуславливают устойчивость к препаратам								
		RIF	INH	STM	EMB	PZA	FQ	AMK, CAP,KAN	ETO	CFZ, BDQ
		<i>rpoB</i> *	<i>katG; inhA</i>	<i>rpsL</i>	<i>embA; embB</i>	<i>pncA</i>	<i>gyrA; gyrB</i>	<i>rrs, eis</i>	<i>ethA; inhA</i>	<i>mmpR5; atpE</i>
П5_2902	18.04.18	p.Ser450Leu	p.Ser315Thr	p.Lys43Arg	c.-12C>T	p.Tyr41**	p.Asp94Gly	<b>c.-14C&gt;T</b>	c.110 110del	wt
П5_6831	18.09.18	p.Ser450Leu	p.Ser315Thr	p.Lys43Arg	c.-12C>T	p.Tyr41**	p.Asp94Gly	<b>c.-14C&gt;T</b>	c.110 110del	<b>p.Ile66Met</b>
П5_7645	19.10.18	p.Ser450Leu	p.Ser315Thr	p.Lys43Arg	c.-12C>T	p.Tyr41**	p.Asp94Gly	<b>c.-14C&gt;T</b>	c.110 110del	<b>p.Ile66Met</b>
П5_9194	19.12.18	p.Ser450Leu	p.Ser315Thr	p.Lys43Arg	c.-12C>T	p.Tyr41**	p.Asp94Gly	<b>c.-14C&gt;T</b>	c.110 110del	<b>p.Ile66Met</b>
П6_6871	19.09.18	p.Ser450Phe	p.Ser315Thr	p.Lys43Arg	<b>p.Met306Val</b>	wt	p.Ala90Val	<b>c.-37G&gt;T</b>	wt	wt
П6_8295	15.11.18	p.Ser450Phe	p.Ser315Thr	p.Lys43Arg	<b>p.Met306Val</b>	wt	p.Ala90Val	<b>c.-37G&gt;T</b>	wt	wt
П6_9050	13.12.18	p.Ser450Phe	p.Ser315Thr	p.Lys43Arg	<b>p.Met306Val</b>	wt	p.Ala90Val	<b>c.-37G&gt;T</b> r.1402c>a	wt	wt
П7_5175	16.07.18	p.Ser450Phe	p.Ser315Thr	p.Lys43Arg	<b>p.Met306Val</b>	p.His71Asp	p.Asp94Gly	r.1401a>g	wt	wt
П7_6072	20.08.18	p.Ser450Phe	p.Ser315Thr	p.Lys43Arg	<b>p.Met306Val</b>	p.His71Asp	p.Asp94Gly	r.1401a>g	wt	wt
П8_1404	22.02.18	p.Ser450Met	p.Ser315Thr	p.Lys43Arg	<b>p.Met306Val</b>	p.Asp63Ala,p. His57Asp	p.Ala90Val, p.Asp94Asn	r.1401a>g	wt	wt
П8_2184	23.03.18	p.Ser450Met	p.Ser315Thr	p.Lys43Arg	<b>p.Met306Val</b>	p.Asp63Ala	p.Asp94Asn	r.1401a>g	wt	c.147insC
П8_3053	23.04.18	p.Ser450Met	p.Ser315Thr	p.Lys43Arg	<b>p.Met306Val</b>	p.Asp63Ala,p. His57Asp	p.Ala90Val, p.Asp94Asn	r.1401a>g	wt	c.147insC p.Glu21_Gln22 dup
П8_4702	26.06.18	p.Ser450Met	p.Ser315Thr	p.Lys43Arg	<b>p.Met306Val</b>	p.Asp63Ala, p.His57Asp	p.Ala90Val, p.Asp94Asn	r.1401a>g	wt	p.Ala36Val p.Glu21_Gln22 dup c.147insC
П8_6384	30.08.18	p.Ser450Met	p.Ser315Thr	p.Lys43Arg	<b>p.Met306Val</b>	p.Asp63Ala, p.His57Asp	p.Ala90Val, p.Asp94Asn	r.1401a>g	wt	c.198del p.Glu21_Gln22 dup
П8_8628	27.11.18	p.Ser450Met	p.Ser315Thr	p.Lys43Arg	<b>p.Met306Val</b>	p.Asp63Ala, p.His57Asp	p.Ala90Val, p.Asp94Asn	r.1401a>g	wt	c.198del p.Glu21_Gln22 dup

## окончание таблицы 88

Изолят	Дата посева	Мутации в генах, которые обуславливают устойчивость к препаратам								
		RIF	INH	STM	EMB	PZA	FQ	AMK, CAP, KAN	ETO	CFZ, BDQ
		<i>rpoB</i> *	<i>katG; inhA</i>	<i>rpsL</i>	<i>embA; embB</i>	<i>pncA</i>	<i>gyrA; gyrB</i>	<i>rrs, eis</i>	<i>ethA; inhA</i>	<i>mmpR5; atpE</i>
П9_4003	31.05.18	p.Ser450Leu	p.Ser315Thr	p.Lys43Arg	c.-12C>T	wt	p.Ala90Val	r.1401a>g	c.110 110del	wt
П9_4815	28.06.18	p.Ser450Leu	p.Ser315Thr	p.Lys43Arg	c.-12C>T	wt	p.Asp94Asn	r.1401a>g	c.110 110del	wt
П9_5566	30.07.18	p.Ser450Leu	p.Ser315Thr	p.Lys43Arg	c.-12C>T	wt	p.Asp94Asn	r.1401a>g	c.110 110del	wt
П9_6254	24.11.18	p.Ser450Leu	p.Ser315Thr	p.Lys43Arg	c.-12C>T	wt	p.Ala90Val	r.1401a>g	c.110 110del	c.185_194del
П10_2229	26.03.18	p.Ser450Leu	p.Ser315Thr	p.Lys43Arg	c.-12C>T	p.Asp136Asn	p.Asp94Gly	<b>c.-37G&gt;T</b>	c.110 110del	c.198insC
П10_3190	26.04.18	p.Ser450Leu	p.Ser315Thr	p.Lys43Arg	c.-12C>T	p.Asp136Asn	p.Asp94Gly	<b>c.-37G&gt;T</b>	c.110 110del	c.198insC
П10_7835	26.10.18	p.Ser450Leu	p.Ser315Thr	p.Lys43Arg	c.-12C>T	p.Asp136Asn	p.Asp94Gly	<b>c.-37G&gt;T</b>	c.110 110del	c.198insC
П10_8532	22.11.18	p.Ser450Leu	p.Ser315Thr	p.Lys43Arg	c.-12C>T	p.Asp136Asn	p.Asp94Gly	<b>c.-37G&gt;T</b>	c.110 110del	c.198insC
П10_503	25.01.19	p.Ser450Leu	p.Ser315Thr	p.Lys43Arg	c.-12C>T	p.Asp136Asn	p.Asp94Gly	<b>c.-37G&gt;T</b>	c.110 110del	c.198insC
П11_4271	09.06.18	p.Ser450Leu	p.Ser315Thr	p.Lys43Arg	c.-12C>T	wt	p.Ala90Val	wt	c.110 110del	wt
П11_5053	11.07.18	p.Ser450Leu	p.Ser315Thr	p.Lys43Arg	c.-12C>T	wt	p.Ala90Val	wt	c.110 110del	wt
П11_5822	10.08.18	p.Ser450Leu	p.Ser315Thr	p.Lys43Arg	c.-12C>T	wt	p.Ala90Val	wt	c.110 110del	wt
П11_6592	10.09.18	p.Ser450Leu	p.Ser315Thr	p.Lys43Arg	c.-12C>T	wt	p.Ala90Val	wt	c.110 110del	wt
П11_7356	10.10.18	p.Ser450Leu	p.Ser315Thr	p.Lys43Arg	c.-12C>T	wt	p.Ala90Val	wt	c.110 110del	wt

Примечание: RIF– рифампицин, INH – изониазид, STM – стрептомицин, EMB – этамбутол, PZA – пипразинамид, FQ (Fluoroquinolones) – фторхинолоны, AMK – амикацин, CAP – капреомицин, KAN – канамицин, ETO – этионамид, CFZ – клофазимин, BDQ – бедаквилин; запись мутаций приведена согласно <https://github.com/jodyphelan/tbdb> и <http://varnomen.hgvs.org/recommendations/general/>; \_wt – wild type (дикий тип, отсутствие мутаций); с. – кодирующая ДНК, p. – протеин, r. – РНК. \* – нумерация кодонов в гене *rpoB* согласно нуклеотидной последовательности референс-штамма *M. tuberculosis* H37Rv; Rv0678, позиции 778990-779487 в геноме H37Rv. Длина протеина – 165 аминокислот. *atpE* (Rv1305), позиции 1461045-1461290 в геноме H37Rv. Длина протеина – 81 аминокислот

У всех изолятов упомянутых восьми пациентов (П1 – П5, П9 – П11) преобладающей мутацией устойчивости к этамбутолу была замена с.-12С>Т в гене *embA*, причем у изолятов пациента П4 обнаружены и дополнительные мутации p.Met306Val и p.Gly406Ser в гене *embB*.

Резистентность изолятов семи пациентов (П2 – П5, П7, П8, П10) к пипразинамиду была обусловлена разнообразными мутациями в гене *rncA*. Напротив, у изолятов П1 мутации *rncA* не были обнаружены, но присутствовала мутация в гене *rpsA* (Rv1630), которую связывают с дефектом фермента пипразинамидазы и, как следствие, с устойчивостью к пипразинамиду (Таблицы 88 и 89). У всех изолятов пациента П11 обнаружена мутация p.Thr100Pro в гене *rncA*, которая не входит в перечень основных мутаций, но упомянута в базе данных «ТВ Profiler version: 3.0.1» у резистентных к пипразинамиду штаммов *M. tuberculosis*, выделенных в России, в странах Южная часть Центральной и Восточной Азии (<https://tbdr.lshtm.ac.uk/>) (Таблица 89).

Таблица 89 – Мутации в генах, ассоциированных с лекарственной устойчивостью *M. tuberculosis*, но не включенные в перечень ВОЗ [318]

Изоляты пациентов*	Мутация	Позиция в геноме H37Rv, п.н.	Ген	Функция **	Штаммы в ТВ Profiler***
П1	p.Asp37Gly	1833542	<i>rpsA</i> Rv1630	Информационные пути	2 ЛЧ; 1 пре-ШЛУ
П11	p.Thr100Pro	2289208	<i>rncA</i> Rv2043c	Промежуточный обмен веществ и дыхание	1 пре-МЛУ, 7 МЛУ, 2 пре-ШЛУ, 7 ШЛУ
П2	p.Leu499Pro	4248009	<i>embB</i> Rv3795	Клеточная стенка и клеточные процессы	0
П2	с.-162С>СG	5078	<i>gyrB</i> Rv0005	Информационные пути	42 ЛЧ; 2 пре-МЛУ, 4 МЛУ, 6 пре-ШЛУ, 3 ШЛУ

Примечание: \* все изоляты; \*\* TubercuList ([tuberculist.epfl.ch](http://tuberculist.epfl.ch)), \*\*\* «ТВ Profiler version: 3.0.1» (<https://tbdr.lshtm.ac.uk/>) (включает 17239 изолятов); п.н. – пар нуклеотидов

У всех изолятов девяти пациентов (П3 – П11) и у последнего по времени выделения изолята (7591) пациента П1 с выявленной фенотипической устойчивостью возбудителя к офлоксацину обнаружены мутации в 94-м (19 изолятов), 90-м (15 изолятов) и 88-м (3 изолята) кодонах в «регионе,

определяющем устойчивость к хинолонам» (quinolone resistance-determining region, QRDR) гена *gyrA* и у изолятов пациента П2 – мутации p.Asp461Asn и p.Asn499Thr *gyrB* гена, ассоциированные с резистентностью к фторхинолонам. Помимо этого, у всех изолятов пациента П2 в *gyrB* гене обнаружена мутация с.-162C>CG (Таблица 89). Также, у всех этих изолятов в гене *gyrA* выявлен естественный полиморфизм Ser95Thr, не связанный с устойчивостью к фторхинолонам [202].

Резистентность к этионамиду в изолятах семи пациентов (П1 – П3, П5, П9 – П11) была обусловлена мутацией с.110 110del в гене *ethA*. В изолятах пациента П4 выявлены мутации с.703 703del и p.Ile194Thr в генах *ethA* и *inhA*, соответственно (Таблица 88).

Мутации r.1401a>g и r.1402c>a в гене *rrs*, ассоциированные с перекрёстной устойчивостью к препаратам группы аминогликозидов (канамицин, амикацин) и капреомицину, обнаружены у изолятов шести пациентов (П2 – П4, П6, П8, П9); замены в промоторной области гена *eis* (с.-10G>A, с.-14C>T, с.-37G>T), связанные с устойчивостью только к канамицину – в изолятах пациентов П1, П4–П7, П10 (Таблица 88).

Мутация p.Phe152Val в гене *thyA*, ассоциированная с устойчивостью к парааминосалициловой кислоте, обнаружена лишь в изолятах пациента П6 (данные в таблице 88 не приведены).

Как видно из таблицы 88, у 18 изолятов *M. tuberculosis* шести пациентов (П2, П3, П5, П8, П9, П10) обнаружены 10 мутаций (несинонимические однонуклеотидные замены, вставки, делеции, дупликация) в генах *tnpR5* (*Rv0678*) и *atpE* (*Rv1305*), ассоциированных с устойчивостью к бедаквину. В большинстве случаев имела место гетерорезистентность, то есть дикий и мутантный аллель в одной и той же позиции присутствовали одновременно, при этом их соотношение менялось во времени (Рисунки 34–39).

У пациента П2 мутация p.Leu43Pro в гене *Rv0678* (позиция 779117 в геноме эталонного штамма H37Rv NC\_00962.3) присутствовала у всех четырех изолятов

*M. tuberculosis*, включая изоляты 6982 и 7666, полученные до начала лечения бедаквилином (Рисунок 34; Таблица 88).

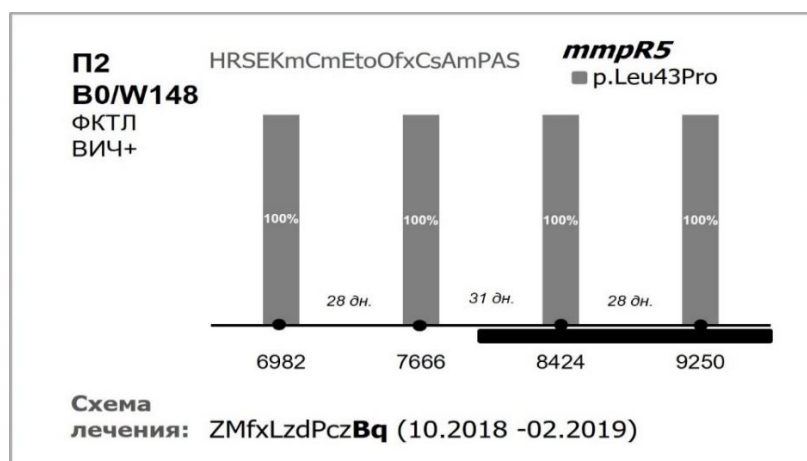


Рисунок 34 – Мутации устойчивости к бедаквилину серийных изолятов

*M. tuberculosis* пациента П2

Примечание: на оси курсивом указаны временные промежутки (число дней, дн.) между датами посевов серийных изолятов (обозначены полужирным шрифтом под черными точками); в столбцах показан процент чтений с выявленными мутациями; периоды применения бедаквилина обозначены черными прямоугольниками

Как видно на рисунке 35 у пациента П10 инсерция (вставка) с.198insC (позиция в геноме 779187) в гене *Rv0678*, приводящая к сдвигу рамки считывания и образованию укороченного (начиная с 65-й аминокислоты) белка MmpL5, была обнаружена в 79% считываний в первом изоляте 2229, полученном после 13 дней лечения с применением бедаквилина.

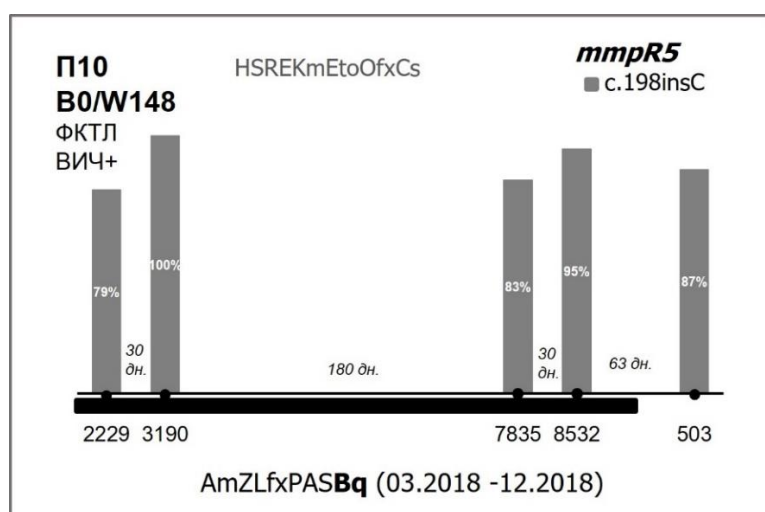


Рисунок 35 – Мутации устойчивости к бедаквилину серийных изолятов

*M. tuberculosis* пациента П10

Данная мутация сохранилась и после отмены бедаквилина (изолят 503) (Рисунок 35; Таблица 88). Лечение оказалось неэффективным, пациент умер (Таблица 87).

У трех пациентов (П8, П3 и П9) мутации *Rv0678* возникли в процессе лечения бедаквилином (Таблица 88). При этом у пациента П8, с несколькими эпизодами прерывания лечения (по медицинским показаниям), было обнаружено четыре варианта мутаций *mmpR5* (*Rv0678*) (Рисунок 36).

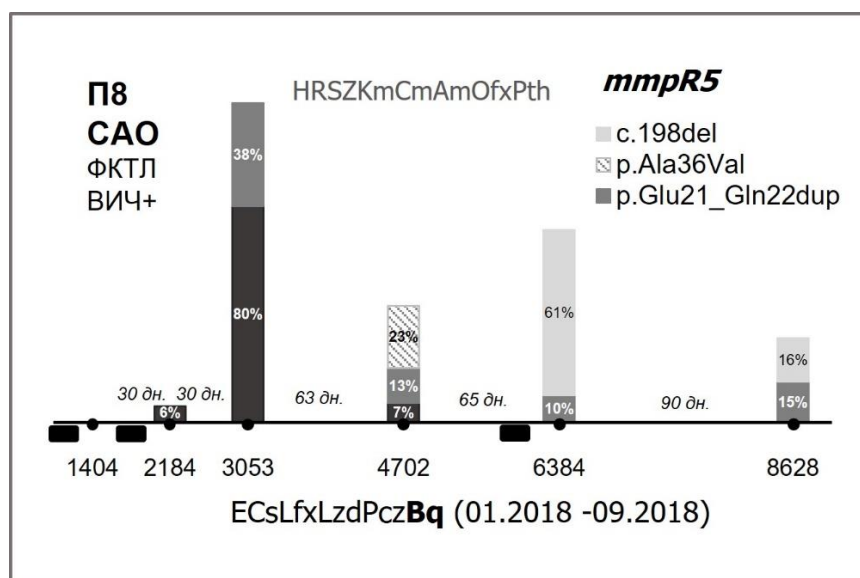


Рисунок 36 – Мутации устойчивости к бедаквилину серийных изолятов

#### *M. tuberculosis* пациента П8

Так, после начала лечения бедаквилином в изоляте 2184 была выявлена вставка цитозина с.147insC (позиция в геноме 779130), которая привела к сдвигу рамки считывания и образованию укороченного протеина MmpL5. Затем через месяц добавилась дупликация аминокислот p.Glu21\_Gln22dup за счет вставки в позиции 779055 генома (изолят 3053). Еще через два месяца (в период прерывания лечения бедаквилином) у изолята 4702 выявлена дополнительная мутация p.Ala36Val в гене *Rv0678* (позиция в геноме 779096). Однако еще через два месяца в изоляте 6384 было выявлена ранее описанная мутация – p.Glu21\_Gln22dup и новая мутация – с.198del (позиция в геноме 779187), которые сохранились в последнем изоляте 8628 после отмены бедаквилина (Рисунок 36).

У пациента П3 в изоляте 8425, на фоне лечения бедаквилином, выявлено одновременно две мутации: p.Gln76Lys гена *Rv0678* (позиция в геноме 779215),

и делеция с.422\_430del (позиция в геноме 779411–779419), которая привела к сдвигу рамки считывания (Рисунок 37).

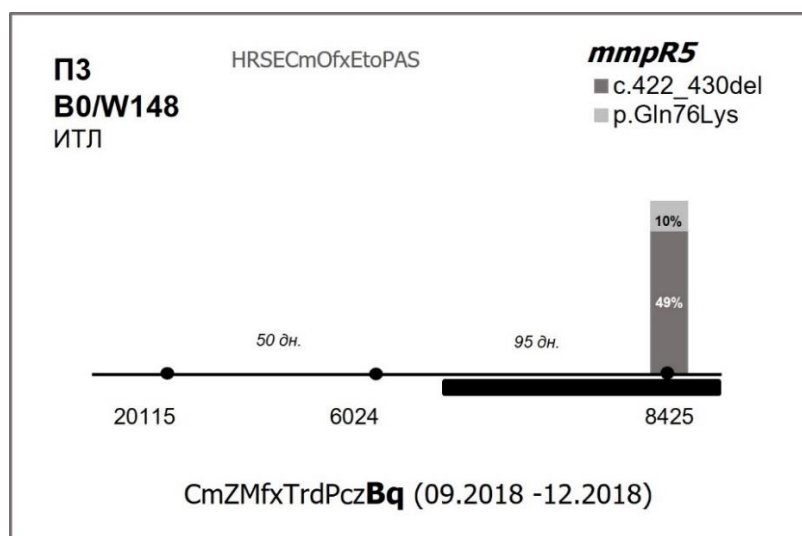


Рисунок 37 – Мутации устойчивости к бедаквилину серийных изолятов *M. tuberculosis* пациента ПЗ

У пациента П9 в изоляте 6254 была обнаружена делеция CCAGCAGCGG (с.185\_194del) (позиция в геноме 779174–779183) (Рисунок 38), которая также привела к сдвигу рамки считывания.

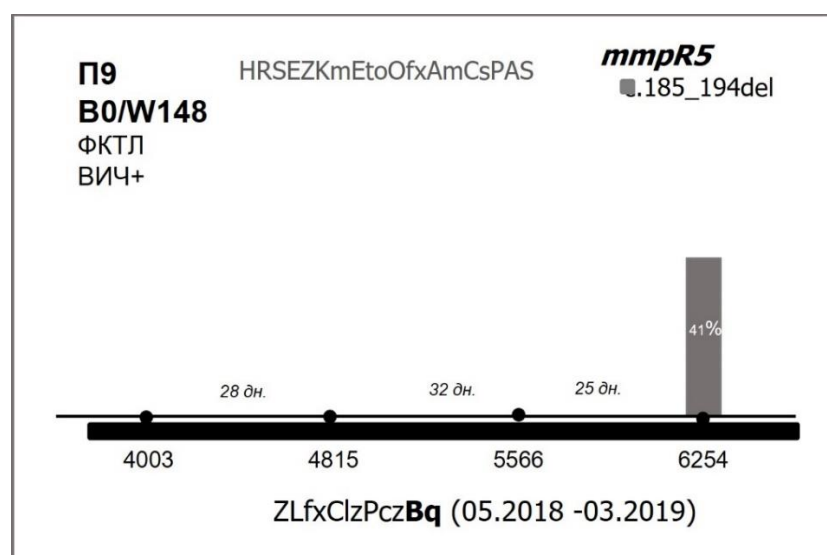


Рисунок 38 – Мутации устойчивости к бедаквилину серийных изолятов *M. tuberculosis* пациента П9

Появление мутаций в гене репрессора *mmpR* (Rv0678) приводит к повышению транскрипции оперона *mmpS5-L5* и увеличению продукции мембранного белка *Mmp15*, обеспечивающего эффлюкс препарата [92].



У пациента П5 были доступны изоляты, полученные в процессе (2902 и 6831) и после прекращения лечения бедаквилином (7645 и 9194) (Таблица 88). Как видно из рисунка 39, в ходе лечения бедаквилином возникла и закрепилась мутация p.Ile66Met гена *atpE* (*Rv1305*), (позиция в геноме 1461242). Известно, что мутации в гене *atpE* предотвращают взаимодействие бедаквилина с его мишенью АТФ-синтазой [253].

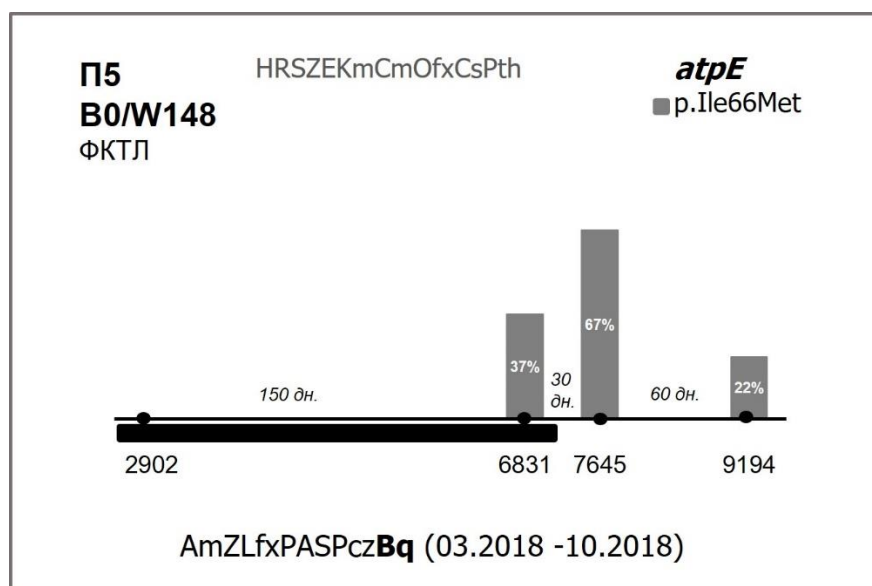


Рисунок 39 – Мутации устойчивости к бедаквилину серийных изолятов *M. tuberculosis* пациента П5

Несмотря на то, что мутации устойчивости к бедаквилину не были выявлены в изолятах ВИЧ-инфицированного пациента П4, бактериовыделение на фоне терапии бедаквилином продолжалось, общее состояние больного прогрессивно ухудшалось, вследствие тяжелого иммунодефицита, что привело к летальному исходу (Таблицы 87 и 88).

Как видно из таблицы 82, неудача лечения наблюдалась у шести больных туберкулезом (П2, П3, П5, П8, П9 и П10), чьи изоляты *M. tuberculosis* имели мутации в генах *mpmR5* (*Rv0678*) и *atpE* (*Rv1305*). Напротив, у пациентов П1, П6, П7 и П11 во всех серийных изолятах мутации в генах *mpmR5* (*Rv0678*), *atpE* (*Rv1305*), *perQ* и *Rv1979c*, ассоциированных с устойчивостью к бедаквилину, не были обнаружены, курсы лечения оказались эффективными и привели к прекращению бактериовыделения (Таблицы 87 и 88).

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Согласно прогнозам ВОЗ, в ближайшие десять лет туберкулез, наряду с ВИЧ-инфекцией, останется одной из ведущих причин смертности от инфекционных болезней в мире. Основными факторами, поддерживающими глобальное бремя туберкулеза, являются рост заболеваемости за счет инфицирования устойчивыми к ПТП штаммами *M. tuberculosis*, увеличение популяции ВИЧ-коинфицированных и лиц с ослабленным иммунитетом/иммуносупрессией, чему немало способствует пандемия COVID-19, вызванная коронавирусом SARS-CoV-2 [6, 11, 102, 290, 323]. На этом фоне текущее распространение МЛУ-ТБ привело впервые, более чем за десятилетие, к глобальному росту числа смертей от туберкулеза в 2020 г [323]. Вследствие недостаточной эффективности лечения и мер инфекционного контроля наблюдается рост числа случаев МЛУ-ТБ с первичной резистентностью возбудителя [122, 255, 326]. В России эпидемическая ситуация по туберкулезу в последние годы характеризуется, с одной стороны, снижением заболеваемости, с другой стороны, неуклонным ростом показателей первичной и приобретенной мультирезистентности возбудителя к ПТП [56], что сигнализирует о необходимости мониторинга циркуляции МЛУ-штаммов.

*M. tuberculosis* принадлежит к числу строго клональных видов, подразделяемых на филогенетические линии/сублинии, генетические семейства и кластеры, представители которых различаются по биологическим свойствам – вирулентности, лекарственной устойчивости, способности к передаче (трансмиссивность) в восприимчивой популяции и др. Таким образом, генетическая вариабельность возбудителя имеет как клиническое, так и эпидемиологическое значение [157, 160, 177, 192, 224, 247, 273]. Однако исследования генетической структуры популяций *M. tuberculosis* в России до настоящего времени не регламентированы и осуществляются, как правило, с использованием удобных (доступных) выборок штаммов и различных по дискриминирующей способности методов исследования, что затрудняет сравнение, интерпретацию и систематизацию результатов.

Дизайн настоящего исследования был разработан с учетом единых критериев формирования выборок штаммов *M. tuberculosis* для анализа генетической структуры территориальных популяций, спектра мутаций устойчивости к ПТП и динамики распределения генотипов, ассоциированных с первичной МЛУ возбудителя туберкулеза, в субъектах СЗФО. Исходя из цели и задач исследования, на базе ФГБУ СПб НИИФ, ведущего научно-методического центра по эпидемиологическому мониторингу и организации противотуберкулезной работы в регионах СЗФО РФ, была сформирована коллекция из 720 штаммов *M. tuberculosis*, выделенных с 2014 г. по 2019 г. от ранее нелеченных больных туберкулезом легких с бактериовыделением, проживающих в восьми регионах северо-запада России, включая республики Коми и Карелия, Архангельскую, Вологодскую, Калининградскую, Мурманскую, Новгородскую и Псковскую области.

Медианный возраст пациентов обоего пола составил 42 года (34–52) – возраст трудоспособного и наиболее социально активного населения. Основными диагнозами были инфильтративный (66,1%) и диссеминированный (19,6%) туберкулез легких. Среди пациентов преобладали мужчины (71,1%), что согласуется с общероссийскими показателями [42]. Большинство больных в четырех субъектах СЗФО с преобладанием городского населения ожидаемо оказались городскими жителями: Архангельская область – 69,7%, Вологодская область – 61,0%, Республика Коми – 65,4%, Мурманская область – 98,5%.

С помощью молекулярно-генетических методов (мультиплексная ПЦР и/или спוליготипирование) была установлена принадлежность более половины (57,1%; 411/720) изученных в СЗФО штаммов *M. tuberculosis* к генотипу Beijing Восточно-Азиатской филогенетической линии L2.

Данные о доле генотипа Beijing в территориальных популяциях *M. tuberculosis* России широко варьируют – от 31,0% (Республика Саха (Якутия), 2008–2010 гг. [24]) до 92,2% (Пермский край, 2010–2015 гг., ВИЧ-позитивные [37]), что можно объяснить не только гетерогенностью микробных популяций, но и отсутствием единого подхода к формированию выборок изучаемых штаммов.

Анализ результатов мониторинга популяции *M. tuberculosis* в сопоставлении с ранее опубликованными данными выявил доминирование и увеличение удельного веса генотипа Beijing в сравнимых выборках штаммов, сформированных в субъектах СЗФО в период наблюдения. Доля данного генотипа *M. tuberculosis* была максимальной в Архангельской области (67,4%, в 2018 г.), где с 2004–2006 г. (57,1% [94]) отмечен прирост на 10,3% параллельно с увеличением доли новых случаев МЛУ-ТБ [18]. В расположенной по соседству Республике Коми доля генотипа Beijing достигла 56,2% (2017 г.), демонстрируя прирост на 14,3% (41,9% в 2004–2006 г. [94]); в Мурманской области доля Beijing неуклонно росла (44,0 в 2003 г. [217], 47,2% в 2006 г. [94]) и достигла 52,2% в 2017 г. Подобная тенденция наблюдалась и в Калининградской области, где за 10 лет на фоне роста удельного веса МЛУ-ТБ [19] доля генотипа Beijing увеличилась на 22,7% – с 40,3% (2006 г. [227]) до 63,0%. В Республике Карелия доля штаммов данного генотипа составила 53,8% (2014 г.). Результаты первых популяционных исследований *M. tuberculosis* в Вологодской и Новгородской областях выявили принадлежность к генотипу Beijing более половины (62,2% и 55,6% соответственно) штаммов возбудителя; мониторинг популяции *M. tuberculosis* в Псковской области продемонстрировал нарастание доли генотипа Beijing с 44,6% (2008–2009 гг.), 44,9% (2015 г.) до 57,7% (2018 г.).

Штаммы гетерогенной группы non-Beijing составляли менее половины (42,9%; 309/720) изученной популяции *M. tuberculosis* СЗФО. Среди них преобладали представители генетических семейств T (14,2%), LAM (11,9%), Ural (7,1%), Haarlem (5,3%) и других (S и X, суммарно 1,6%), которые относят к Евро-Американской филогенетической линии L4. Семейство CAS1-Delhi (Центрально-Азиатская филогенетическая линия L3) было представлено двумя штаммами. Подавляющее большинство штаммов LAM (93%) было отнесено к сублинии LAM-RUS, также выявлены единичные штаммы LAM RD-Rio [203], редко встречающиеся в России и странах Восточной Европы.

У штаммов *M. tuberculosis* различных семейств определено 90 вариантов профилей сполиготипирования, характеризующихся различной

распространенностью в мире и России. Из них 15 споллигопрофилей, описанных на территории страны впервые, были депонированы в международную базу данных SITVIT2 (<http://www.pasteur-guadeloupe.fr:8081/SITVIT2/>); семи из них присвоены номера SIT (4164, 4165, 4248, 4249, 4250, 4251 и 4252); остальные, не имеющие аналогов в базе данных, обозначены как «Orphan».

Преобладающими профилями споллиготипирования штаммов non-Beijing в общей популяции были SIT53/T (14,2%), SIT42/LAM (8,4%) и SIT262/Ural (7,4%). Несмотря на то, что SIT53 и SIT42 считаются глобально распространенными споллиготипами non-Beijing, они были обнаружены не во всех субпопуляциях *M. tuberculosis* на территориях СЗФО. Чаще всего SIT53/T определяли в Архангельской области (27,6%), где группа штаммов Т была второй по численности после Beijing. Доля SIT42/LAM была наибольшей (18,5%) в Калининградской области. Единственным споллиготипом, выявленным во всех восьми регионах СЗФО, был SIT262, доля (18,8%) которого, как и в целом генотипа Ural (19,4%), была наибольшей в Мурманской области.

Штаммы *M. tuberculosis* различных генотипов были неоднородны по чувствительности к ПТП. Более двух третей (63,7%) чувствительных к ПТП штаммов представляли группу non-Beijing, причем значительная их доля принадлежала к гетерогенному семейству Т (39,6%). Единичные штаммы LAM (SIT42, SIT20 и SIT1321), отнесенные к сублинии RD-Rio, в нашем исследовании были преимущественно (5 из 6) лекарственно-чувствительными в отличие от первоначально выявленных в Рио-де-Жанейро (Бразилия) МЛУ-штаммов [163].

У МЛУ-штаммов non-Beijing чаще выявляли генотипы LAM (30,0%) и Ural (22,5%), причем преобладали споллиготипы SIT42/LAM (19,2%) и SIT262/Ural (34,8%). Вклад генотипов LAM и Ural в распространение МЛУ-ТБ отмечен в ряде работ [8, 64, 108, 136, 283, 330].

Однако особое внимание исследователей давно привлекают представители генотипа Beijing, ассоциированного с МЛУ (в т.ч. ШЛУ) и вспышками МЛУ-ТБ [101, 193, 250, 262, 298]. В нашем исследовании также доказана связь МЛУ с

принадлежностью штаммов *M. tuberculosis* к генотипу Beijing ( $p < 0,0001$ ; OR=6,69 [4,56–9,83]).

Несмотря на то, что у исследованных в СЗФО МЛУ-штаммов устойчивость к рифампицину и изониазиду была обусловлена преимущественно (81,2%) характерными для российской популяции *M. tuberculosis* заменами в генах *rpoB* Ser531Leu и *katG* Ser315Thr (обеспечивают высокий уровень резистентности *in vitro*, не снижают жизнеспособности и вирулентности, способствуя поддержанию резервуара возбудителя [39]), выявлены некоторые особенности спектра мутаций в зависимости от генотипа микроорганизма. Так, если 95,3% устойчивых к изониазиду МЛУ-штаммов генотипа Beijing имели мутацию *katG* Ser315Thr, чуть более половины (52,4%) штаммов семейства LAM – сочетание мутаций *katG* Ser315Thr и *inhA* C(-15)T. У большинства МЛУ-штаммов, включая Beijing, устойчивость к рифампицину была обусловлена заменой *rpoB* Ser531Leu; у половины МЛУ-штаммов LAM выявлены мутации в кодонах 516 и 526 гена *rpoB*.

Показатель первичной МЛУ штаммов генотипа Beijing в СЗФО составил 83,7%, демонстрируя абсолютный прирост за исследуемый период на 22,3% (темп прироста 36,3%) по сравнению с периодом 1996–2002 гг. (61,4% [38, 39]). Среди МЛУ-штаммов наименьшая доля Beijing была выявлена в Новгородской области (70,8%), наибольшая – в Архангельской области (93,3%), имеющей один из самых высоких (33,8% в 2018 г.) в СЗФО показателей МЛУ возбудителя среди новых случаев ТБ [18].

Доминирование семейства Beijing в популяции *M. tuberculosis* необязательно коррелирует с напряженностью эпидемической ситуации в регионе, что может быть связано с неоднородностью штаммов данного генотипа. Так, в Вологодской области, где регистрируется один из наименьших уровней заболеваемости ТБ по СЗФО и России [56], к генотипу Beijing принадлежали более половины (62,2%) штаммов, из них 81,8% обладали МЛУ.

В данном исследовании в субпопуляции *M. tuberculosis* Beijing установлено доминирование наиболее известных в мире и России представителей современной сублинии – кластеров Central Asian/Russian (CC1, включая субтип

CAO) – 63,3% (253/400 штаммов) и B0/W148 (CC2) – 27,5% (110/400) штаммов. Доля субтипа CAO, распространенного преимущественно в Средней Азии [220], в составе гетерогенного кластера Central Asian/Russian в СЗФО составила 10,3% (26/253).

Доля штаммов древней сублинии Beijing в общей структуре популяции *M. tuberculosis* на Северо-Западе России составила 1,5% – существенно меньше чем в Западной Сибири [51].

Территориальные субпопуляции *M. tuberculosis* значимо различались ( $p < 0,001$ ) по числу штаммов *M. tuberculosis* Central Asian/Russian и B0/W148. Так, наибольшие доли B0/W148 (по 22,0%) среди всех штаммов *M. tuberculosis* были выявлены в Калининградской (2015 г.) и Новгородской (2019 г.) областях, где на протяжении десятилетия отмечается превышение среднего показателя заболеваемости ТБ по СЗФО. Важно отметить, в настоящем исследовании именно в этих двух областях СЗФО медианный возраст больных ТБ был наименьшим (37 лет), причем основную группу заболевших составляли пациенты преимущественно молодого и среднего возраста (29–48 и 32–46 лет соответственно). Известно, что возраст пациентов является одним из индикаторов нарастания напряженности эпидемической ситуации, когда пик заболеваемости смещается в более молодые возрастные группы [41].

Генотип Central Asian/Russian *M. tuberculosis* был наиболее распространенным (50,0%) в Вологодской области, здесь же выявлена наименьшая доля B0/W148 (7%). При этом Вологодская область характеризуется относительно спокойной эпидемической ситуацией по туберкулезу: в 2018 г. заболеваемость на 100 тыс. населения составляла 15,8 (в СЗФО – 28,6; в РФ – 44,4) [56]). Интересно, что штаммы B0/W148 выделяли преимущественно в районах области с наиболее развитой транспортной инфраструктурой (северо-запад области – 81,8%). Напротив, отсутствие тесных контактов на территориях с низкой плотностью населения может сдерживать распространение штаммов кластера B0/W148: их доля не превышала 7% в некоторых районах Республики Коми, где преобладают коренные жители, занятые в сельском хозяйстве.

Наибольшие доли штаммов других генотипов (не относящихся к B0/W148 и Central Asian/Russian) были выявлены в субпопуляциях *M. tuberculosis* Beijing Псковской (до 20%), Калининградской и Мурманской областей, что, по-видимому, связано с миграциями населения в приграничных областях.

В нашем исследовании все штаммы B0/W148 (n=110) проявляли ЛУ, и была установлена ассоциация данного генотипа с МЛУ (87,3%) ( $p < 0,001$ ). При этом значительные доли МЛУ-штаммов B0/W148 выявлены в Архангельской (60,0%) и Калининградской (51,5%) областях и в Республике Коми (50,0%), наименьшая – в Вологодской области (12,1%). Полученные по СЗФО данные, согласуясь с результатами исследований в Центральном, Уральском и Сибирском регионах [23, 65, 83, 260], свидетельствуют о клональной экспансии МЛУ-штаммов генотипа B0/W148 *M. tuberculosis* в России.

Доля МЛУ-штаммов Central Asian/Russian, включая субтип CAO, была значительно меньше (35,2%), чем B0/W148. Однако все штаммы субтипа CAO, доля которых в общей популяции *M. tuberculosis* СЗФО составила 3,6% (26/720), были лекарственно устойчивы, а 57,7% (15/26) из них обладали МЛУ. Следует отметить, что субтип CAO, штаммы которого наиболее распространены и ассоциированы с устойчивостью к ПТП в Средней Азии [220, 221, 234], был идентифицирован впервые на территории России в Самаре [113, 220].

Доли случаев МЛУ-ТБ значительно различались у ВИЧ-позитивных (n=49) и ВИЧ-негативных (n=434) пациентов в СЗФО: 53,1% против 35,0% ( $p = 0,045$ ). Отмечен повышенный в 1,5 раза риск заболевания МЛУ-ТБ в группе ВИЧ-инфицированных лиц (RR = 1,51 [1,13–2,03]), что согласуется с данными, полученными в других регионах России [23, 50, 51, 55].

В структуре генотипов *M. tuberculosis* у пациентов с сочетанной инфекцией ТБ/ВИЧ в отличие от ВИЧ-негативных отмечено незначительное преобладание доли штаммов генотипа Beijing (69,4% против 59%), в частности B0/W148 (32,4% против 28,1%). При этом «успешность» B0/W148 в восприимчивой популяции в значительной мере проявлялась в группе ВИЧ-позитивных (90,9%) нежели ВИЧ-негативных (48,6%) пациентов молодого (до 40 лет) возраста ( $p = 0,009$ ). Таким



образом, пул ВИЧ-инфицированных способствует поддержанию устойчивого резервуара ассоциированного с МЛУ генотипа B0/W148 *M. tuberculosis*, способствуя распространению МЛУ-ТБ в регионе.

Исходя из положения о важности определения минимальных генетических различий между штаммами *M. tuberculosis* для установления общности источника [113, 281], оценки эпидемиологической значимости и эволюционной «успешности» генотипа [48], в СЗФО была изучена однородность территориальных субпопуляций и рассчитан уровень кластеризации (CR) штаммов семейства Beijing в целом и наиболее крупных кластеров Central Asian/Russian и B0/W148, выявленных с использованием высокодискриминирующей схемы генотипирования по 24 локусам MIRU-VNTR [293, 295].

MIRU-VNTR<sub>24</sub>-типирование 288 из 411 штаммов Beijing подтвердило гетерогенность изученной субпопуляции возбудителя. Выявлено 82 профиля MIRU-VNTR<sub>24</sub>, из них 24 были представлены кластерами, включавшими большинство (79,9%) штаммов.

Наибольший аллельный полиморфизм штаммов Beijing, определяемый индексом Хантера–Гастона, отмечен в локусах QUB26 (HGI=0,617) и MIRU26 (HGI=0,543). У штаммов Central Asian/Russian наиболее варибельным был локус QUB26 (HGI=0,382); девять (37,5%) из 24 локусов были однородны (HGI=0). Штаммы B0/W148 представляли более гомогенную группу, поскольку не различались по 15 (62,5%,) локусам (включая упомянутые девять); наиболее полиморфным был локус MIRU31 (HGI=0,123).

Большинство штаммов Central Asian/Russian (включая субтип CAO) (79,0%; 139/176) входили в состав 15 кластеров MIRU-VNTR<sub>24</sub>, которые представляли клональные комплексы CC1 (n=127), CC3 (n=8) и CC4 (n=4) согласно международной базе данных [221]. К CC1 принадлежали кластеры 95-32 (6,8%; 12), 1065-32 (9,7%; 17) и наиболее крупный – 94-32 (42,6%; 75), представители которого распространены на территориях РФ и постсоветского пространства, особенно преобладая в Казахстане [21, 73, 83, 86, 221, 269, 284]. Кластер 94-32

включал 78,9% (15/19) штаммов субтипа CAO. Таким образом MIRU-VNTR<sub>24</sub> – типирование непригодно для идентификации данного субтипа. Поэтому способ определения субтипа CAO на основе выявления вставки IS6110 в области Rv1359-Rv1360 с помощью метода ПЦР является целесообразным.

Подавляющее большинство штаммов B0/W148 (88,3%; 68/77) были отнесены к четырем кластерам клонального комплекса CC2: 100-32 (86,8%; 59/68), 4737-32, 1075-32, 9378-32). Штаммы кластера 100-32, выявляют повсеместно в России, встречаются на территории бывшего Советского Союза, Европы и США (завезены с иммигрантами из бывшего СССР) и в малой степени распространены в Китае, Корее и Вьетнаме [22, 74, 83, 86, 221, 269, 284].

В целом высокие уровни кластеризации ( $CR > 0,6$ ) [184, 295] штаммов Central Asian/Russian и B0/W148 современной сублинии Beijing, определяемые по 24 локусам MIRU-VNTR свидетельствуют о доминировании данных генотипов в популяции возбудителя на территориях СЗФО. При этом наиболее выраженная однородность B0/W148 ( $CR = 0,83$ ) свидетельствует о выраженной однородности B0/W148, позволяя предположить относительно недавнее происхождение и распространение штаммов данного генотипа по сравнению с Central Asian/Russian ( $CR = 0,71$ ). Эти данные согласуются с предположением о происхождении и первичном проникновении штаммов B0/W148 в Европейскую часть России из Западной Сибири вследствие миграций населения в 1960–1980-е годы [22, 222, 231].

В распределении *M. tuberculosis* генотипов Central Asian/Russian и B0/W148 и их основных MIRU-VNTR<sub>24</sub>-кластеров в возрастных группах населения значимых различий не выявлено. Однако отмечены разнонаправленные тенденции уменьшения доли кластера 100-32 B0/W148 и увеличения доли кластера 94-32 Central Asian/Russian в старших возрастных группах (> 50 лет).

Анализ кластеров MIRU-VNTR<sub>24</sub> (включающих от 5 штаммов) в региональных субпопуляциях *M. tuberculosis* Beijing показал, что на долю 100-32 B0/W148 (CC2) приходилось: в Калининградской области (28,3%), Республиках Коми (28,8%) и Карелии (25,0%); в наименьшей доле данный кластер был

представлен в Вологодской области (7,8%). В Республике Коми среди штаммов B0/W148 кроме кластера 100-32 также выявлен кластер 4737-32 (4,1%). В Мурманской (42,9%) и Вологодской (35,3%) областях преобладали штаммы кластера 94-32/Central Asian/Russian (CC1). Минимальная доля штаммов 94-32 была выявлена в Калининградской области (13,0%). Штаммы Central Asian/Russian были представлены и кластером 1065-32 в Республике Коми, Псковской и Вологодской областях (где также выявлен кластер 95-32 – 16%).

Штаммы кластера 9391-32 (CC3) (n=9) современной сублинии Beijing присутствовали в субпопуляциях *M. tuberculosis* Мурманской, Калининградской, Псковской областях и Республики Карелия (имеют сухопутные границы с зарубежными странами), причем все штаммы этого кластера были чувствительны к ПТП.

Штаммы 1071-32 (клональный комплекс VL7) (n=8; в целом по СЗФО – 1,1%) древней сублинии Beijing в разных долях выявлены в Республиках Карелия и Коми, Псковской и Калининградской областях. Следует отметить, что относительно высокая доля мультирезистентного кластера 1071-32 древней сублинии Beijing недавно обнаружена в Омской области (9,5%) [51].

Уровень кластеризации, отражающий способность к передаче, у чувствительных к ПТП штаммов генотипа Beijing в СЗФО был существенно ниже (CR=0,17) по сравнению с МЛУ-штаммами (CR=0,62). Вероятно, пациенты, инфицированные лекарственно-чувствительными штаммами, быстрее и эффективнее излечиваются, в связи с чем уменьшается число контактов, а, следовательно, и риск распространения таких штаммов в человеческой популяции.

Сравнительный анализ фенотипической лекарственной устойчивости штаммов Beijing основных кластеров MIRU-VNTR<sub>24</sub> (100-32, 4737-32, 94-32, 1065-32, 95-32, 99-32, 1076-32, 9391-32 и 1071-32) показал доминирование МЛУ-штаммов в кластерах 1071-32/древняя сублиния (100%), 4737-32/B0/W148 (100%), 1065-32/Central Asian/Russian (88,2%) и 100-32/B0/W148 (83,1%).

Единичные, в т.ч. МЛУ-штаммы 4737-32/ B0/W148 были выявлены в Армении, Литве в ряде стран Западной Европы, в частности в Португалии, где в результате анализа эпидемических связей был сделан вывод об их клональной экспансии, вероятно, из бывших советских республик [148, 221, 263]. МЛУ-штаммы кластера 1065-32 выявлены в ряде стран Европы, причем наибольшая доля – в Литве (32,7%; 17/52) [221] и Эстонии (31,0%; 9/29) [148]. В нашем исследовании наибольшие доли кластеров МЛУ-штаммов 1065-32 обнаружены в граничащей с Эстонией Псковской области (35,3%; 6/17) и внутренним регионе РФ – Республике Коми (17,5%; 7/40).

Наиболее многочисленный гетерогенный кластер 94-32 генотипа Central Asian/Russian в равных долях (по 44,0%) включал ЛЧ и МЛУ штаммы. С другой стороны, основной пул (64,7%) МЛУ-штаммов Beijing (n=150) распределялся по трем кластерам MIRU-VNTR<sub>24</sub>: 100-32 (32,7%) генотипа B0/W148; 94-32 (22,0%) и 1065-32 (10,0%) генотипа Central Asian/Russian.

Ретроспективное исследование этих кластеров MIRU-VNTR<sub>24</sub> с использованием дополнительных гипервариабельных локусов (VNTR 3232, VNTR 3820 и VNTR 4120) (CR=0,83 для 100-32 и CR=0,80 для 1065-32) в сочетании с IS6110-RFLP-типированием (CR=0,65 для 100-32 и CR=0,80 для 1065-32) выявило гомогенность групп штаммов в пределах кластеров 100-32 B0/148 (60,9%; 14/23) и 1065-32 Central Asian/Russian (80,0%; 8/10), что подчеркивает повышенную способность этих кластеров к распространению в восприимчивой популяции. Кластер 94-32 отличался более выраженной гетерогенностью: лишь 22,2% (4/18) штаммов оказались однородными по трем гипервариабельным локусам VNTR и профилю IS6110-RFLP (CR=0,50 для каждого метода).

Поскольку штаммы *M. tuberculosis* генотипа Beijing, в частности кластеры B0/W148 и Central Asian/Russian (включая CAO), представляют значительную долю популяции возбудителя туберкулеза в России, поэтапный алгоритм быстрого выявления этих генотипов методом ПЦР может применяться для проспективного скрининга, ретроспективной оценки больших коллекций

штаммов и в целом для микробиологического и эпидемиологического мониторинга МЛУ-ТБ.

Широкая циркуляция МЛУ- штаммов *M. tuberculosis* привела к разработке новых ПТП, в том числе перспективного перорального бедаквилина, рекомендуемого для лечения МЛУ-ТБ с 2014 года [318, 320]. Однако в процессе лечения формируется устойчивость *M. tuberculosis* к бедаквилину за счет геномных мутаций, перечень которых постоянно пополняется, что требует оценки их клинической значимости [92, 190, 318, 338].

С этой целью было проведено полногеномное секвенирование МЛУ, пре-ШЛУ и ШЛУ серийных изолятов *M. tuberculosis* 11 больных МЛУ-ТБ, которые проходили курсы лечения ПТП, в т.ч. бедаквилином. Полногеномные нуклеотидные последовательности 43 серийных изолятов *M. tuberculosis* были депонированы в Sequence Read Archive (SRA) NCBI, USA (архив чтений последовательностей Национального центра биотехнологической информации): PRJNA525341 и PRJNA635788, BioProject Mycobacterium tuberculosis raw sequence reads, Kaliningrad, Russia.

Все 43 изолята *M. tuberculosis* принадлежали к генетическому семейству Beijing, причем большинство (81,4%) отнесены к кластеру B0/W148, остальные – к субтипу CAO Central Asian/Russian, наиболее опасным эпидемическим генотипам.

Были проанализированы последовательности генов *atpE* (Rv1305), *mmpR* (Rv0678), *perQ* (Rv2535c) и Rv1979c, мутации которых ассоциированы с устойчивостью к бедаквилину [90, 92, 96, 183, 270, 334, 338].

Генетические маркеры устойчивости к бедаквилину (несинонимические однонуклеотидные замены, вставки, делеции, дупликация) были выявлены только в генах *mmpR5* (Rv0678) и *atpE* (Rv1305) у 44,2% (19/43) изолятов *M. tuberculosis* Beijing, полученных от 6 из 11 пациентов. При этом в 16 изолятах пяти пациентов обнаружены мутации в различных участках гена *mmpR* (в частности, часто выявляемые в позиции 198 [170, 190]), обеспечивающие эффлюкс препарата [92]. Гетерорезистентность (присутствие дикого и

мутантного аллелей в одной и той же позиции в гене *mmpR*) отмечена у большинства серийных изолятов (11 из 12) четырех пациентов. У одного ВИЧ-положительного пациента серийные изоляты, включая полученный до начала лечения бедаквилином, содержали только мутантный аллель p.Leu43Pro в гене *mmpR*, что может быть связано с длительным использованием противогрибкового препарата (флуконазол), имеющего общие механизмы устойчивости с бедаквилином [225]. В изолятах пациента с несколькими эпизодами прерывания лечения, которое закончилось неудачей, были обнаружены четыре варианта мутаций в гене *mmpR5* – c.147insC, p.Glu21\_Gln22dup, p.Ala36Val и c.198del в различных сочетаниях.

Мутация p.Leu66Met гена *atpE* выявлена в серийных изолятах пациента, полученных в процессе и после прекращения лечения бедаквилином. Мутации в гене *atpE* встречаются реже, чем в *mmpR5*, однако обеспечивают высокий уровень устойчивости к бедаквилину за счет предотвращения его взаимодействия с мишенью – АТФ-синтазой [253].

У пациентов, в серийных изолятах *M. tuberculosis* которых мутации в генах *mmpR5* (Rv0678) и *atpE* (Rv1305) не были обнаружены, курсы лечения оказались эффективными и привели к прекращению бактериовыделения.

С помощью комплекса классических молекулярно-генетических методов (мультиплексная ПЦР, сполиготипирование, MIRU-VNTR-типирование) и полногеномного секвенирования в России исследована пространственно-временная структура популяций *M. tuberculosis* в субъектах СЗФО. Данные о распространенности генотипов, спектре мутаций, ассоциированных с резистентностью к современным и новым ПТП, являются основой для совершенствования методов выявления, оценки клинической и эпидемиологической значимости и мониторинга циркулирующих вариантов возбудителя МЛУ-ТБ.

## ВЫВОДЫ

1. В восьми субъектах Северо-Западного федерального округа структура популяции *M. tuberculosis*, представленная штаммами впервые выявленных больных туберкулезом легких, неоднородна: 57,1% штаммов принадлежали к генотипу Beijing Восточно-Азиатской филогенетической линии (L2), остальные (non-Beijing) – к семействам T (14,2%), LAM (11,9%), Ural (7,1%), Haarlem (5,3%), S и X (суммарно 1,6%) Евро-Американской линии (L4).

2. В гетерогенной субпопуляции *M. tuberculosis* Beijing преобладали генотипы 94-32 Central Asian/Russian и 100-32 B0/W148. В субпопуляции non-Beijing выявлено 90 профилей сполиготипирования, из них 19 описаны впервые; превалировали сполиготипы SIT53/T (14,2%), SIT42/LAM (8,4%) и обнаруженный во всех регионах Северо-Запада России сполиготип SIT262/Ural (7,4%) с наибольшей долей штаммов с множественной лекарственной устойчивостью (34,8%).

3. Среди штаммов *M. tuberculosis* с множественной лекарственной устойчивостью 83,7% принадлежали к генотипу Beijing. Устойчивость к рифампицину и изониазиду 87,3% штаммов Beijing (независимо от их принадлежности к определенному кластеру) и 50,0% штаммов non-Beijing была обусловлена мутациями *rpoB* Ser531Leu и *katG* Ser315Thr. Штаммы Beijing Central Asian/Russian отличались от B0/W148 разнообразием спектра мутаций в гене *rpoB* и более высокой частотой мутаций в гене *inhA*. У мультирезистентных штаммов генотипа LAM выявлены замены в кодонах 516 и 526 гена *rpoB* в сочетании с мутациями *katG* и *inhA*.

4. В кластерах генотипа Beijing древней сублинии 1071-32, современной сублинии – 100-32 и 4737-32 B0/W148, 1065-32 Central Asian/Russian доля штаммов с множественной лекарственной устойчивостью превышала 80%. Циркуляция на территориях СЗФО с высокими показателями заболеваемости туберкулезом (Калининградская область и Республика Коми) штаммов с множественной лекарственной устойчивостью кластера 100-32, наряду с

тенденцией к их распространению среди молодых возрастных групп, свидетельствует об эпидемиологической значимости генотипа B0/W148 Beijing.

5. Серийные изоляты *M. tuberculosis* 11 больных туберкулезом с множественной лекарственной устойчивостью возбудителя, леченных бедаквилином, принадлежали к генотипу Beijing, преимущественно B0/W148 (81,8%). Мутации устойчивости к бедаквилину в разных участках генов *mmpR5* (Rv0678) и *atpE* (Rv1305) выявлены в изолятах *M. tuberculosis* 6 (54,5%) пациентов.

6. Разработаны способы быстрого выявления основных генотипов и кластеров современной и древней сублиний Beijing, которые могут быть использованы в предложенном алгоритме генотипирования штаммов *M. tuberculosis* при проведении молекулярно-эпидемиологического мониторинга микробных популяций.



## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Предложенный алгоритм генотипирования возбудителя туберкулеза с использованием комплекса молекулярно-генетических методов на основе полимеразной цепной реакции может быть рекомендован для идентификации линий, сублиний, семейств и кластеров при проведении молекулярно-эпидемиологического мониторинга популяций *M. tuberculosis*.

Учитывая доминирование штаммов *M. tuberculosis* с множественной лекарственной устойчивостью в кластерах 100-32 и 4737-32 B0/W148, 1065-32 Central Asian/Russian современной сублинии, 1071-32 древней сублинии семейства Beijing и SIT262 семейства Ural, целесообразно проводить детекцию мутаций в генах, ассоциированных с устойчивостью *M. tuberculosis* к противотуберкулезным препаратам, и слежение за циркуляцией данных генотипов для оценки их эпидемиологической значимости.

## ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

Дальнейшие исследования должны быть направлены на оптимизацию использования молекулярно-генетических методов, в т.ч. полногеномного секвенирования, для выработки единых регламентированных алгоритмов популяционных исследований *M. tuberculosis*.

Необходимо расширить изучение молекулярно-генетических механизмов развития устойчивости *M. tuberculosis* к противотуберкулезным препаратам и их комбинациям для оптимизации схем лечения и создания диагностических тест-систем нового поколения.

Целесообразно создание общедоступных обновляемых компьютерных баз данных для обмена информацией о циркулирующих вариантах возбудителя туберкулеза, полученной с помощью «новых» (WGS) и «классических» (spoligotyping, MIRU-VNTR, IS6110-RFLP и др.) методов молекулярного типирования.

Необходимо проводить исследования «фитнеса» штаммов *M. tuberculosis* различных генотипов в ассоциации с трансмиссивностью, лекарственной устойчивостью, принимая во внимание гетерогенность популяций человека, ВИЧ-статуса и тяжести клинических проявлений туберкулеза у пациентов.

**СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ**

- ВИЧ – вирус иммунодефицита человека
- ВОЗ – Всемирная организация здравоохранения
- ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота
- ЛУ – лекарственная устойчивость
- ЛЧ – лекарственная чувствительность
- МЛУ – множественная лекарственная устойчивость (MDR – multiple drug-resistance)
- МЛУ-ТБ – туберкулез с множественной лекарственной устойчивостью возбудителя
- п.н. – пар нуклеотидов
- ПТП – противотуберкулезные препараты
- ПЦР – полимеразная цепная реакция
- ПЦР-РВ – полимеразная цепная реакция в режиме реального времени
- РФ – Российская Федерация
- СЗФО – Северо-Западный федеральный округ
- ТБ – туберкулез
- ШЛУ – широкая лекарственная устойчивость
- ШЛУ-ТБ – туберкулез с широкой лекарственной устойчивостью возбудителя
- CR – Clustering Rate (уровень кластеризации)
- DR – Direct Repeat (область прямых повторов)
- HGI – Hunter Gaston Index (индекс разнообразия Хантера–Гастона)
- IS6110-RFLP – Insertion Sequence 6110 Restriction Fragment Length Polymorphism (полиморфизм длин фрагментов рестрикции IS6110)

LAM – Latin American Mediterranean (Латино-Американо-Средиземноморское семейство)

MIRU – Mycobacterial Interspersed Repetitive Units (микобактериальные рассеянные повторы)

MTBC – Mycobacterium tuberculosis complex (микобактерии туберкулезного комплекса)

RFLP – restriction fragment length polymorphism (полиморфизм длин фрагментов рестрикции)

SNP – Single Nucleotide Polymorphism (однонуклеотидный полиморфизм)

UPGMA – unweighted pair-group method of arithmetic averages (невзвешенный парно-групповой метод арифметических средних)

VNTR – Variable Number Tandem Repeats (вариабельное число тандемных повторов)

WGS – Whole Genome Sequencing (полногеномное секвенирование)

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Андреевская, С.Н. Изониазид-резистентные *Mycobacterium tuberculosis*: частота выявления, спектры резистентности и генетические детерминанты устойчивости / С.Н. Андреевская, Т.Г. Смирнова, Е.Е. Ларионова, И.Ю. Андриевская, Л.Н. Черноусова, А. Эргешов // Вестник РГМУ. — 2020. — № 1. — С. 22–27.
2. Бадлеева, М.В. Молекулярно-генетические особенности туберкулеза в Монголии и граничащих с ней регионах России / М.В. Бадлеева, С.Н. Жданова, Э. Баасансурэн, О.Б. Огарков, Н. Эрдэнэгэрэл, Е.А. Орлова, Т. Оюунтуяа, Е.Д. Савилов, Б. Буянхишиг, Б. Пунцаг, Д. Нямхуу // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. — 2017. — Т. 16, № 5. — С. 53–57.
3. Балабанова, Я.М. Преобладание штаммов *Mycobacterium tuberculosis* семейства Beijing и факторы риска их трансмиссии в Самарской области / Я.М. Балабанова, В.В. Николаевский, М. Радди // Проблемы туберкулеза и болезней легких. — 2006. — № 2. — С. 31–37.
4. Баранов, А.А. Молекулярная эпидемиология туберкулеза в четырех административных территориях Баренц-региона Российской Федерации / А.А. Баранов, А.О. Марьяндышев, Ю.М. Маркелов, Г. Бьюне, У. Далё // Экология человека. — 2007. — № 7. — С. 34–38.
5. Беляков, Н.А. Противодействие ВИЧ-инфекции и рост заболеваемости в России / Н.А. Беляков, В.В. Рассохин, А.С. Бобрешова // ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. — 2017. — Т. 9, № 2. — С. 82–90.
6. Беляков, Н.А. Эпидемиология и течение инфекционных заболеваний на фоне пандемии COVID-19. Сообщение 1. ВИЧ-инфекция, хронический гепатит С и туберкулез / Н.А. Беляков, Е.В. Боева, З.М. Загдын, Е.В. Эсауленко, Д.А. Лиознов, О.Е. Симакина // Инфекция и иммунитет. — 2022. — Т. 12, № 4. — С. 639–650.
7. Беспярых, Ю.А. Геномная и протеомная характеристика штаммов *Mycobacterium tuberculosis* кластера Beijing B0/W148: автореф. дис. ...

- канд. биол. наук: 03.01.04 / Беспярых Юлия Андреевна. — Москва, 2016. — 24 с.
8. Богун, А.Г. Использование молекулярно-генетических методов для комплексного анализа штаммов *Mycobacterium tuberculosis*: автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.02.03 / Богун Александр Геннадьевич. — Москва, 2010. — 35 с.
  9. Бурмистрова, И.А. Лекарственная устойчивость *M. tuberculosis* (исторические аспекты, современный уровень знаний) / И.А. Бурмистрова, А.Г. Самойлова, Т.Е. Тюлькова, Э.В. Ваниев, Г.С. Баласанянц, И.А. Васильева // Туберкулез и болезни легких. — 2020. — Т. 98, № 1. — С. 54–61.
  10. Васильева, И. А. Туберкулез, сочетанный с ВИЧ-инфекцией, в странах мира и в Российской Федерации / И.А. Васильева, Е.М. Белиловский, С.Е. Борисов, С.А. Стерликов, М.В. Сеницын // Туберкулез и болезни легких. — 2017. — Т. 95, № 9. — С. 8–18.
  11. Васильева, И.А. Эпидемическая ситуация по туберкулезу в годы пандемии COVID-19 — 2020–2021 гг. / И.А. Васильева, В.В. Тестов, С.А. Стерликов // Туберкулез и болезни легких. — 2022. — Т. 100, № 3. — С. 6–12.
  12. Васильева, Н.Р. Эпидемиология нозокомиального туберкулеза: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.02.02 / Васильева Нелия Рафаэлевна. — Санкт-Петербург, 2017. — 23 с.
  13. ВИЧ-инфекция и коморбидные состояния в Северо-Западном федеральном округе Российской Федерации в 2020 году: аналитический обзор / Под ред. Н.А. Беякова. — СПб.: ФБУН НИИЭМ имени Пастера, 2021. — 60 с.
  14. Владимирский, М.А. Применение метода ПЦР в реальном времени для определения и контроля за распространением лекарственно-устойчивых штаммов микобактерий туберкулеза / М.А. Владимирский, Ю.С. Аляпкина, Д.А. Варламов, Я.И. Алексеев, Л.К. Шипина,

- М.В. Шульгина, Л.В. Домотенко, К.Р. Быкадорова, Н.Н. Гащенко, Л.Б. Ендоурова, О.В. Иванова, Е.А. Ильина, О.А. Левкова, Т.В. Маркова, В.П. Наземцева, Е.П. Павлова, А.И. Полозов, Н.В. Шишкина // Проблемы туберкулеза. — 2008. — № 4. — С. 38–44.
15. Галкин, В.Б. Бремя туберкулеза в Российской Федерации. Часть 2. Динамика распространенности туберкулеза с множественной лекарственной устойчивостью/ В.Б. Галкин, С.А. Стерликов, П.К. Яблонский // Медицинский альянс. — 2022. — № 4. — С. 6–18.
16. Галкин, В.Б. Динамика распространенности туберкулеза с множественной лекарственной устойчивостью и ВИЧ-инфекцией в Северо-Западном регионе России / В.Б. Галкин, С.А. Стерликов, П.К. Яблонский, М.В. Бельтюков, А.Н. Гришко, С.С. Баглина, Т.В. Васильева, Т.И. Данилова, Ю.С. Кононенко, А.И. Кулижская, П.А. Милютин, С.Э. Преснова, С.В. Пятунин, С.В. Тоинова, Е.Н. Туркина, Е.А. Юхнова // Медицинский альянс. — 2019. — № 2. — С. 6–23.
17. Дымова, М.А. Выявление генетического разнообразия *Mycobacterium tuberculosis* на территории стран СНГ: автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.01.03 / Дымова Майя Александровна. — Новосибирск, 2011. — 20 с.
18. Елисеев, П.И. Применение молекулярно-генетических методов диагностики с целью улучшения результатов лечения МЛУ-ТБ в Архангельской области / П.И. Елисеев, А. Детъен, Р. Дэйкомб, П. Филлипс, С.Б. Сквайер, А.О. Марьяндышев // Туберкулез и болезни легких. — 2021. — Т. 99, № 8. — С. 21–26.
19. Ершова, А.В. Эпидемическая ситуация по туберкулезу в Калининградской области / А.В. Ершова // Вестник Балтийского федерального университета им. И. Канта. Серия: Естественные и медицинские науки. — 2016. — № 4. — С. 30–38.
20. Жданова, С.Н. Генетическое разнообразие изолятов микобактерий туберкулеза из Саха (Якутия), Россия / С.Н. Жданова, О.Б. Огарков, Г.И. Алексеева, М.К. Винокурова, В.В. Синьков, Е.Д. Савилов,

- А.Ф. Кравченко // Молекулярная генетика, вирусология и микробиология. — 2016. — Т. 34, № 2. — С. 43–48.
21. Жданова, С.Н. Моделирование эпидемического распространения генотипа *Beijing Mycobacterium tuberculosis* в Республике Саха (Якутия) / С.Н. Жданова, О.Б. Огарков, М.К. Винокурова, Г.И. Алексеева, А.Ф. Кравченко, Е.Д. Савилов // Туберкулез и болезни легких. — 2017. — Т. 95, № 7. — С. 40–47.
22. Жданова, С.Н. Молекулярная эпидемиология туберкулеза с множественной лекарственной устойчивостью в Монголии и Восточной Сибири: два независимых процесса распространения доминирующих штаммов / С.Н. Жданова, М.В. Бадлеева, П.А. Хромова, О.Б. Огарков, Е.А. Орлова // Инфекция и иммунитет. — 2021. — Т. 11, № 2. — С. 337–348.
23. Жданова, С.Н. Молекулярно-эпидемиологическое исследование распространения основных генотипов возбудителя туберкулеза в Северной Азии: дис. ... д-ра мед. наук: 14.02.02 // Жданова Светлана Николаевна. — Иркутск, 2018. — 276 с.
24. Жданова, С.Н. Сравнительный анализ генотипов *Mycobacterium tuberculosis* в Республике Саха (Якутия) и Иркутской области / С.Н. Жданова, Г.И. Алексеева, О.Б. Огарков, А.Ф. Кравченко, Е.Ю. Зоркальцева, М.К. Винокурова, Е.Д. Савилов // Якутский медицинский журнал. — 2013. — № 1. — С. 68–71.
25. Жданова, С.Н. Эпидемиологическое обоснование распространения основных клонов генотипа *Beijing Mycobacterium tuberculosis* в Иркутской области / С.Н. Жданова, О.Б. Огарков, В.В. Синьков, П.А. Хромова, Е.А. Орлова, М.Е. Кошечев, Е.Д. Савилов // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. — 2017. — № 6. — С. 88–94.
26. Загдын, З.М. Комплексная оценка эффективности системы противодействия распространению ВИЧ-инфекции/туберкулеза на Северо-Западе России / З.М. Загдын, Е.В. Вербицкая, Е.Г. Соколович,



- Н.А. Беляков // Туберкулез и болезни легких. — 2019. — Т. 97, № 3 — С. 6–15.
27. Зименков, Д.В. Анализ генетических детерминант множественной и широкой лекарственной устойчивости возбудителя туберкулеза с использованием олигонуклеотидного микрочипа / Д.В. Зименков, Е.В. Кулагина, О.В. Антонова, С.А. Суржиков, Ю.А. Беспятых, Е.А. Шитиков, Е.Н. Ильина, В.М. Михайлович, А.С. Заседателей, Д.А. Грядунов // Молекулярная биология. — 2014. — Т. 48, № 2. — С. 251–264.
28. Зими́на, В.Н. Делама́нид — новый противотуберкулезный препарат: применение, ограничения, перспективы / В.Н. Зими́на, И.Б. Викторова // Туберкулез и болезни легких. — 2021. — Т. 99, № 2. — С. 58–66.
29. Зоркальцева, Е.Ю. Генетическая характеристика и лекарственная устойчивость микобактерий туберкулеза у больных туберкулезом и ВИЧ-инфекцией в Иркутской области / Е.Ю. Зоркальцева, О.Б. Огарков, С.Н. Жданова, С.И. Алексеева // Туберкулез и болезни легких. — 2014. — № 6. — С. 42–45.
30. Концевая, И.С. Распространенность генетических групп *Mycobacterium tuberculosis* по районам Самарской области / И.С. Концевая, В.В. Николаевский, А.В. Садыхова, А.М. Ковалев, О.А. Игнатьева, Ю.Д. Родионова, Я.М. Балабанова, О.Н. Макурина // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. — 2014. — Т. 16, № 1. — С. 317–320.
31. Лац, А.А. Лекарственная устойчивость различных генотипов *Mycobacterium tuberculosis* у больных туберкулезом в Иркутской области / А.А. Лац, С.Н. Жданова, О.Б. Огарков, С.И. Алексеева // Известия Иркутского государственного университета. Серия: Биология. Экология. — 2011. — Т. 4, № 4. — С. 58–62.

32. Литусов, Н.В. Микобактерии туберкулеза: иллюстрированное учебное пособие / Н.В. Литусов. — Екатеринбург: Изд-во ГБОУ ВПО УГМУ, 2015. — 52 с.
33. Маркелов, Ю.М. Клинико-эпидемиологические особенности туберкулеза с множественной лекарственной устойчивостью и причины его распространения в Республике Карелия: дис. ... д-ра мед. наук: 14.01.16 // Маркелов Юрий Михайлович. — Санкт-Петербург, 2011. — 218 с.
34. Марьяндышев, А.О. Молекулярная эпидемиология туберкулеза в Баренц-регионе Российской Федерации / А.О. Марьяндышев, О.С. Тунгусова, А.А. Баранов // Медицинский академический журнал. — 2007. — Т. 7, № 4. — С. 59–70.
35. Матракшин, А.Г. Генотипическая характеристика штаммов *Mycobacterium tuberculosis* из Республики Тыва / А.Г. Матракшин, Е.М. Месько, Н.К. Белякова, С.Н. Андреевская, Т.Г. Смирнова, Е.Е. Ларионова, А.В. Кузьмин, И.В. Мокроусов, Л.Е. Поспелов // Проблемы туберкулеза и болезней легких. — 2004. — № 3. — С. 37–40.
36. Медведева, Т.В. MIRU-VNTR-генотипирование штаммов *Mycobacterium tuberculosis* в Восточной Сибири: семейство Beijing против Kilimanjaro / Т.В. Медведева, И.В. Ушаков, О.Б. Огарков, Р.Г. Скворцова, Е.С. Козьякова, О.М. Некипелов // Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. — 2004. — № 4. — С. 33–38.
37. Микова, О.Е. Высокая распространенность генотипа B0/W148 *Mycobacterium tuberculosis* у больных ВИЧ-инфекцией, сочетанной с туберкулезом, в Пермском крае и Иркутской области / О.Е. Микова, С.Н. Жданова, В.И. Сергевнин, О.Б. Огарков, Е.В. Сармометов, Т.А. Варецкая, О.Н. Новицкая, П.А. Хромова, Е.Д. Савилов, М.Е. Кошцев, Д.В. Шмагин // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. — 2016. — Т. 1, № 5 (111). — С. 142–145.
38. Нарвская, О.В. Генетическое маркирование полирезистентных штаммов *Mycobacterium tuberculosis*, выделенных на Северо-Западе России /

- О.В. Нарвская, И.В. Мокроусов, Т.Ф. Оттен, Б.И. Вишневский // Проблемы туберкулеза. — 1999. — № 3. — С. 39–41.
39. Нарвская, О.В. Геномный полиморфизм *Mycobacterium tuberculosis* и его значение в эпидемическом процессе: автореф. дис. ... д-ра мед. наук: 03.00.07 / Нарвская Ольга Викторовна. — Санкт-Петербург, 2003. — 35 с.
40. Нарвская, О.В. Молекулярно-генетическая характеристика штаммов *Mycobacterium tuberculosis*, выделенных от больных, оперированных по поводу туберкулеза легких / О.В. Нарвская, Б.И. Вишневский, А.В. Елькин, И.В. Мокроусов, Е.В. Лимещенко, Т.Ф. Оттен, О.М. Осташко, Б.М. Ариэль // Проблемы туберкулеза. — 2002. — № 3. — С. 50–53.
41. Нечаева, О.Б. Показатели эпидемической ситуации и индикаторы качества во фтизиатрии. Учетные и отчетные формы. Аналитика во фтизиатрии: презентация доклада на IV конгрессе Национальной Ассоциации Фтизиатров, Санкт-Петербург, 19.11.2015 г. // Федеральный центра мониторинга противодействия распространению туберкулеза в Российской Федерации ФГБУ «ЦНИИОИЗ» Минздрава России. 49 слайдов. — URL: [https://old.mednet.ru/images/stories/files/CMT/Nechaeva\\_spb\\_indikator.pdf](https://old.mednet.ru/images/stories/files/CMT/Nechaeva_spb_indikator.pdf) (дата обращения: 30.08.2022)
42. Нечаева, О.Б. Эпидемическая ситуация по туберкулезу среди лиц с ВИЧ-инфекцией в Российской Федерации // Туберкулез и болезни легких. — 2017. — Т. 95, № 3. — С. 13–19.
43. Николаевский, В.В. Молекулярное генотипирование штаммов *Mycobacterium tuberculosis*, циркулирующих в центральной России: эффективность сполиготипирования и VNTR-MIRU / В.В. Николаевский, Я.М. Балабанова, Т. Браун // Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. — 2005. — № 4. — С. 9–14.
44. Новомлинская, М.Н. Оценка распространенности штаммов *M. tuberculosis* генотипа Beijing на территории Белгородской области /

- М.Н. Новомлинская, М.М. Амичба // Аллея Науки: научно-практический электронный журнал. — 2017. — № 11 (2). — С. 12–14.
45. Носова, Е.Ю. Генетическая и фенотипическая устойчивость *Mycobacterium tuberculosis* к антибактериальным препаратам. Методы и алгоритм диагностики: дис. ... д-ра мед. наук: 1.5.11 // Носова Елена Юрьевна. — Москва, 2021. — 311 с.
46. Об утверждении методических рекомендаций по совершенствованию диагностики и лечения туберкулеза органов дыхания: Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации от 29 декабря 2014 № 951. — URL: [https://rokptd.ru/uploads/userfiles/organization\\_1200/documents/pravo/prikaz29-12-2014-N951.pdf](https://rokptd.ru/uploads/userfiles/organization_1200/documents/pravo/prikaz29-12-2014-N951.pdf) (дата обращения: 24.12.2021)
47. Огарков, О.Б. Молекулярное типирование штаммов микобактерий туберкулеза в Иркутской области (Восточная Сибирь) в 2000–2005 гг. / О.Б. Огарков, Т.В. Медведева, Т. Zozio // Молекулярная медицина. — 2007. — № 2. — С. 33–38.
48. Огарков, О.Б. Эпидемиологический мониторинг и прогнозирование распространения туберкулеза: дис. ... д-ра мед. наук: 14.02.02 // Огарков Олег Борисович. — Иркутск, 2014. — 268 с.
49. Отраслевые и экономические показатели противотуберкулезной работы в 2018–2019 гг. Аналитический обзор основных показателей и статистические материалы / С.А. Стерликов, О.Б. Нечаева, В.Б. Галкин, И.М. Сон, В.В. Тестов, С.А. Попов, В.С. Бурыхин, С.Б. Пономарев, Л.И. Русакова, Н.И. Мезенцева, Д.А. Кучерявая, О.В. Обухова, А.В. Дергачев, С.С. Саенко / под ред. С.А. Стерликова. — Москва: РИО ЦНИИОИЗ, 2020. — 92 с.
50. Панов, Г.В. Генетический полиморфизм изолятов *Mycobacterium tuberculosis*, выделенных от ранее не леченных больных туберкулезом легких в сочетании с ВИЧ-инфекцией / Г.В. Панов, А.И. Цветков, Е.Е. Ларионова, Т.Г. Смирнова, Л.Н. Черноусова // Туберкулез и болезни легких. — 2015. — Т. 6. — С. 111–112.

51. Пасечник, О.А. Эпидемиологический надзор за туберкулезом в условиях интенсификации эпидемического процесса ВИЧ-инфекции: автореф. дис. ... д-ра мед. наук: 14.02.02 // Пасечник Оксана Александровна. — Омск, 2019. — 44 с.
52. Патент № 032489 Евразийское патентное ведомство, МПК C12Q 1/68, C12N 15/11. Олигонуклеотидные праймеры, флуоресцентные ДНК-зонды и способ выявления *Mycobacterium tuberculosis* клонального комплекса 2-W148 генотипа Beijing в клинических образцах / О.Б. Огарков, В.В. Синьков, С.Н. Жданова, Л.В. Рычкова; заявитель и патентообладатель ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека». — № 201700085; заявл. 03.02.2017; опубл. 28.06.2019, Бюл. № 6. — 9 с.
53. Патент № 2551764 Российская Федерация, МПК C12Q 1/68. Способ обнаружения микобактерий туберкулеза генетического кластера Beijing W0/W148 / Е.Н. Ильина, Е.А. Шитиков, Ю.А. Беспярых; заявитель и патентообладатель ФГБУН НИИ ФХМ ФМБА России. — № 2013130607/10; заявл. 04.07.2013; опубл. 27.05.2015, Бюл. № 15. — 5 с.
54. Петрова, Л.В. Эффективность различных методов выявления микобактерий в Республике Марий Эл / Л.В. Петрова, Э.В. Севастьянова, С.Н. Андреевская, Л.Н. Черноусова // Вестник Центрального научно-исследовательского института туберкулеза. — 2021. — № 2. — С. 41–48.
55. Попов, С.А. Оценка взаимосвязи ВИЧ-инфекции и туберкулеза с множественной лекарственной устойчивостью возбудителя / С.А. Попов, Т.П. Сабгайда, Т.С. Радина // Туберкулёз и болезни лёгких. — 2018. — Т. 96, № 7. — С. 25–32.
56. Ресурсы и деятельность противотуберкулезных организаций Российской Федерации в 2018–2019 гг. (статистические материалы) / О.Б. Нечаева, А.В. Гордина, С.А. Стерликов, Д.А. Кучерявая, А.В. Дергачев, С.Б. Пономарев, В.С. Бурыхин. — Москва: РИО ЦНИИОИЗ, 2020. — 99 с.

57. Решетникова, Ю.В. Генотипирование штаммов *Mycobacterium tuberculosis*, выделенных от больных туберкулезом Ханты-Мансийского автономного округа — Югра / Ю.В. Решетникова, Е.А. Ревякин // Современные инновационные технологии в эпидемиологии, диагностике и лечении туберкулеза взрослых и детей: сб. тр. рос. науч.-практ. конф. молодых ученых с междунар. участием, посвященной Всемирному дню борьбы с туберкулезом. — Москва, 2016. — С. 141.
58. Савилов, Е.Д. Реконструкция истории распространения «Пекинского» генотипа в России и на постсоветском пространстве методами молекулярной биологии / Е.Д. Савилов, В.В. Синьков, О.Б. Огарков // Acta Biomedica Scientifica. — 2011. — № 2 (78). — С. 172–175.
59. Салина, Т.Ю. Клинико-эпидемическое значение разных генотипов *M. tuberculosis* и динамика их распространения в Саратовской области за четырехлетний период наблюдения / Т.Ю. Салина, Т.И. Морозова // Туберкулез и болезни легких. — 2018. — Т. 96, № 4. — С. 32–37.
60. Синьков, В.В. Реконструкция эпидемической истории «Пекинского» генотипа *Mycobacterium tuberculosis* в России и странах 37 бывшего СССР по результатам сполиготипирования / В.В. Синьков, Е.Д. Савилов, О.Б. Огарков // Молекулярная генетика, микробиология, вирусология. — 2011. — № 3. — С. 25–29.
61. Синьков, В.В. Эпидемиология туберкулеза в России: эпидемиологические и исторические доказательства в пользу сценария распространения «Пекинского» генотипа *M. tuberculosis* в XX веке / В.В. Синьков, Е.Д. Савилов, О.Б. Огарков // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. — 2010. — № 6. — С. 23–28.
62. Татьков, С.И. Циркуляция на территории Томской области *M. tuberculosis* генетического семейства Beijing / С.И. Татьков, О.В. Воронкова, О.И. Уразова, А.Ю. Сивков, Р.Р. Хасанова, В.В. Новицкий, А.К. Стрелис, С.П. Мишустин, В.Е. Павлова, И.О. Наследникова, Е.Л. Никулина // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. — 2008. — № 4. — С. 13–17.

63. Умпелева, Т.В. Генетическое разнообразие *M. tuberculosis* в Ямало-Ненецком автономном округе / Т.В. Умпелева, К.В. Белоусова, Л.А. Голубева, Т.Ю. Ботева, Н.И. Еремеева, Д.В. Вахрушева // Туберкулез и болезни легких. — 2019. — Т. 97, № 6: 69.
64. Умпелева, Т.В. Молекулярно-генетическая характеристика клинических изолятов *Mycobacterium tuberculosis*, выделенных от больных туберкулезом в Уральском федеральном округе Российской Федерации: дис. ... канд. биол. наук: 03.02.03 // Умпелева Татьяна Валерьевна. — Екатеринбург, 2014. — 146 с.
65. Умпелева, Т.В. Генетический полиморфизм возбудителя туберкулеза на территории города с ограниченной миграцией населения и высоким уровнем заболеваемости ВИЧ-инфекцией / Т.В. Умпелева, К.В. Белоусова, Л.А. Голубева, И.М. Морозова, Н.И. Еремеева, Д.В. Вахрушева // Туберкулез и болезни легких. — 2019. — Т. 97, № 3. — С. 40-45.
66. Федеральные клинические рекомендации по диагностике и лечению туберкулеза органов дыхания с множественной и широкой лекарственной устойчивостью возбудителя. — 3-е изд. // Общероссийская общественная организация «Российское общество фтизиатров», 2015. — 68 с. — URL: [http://roftb.ru/netcat\\_files/doks2015/rec2.pdf](http://roftb.ru/netcat_files/doks2015/rec2.pdf)
67. Фтизиатрия: учебник / В.Ю. Мишин С.П. Завражнов, А.В. Митронин, Ю.Г. Григорьев, К.И. Аксенова, О.Н. Дейкина, А.В. Мишина, И.А. Морозов. — 2-е изд., перераб. и доп. — Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2016. — 520 с.
68. Фтизиатрия. Национальные клинические рекомендации / под ред. П.К. Яблонского. — Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2016. — 240 с.
69. Фтизиатрия: национальное руководство / под ред. М.И. Перельмана. — Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2007. — 512 с. — (Серия «Национальные руководства»)
70. Хахалина, А.А. Структура популяции *Mycobacterium tuberculosis* с множественной лекарственной устойчивостью на территории Москвы /

- А.А. Хахалина, М.А. Краснова, Е.М. Белиловский, И.В. Перетокина, Е.Ю. Носова, С.Г. Сафонова // Туберкулез и социально значимые заболевания. — 2019. — № 2. — С. 29–39.
71. Хоменко, А.Г. Туберкулез вчера, сегодня и завтра // Проблемы туберкулеза. — 1997. — № 6. — С. 9–11.
72. Хромова, П.А. Выявление высокотрансмиссивных генотипов возбудителя в клиническом материале для прогноза неблагоприятного течения туберкулеза / П.А. Хромова, О.Б. Огарков, С.Н. Жданова, В.В. Синьков, Е.Я. Моисеева, Т.А. Цыренова, М.Е. Кощев, Е.Ю. Зоркальцева, Е.Д. Савилов // Клиническая лабораторная диагностика. — 2017. — Т. 62, № 10. — С. 622–627.
73. Хромова, П.А. Выявление эпидемических субтипов генотипа *Beijing Mycobacterium tuberculosis*, циркулирующих в Приморском крае / П.А. Хромова, М.С. Корнилов, С.Н. Жданова, А.А. Яковлева, О.Б. Огарков // Acta Biomedica Scientifica. — 2018. — № 3 (5). — С. 154–158.
74. Хромова, П.А. Распространение эндемичных субклонов *Beijing B0/W148 M. tuberculosis* на территориях Сибирского и Дальневосточного федеральных округов по результатам полногеномного секвенирования / П.А. Хромова, В.В. Синьков, Е.Д. Савилов, С.Н. Жданова, О.Б. Огарков // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. — 2020. — Т. 19, № 3. — С. 41–45.
75. Черкасский, Б.Л. Инфекционные и паразитарные болезни человека: справочник эпидемиолога / Б.Л. Черкасский. — Москва: Мед. газ. — 1994. — 617 с.
76. Черноусова, Л.Н. Генотипирование микобактерий, выделенных от больных туберкулезом из пенитенциарного учреждения / Л.Н. Черноусова, С.Н. Андреевская, Т.Г. Смирнова, Н.И. Катулина, М.А. Шудрова // Проблемы туберкулеза. — 2001. — № 7. — С. 60–62.



77. Черняева, Е.Н. Биохимическая и молекулярно-биологическая характеристика штаммов микобактерий туберкулезного комплекса, распространенных в Санкт-Петербурге: дис. ... канд. биол. наук: 03.01.04 // Черняева Екатерина Николаевна. — Санкт-Петербург, 2012. — 171 с.
78. Шагинян, И.А. Исследование геномного полиморфизма штаммов *Mycobacterium tuberculosis* / И.А. Шагинян, Л.Н. Нестеренко, Т.Д. Гришина, В.И. Гольшевская, А.Г. Хоменко, С.Г. Сафонова, С.В. Прозоровский, А.Л. Гинцбург // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. — 1997. — № 3. — С. 65–68.
79. Шемякин, И.Г. Генетическое типирование штаммов *Mycobacterium tuberculosis* методами сполиготипирования и геномной дактилоскопии / И.Г. Шемякин, В.А. Анисимова, В.Н. Степаншина, О.В. Коробова, И.Ю. Иванов, М.Ю. Липин // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. — 2002. — № 6. — С. 30–35.
80. Шемякин, И.Г. Молекулярно-биологическая характеристика и методы идентификации клинических штаммов *Mycobacterium tuberculosis*: дис. ... д-ра биол. наук: 03.00.07 // Шемякин Игорь Георгиевич. — Москва, 2005. — 246 с.
81. Шитиков, Е.А. Геномная вариабельность возбудителей лекарственно-устойчивого туберкулеза, распространенных на территории Российской Федерации: дис. ... канд. биол. наук: 03.01.04 // Шитиков Егор Александрович. — Москва, 2014. — 176 с.
82. Шульгина, М.В. Патогенные и условно-патогенные микобактерии / М.В. Шульгина, О.В. Нарвская, И.В. Мокроусов, И.А. Васильева. — Москва: Нью-Терра, 2018. — 102 с.
83. Шур, К.В. Генотипирование клинических изолятов *Mycobacterium tuberculosis*, выделенных в Московском регионе, методом MIRU-VNTR / К.В. Шур, Д.А. Маслов, О.Б. Беккер, В.Н. Даниленко // Вестник РГМУ. — 2017. — № 1. — С. 48–51.

84. Шур, К.В. Изучение роли гена *WhiB7* и генов его регулона в природной устойчивости к антибиотикам у микробактерий: дис. ... канд. биол. наук: 03.02.07 // Шур Кирилл Владимирович. — Москва, 2017. — 187 с.
85. Эргешов, А.Э. Новые технологии микробиологической диагностики лекарственно-устойчивого туберкулеза / А.Э. Эргешов, А.Э. Черноусова, С.Н. Андреевская // Вестник РАМН. — 2019. — Т. 6, № 74. — С. 413–422.
86. Afanas'ev, M.V. Molecular typing of *Mycobacterium tuberculosis* circulated in Moscow, Russian Federation / M.V. Afanas'ev, L.N. Ikryannikova, E.N. Il'ina, A.V. Kuz'min, E.E. Larionova, T.G. Smirnova, L.N. Chernousova, V.M. Govorun // Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. — 2011. — Vol. 30, No. 2. — P. 181–191.
87. Aguilar, D. *Mycobacterium tuberculosis* strains with the Beijing genotype demonstrate variability in virulence associated with transmission / D. Aguilar, M. Hanekom, D. Mata, N.C. Gey van Pittius, P.D. van Helden, R.M. Warren, R. Hernandez-Pando // Tuberculosis (Edinb.). — 2010. — Vol. 90, No. 5. — P. 319–325.
88. Allix-Béguet, C. Evaluation and user-strategy of MIRU-VNTRplus, a multifunctional database for online analysis of genotyping data and phylogenetic identification of *Mycobacterium tuberculosis* complex isolates / C. Allix-Béguet, D. Harmsen, T. Weniger, P. Supply, S. Niemann // J. Clin. Microbiol. — 2008. — Vol. 46, No. 8. — P. 2692–2699.
89. Allué-Guardia, A. Evolution of drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* Strains and their adaptation to the human lung environment / A. Allué-Guardia, J.I. García, J.B. Torrelles // Front. Microbiol. — 2021. — Vol. 12: 612675.
90. Almeida, D. Mutations in *pepQ* Confer low-level resistance to bedaquiline and clofazimine in *Mycobacterium tuberculosis* / D. Almeida, T. Ioerger, S. Tyagi, S.Y. Li, K. Mdluli, K. Andries, J. Grosset, J. Sacchettini, E. Nuermberger // Antimicrob. Agents Chemother. — 2016. — Vol. 60, No. 8. — P. 4590–4599.
91. Andries, K. A diarylquinoline drug active on the ATP synthase of *Mycobacterium tuberculosis* / K. Andries, P. Verhasselt, J. Guillemont,

- H.W. Göhlmann, J.M. Neefs, H. Winkler, Van J. Gestel, P. Timmerman, M. Zhu, E. Lee, P. Williams, D. de Chaffoy, E. Huitric, S. Hoffner, E. Cambau, C. Truffot-Pernot, N. Lounis, V. Jarlier // *Science*. — 2005. — Vol. 307, No. 5707. — P. 223–237.
92. Andries, K. Acquired resistance of *Mycobacterium tuberculosis* to bedaquiline / K. Andries, C. Villellas, N. Coeck, K. Thys, T. Gevers, L. Vranckx, N. Lounis, B.C. de Jong, A. Koul // *PLoS One*. — 2014. — Vol. 9, No. 7: e102135.
93. Azhikina, T. Genome-wide sequence-independent comparative analysis of insertion-deletion polymorphisms in multiple *Mycobacterium tuberculosis* strains / T. Azhikina, N. Gvozdevsky, A. Botvinnik, A. Fushan, I. Shemyakin, V. Stepanshina, M. Lipin, C. Barry 3rd, E.A. Sverdlov // *Res. Microbiol.* — 2006. — Vol. 157, No. 3. — P. 282–290.
94. Baranov, A. Molecular epidemiology and drug resistance of widespread genotypes of *Mycobacterium tuberculosis* in northwestern Russia / A. Baranov, A. Mariandyshev, T. Mannsåker, U. Dahle, G. Bjune // *Int. J. Tuberc. Lung Dis.* — 2009. — Vol. 13, No. 10. — P. 1288–1293.
95. Barrangou, R. CRISPR provides acquired resistance against viruses in prokaryotes / R. Barrangou, C. Fremaux, H. Deveau, M. Richards, P. Boyaval, S. Moineau, D.A. Romero, P. Horvath // *Science*. — 2007. — Vol. 315, No. 5819. — P. 1709–1712.
96. Battaglia, S. Characterization of genomic variants associated with resistance to bedaquiline and delamanid in naive *Mycobacterium tuberculosis* clinical strains / S. Battaglia, A. Spitaleri, A.M. Cabibbe, C.J. Meehan, C. Utpatel, N. Ismail, S. Tahseen, A. Skrahina, N. Alikhanova, Mostofa S.M. Kamal, A. Barbova, S. Niemann, R. Groenheit, A.S. Dean, M. Zignol, L. Rigouts, D.M. Cirillo // *J. Clin. Microbiol.* — 2020. — Vol. 58, No. 11: e01304-20.
97. Beckert, P. rplC T460C identified as a dominant mutation in linezolid-resistant *Mycobacterium tuberculosis* strains / P. Beckert, D. Hillemann, T.A. Kohl, J. Kalinowski, E. Richter, S. Niemann, S. Feuerriegel // *Antimicrob. Agents Chemother.* — 2012. — Vol. 56. — P. 2743–2745.

98. Behr, M.A. Comparative genomics of BCG vaccines by whole-genome DNA microarray / M.A. Behr, M.A. Wilson, W.P. Gill, H. Salamon, G.K. Schoolnik, S. Rane, P.M. Small // *Science*. — 1999. — Vol. 284. — P. 1520–1523.
99. Bespyatykh, J. System OMICs analysis of *Mycobacterium tuberculosis* Beijing B0/W148 cluster / J. Bespyatykh, E. Shitikov, A. Guliaev, A. Smolyakov, K. Klimina, V. Veselovsky, M. Malakhova, G. Arapidi, M. Dogonadze, O. Manicheva, D. Bespiatykh, I. Mokrousov, V. Zhuravlev, E. Ilina, V. Govorun // *Sci. Rep.* — 2019. — Vol. 9, No. 1: 19255.
100. Bifani, J. Global dissemination of the *Mycobacterium tuberculosis* W-Beijing family strains / J. Bifani, B. Mathema, N.E. Kurepina, B.N. Kreiswirth // *Trends Microbiol.* — 2002. — Vol. 10. — P. 45–52.
101. Bifani, P.J. Origin and interstate spread of a New York City multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* clone family / P.J. Bifani, B.B. Plikaytis, V. Kapur, K. Stockbauer, X. Pan, M.L. Lutfey, S.L. Moghazeh, W. Eisner, T.M. Daniel, M.H. Kaplan, J.T. Crawford, J.M. Musser, B.N. Kreiswirth // *JAMA*. — 1996. — Vol. 275, No. 6. — P. 452–457.
102. Bostanghadiri, N. *Mycobacterium tuberculosis* and SARS-CoV-2 coinfections: a review / N. Bostanghadiri, F.M. Jazi, S. Razavi, L. Fattorini, D. Darban-Sarokhalil // *Front. Microbiol.* — 2022. — Vol. 12: 747827.
103. Brites, D. Co-evolution of *Mycobacterium tuberculosis* and *Homo sapiens* / D. Brites, S. Gagneux // *Immunol. Rev.* — 2015. — Vol. 264, No. 1. — P. 6–24.
104. Brites, D. The nature and evolution of genomic diversity in the *Mycobacterium tuberculosis* complex. Strain variation in the *Mycobacterium tuberculosis* complex: its role in biology / D. Brites, S. Gagneux // *Adv. Exp. Med. Biol.* — 2017. — Vol. 1019. — P. 1–26.
105. Brosch, R. A new evolutionary scenario for the *Mycobacterium tuberculosis* complex / R. Brosch, S.V. Gordon, M. Marmiesse, P. Brodin, C. Buchrieser, K. Eiglmeier, T. Garnier, C. Gutierrez, G. Hewinson, K. Kremer, L.M. Parsons,

- A.S. Pym, S. Samper, D. van Soolingen, S.T. Cole // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 2002. — Vol. 99, No. 6. — P. 3684–3689.
106. Brossier, F. Comparative study of enzymatic activities of new KatG mutants from low- and high-level isoniazid-resistant clinical isolates of *Mycobacterium tuberculosis* / F. Brossier, M. Boudinet, V. Jarlier, S. Petrella, W. Sougakoff // Tuberculosis (Edinb.). — 2016. — Vol. 100. — P. 15–24.
107. Brossier, F. Comparison of a semiautomated commercial repetitive-sequence-based PCR method with spoligotyping, 24-locus mycobacterial interspersed repetitive-unit-variable-number tandem-repeat typing, and restriction fragment length polymorphism-based analysis of IS6110 for *Mycobacterium tuberculosis* typing / F. Brossier, C. Sola, G. Millot, V. Jarlier, N. Veziris, W. Sougakoff // J. Clin. Microbiol. — 2014. — Vol. 52, No. 11. — P. 4082–4086.
108. Brown, T.S. Evolution and emergence of multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* in Chisinau, Moldova / T.S. Brown, V. Eldholm, O. Brynildsrud, M. Osnes, N. Levy, J. Stimson, C. Colijn, S. Alexandru, E. Noroc, N. Ciobanu, V. Crudu, T. Cohen, B. Mathema // Microb. Genom. — 2021. — Vol. 7, No. 8: 000620.
109. Brudey, K. *Mycobacterium tuberculosis* complex genetic diversity : mining the fourth international spoligotyping database (SpolDB4) for classification, population genetics and epidemiology / K. Brudey, J.R. Driscoll, L. Rigouts, W.M. Prodinger, A. Gori, S.A. Al-Hajoj, C. Allix, L. Aristimuno, J. Arora, V. Baumanis, L. Binder, P. Cafrune, A. Cataldi, S. Cheong, R. Diel, C. Ellermeier, J.T. Evans, M. Fauville-Dufaux, S. Ferdinand, D. Garcia de Viedma, C. Garzelli, L. Gazzola, H.M. Gomes, M.C. Gutierrez, P.M. Hawkey, P.D. van Helden, G.V. Kadival, B.N. Kreiswirth, K. Kremer, M. Kubin, S.P. Kulkarni, B. Liens, T. Lillebaek, H.M. Ly, C. Martin, I. Mokrousov, O. Narvskaya, Y.F. Ngeow, L. Naumann, S. Niemann, I. Parwati, M.Z. Rahim, V. Rasolofo-Razanamparany, T. Rasolonavalona, M.L. Rossetti, S. Rusch-Gerdes, A. Sajduda, S. Samper, I. Shemyakin, U.B. Singh, A. Somoskovi, R. Skuce, D. van Soolingen, E.M. Streicher, P.N. Suffys, E. Tortoli,

- T. Tracevska, V. Vincent, T.C. Victor, R. Warren, S.F. Yap, K. Zaman, F. Portaels, N. Rastogi, C. Sola // *BMC Microbiol.* — 2006. — Vol. 6 — P. 23.
110. Byrne, A.S. Methods for detecting mycobacterial mixed strain infections — a systematic review / A.S. Byrne, A. Goudreau, N. Bissonnette, I.C. Shamputa, K. Tahlan // *Front. Genet.* — 2020. — Vol. 11: 600692.
111. Campbell, E.A. Structural mechanism for rifampicin inhibition of bacterial RNA polymerase / E.A. Campbell, N. Korzheva, A. Mustaev, K. Murakami, S. Nair, A. Goldfarb, S.A. Darst // *Cell.* — 2001. — Vol. 104. — P. 901–912.
112. Camus, J.C. Re-annotation of the genome sequence of *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv / J.C. Camus, M.J. Pryor, C. Médigue, S.T. Cole // *Microbiology.* — 2002. — Vol. 148, Pt 10. — P. 2967–2973.
113. Casali, N. Evolution and transmission of drug resistant tuberculosis in a Russian population / N. Casali, V. Nikolayevskyy, Y. Balabanova, S.R. Harris, O. Ignatyeva, I. Kontsevaya, J. Corander, J. Bryant, J. Parkhill, S. Nejentsev, R.D. Horstmann, T. Brown, F. Drobniowski // *Nat. Genet.* — 2014. — Vol. 46. — P. 279–286.
114. Casali, N. Microevolution of extensively drug-resistant tuberculosis in Russia / N. Casali, V. Nikolayevskyy, Y. Balabanova, O. Ignatyeva, I. Kontsevaya, S.R. Harris, S.D. Bentley, J. Parkhill, S. Nejentsev, S.E. Hoffner, R.D. Horstmann, T. Brown, F. Drobniowski // *Genome Res.* — 2012. — Vol. 22, No. 4. — P. 735–745.
115. Castro, R.A.D. The within-host evolution of antimicrobial resistance in *Mycobacterium tuberculosis* / R.A.D. Castro, S. Borrell, S. Gagneux // *FEMS Microbiol. Rev.* — 2021. — Vol. 17, No. 45 (4): fuaa071.
116. Cave, M.D. Stability of DNA fingerprint pattern produced with IS6110 in strains of *Mycobacterium tuberculosis* / M.D. Cave, K.D. Eisenach, G. Templeton, M. Salfinger, G. Mazurek, J.H. Bates, J.T. Crawford // *J. Clin. Microbiol.* — 1994. — Vol. 32, No. 1. — P. 262–266.
117. Cerezo-Cortés, M.I. Circulation of *M. tuberculosis* Beijing genotype in Latin America and the Caribbean / M.I. Cerezo-Cortés, J.G. Rodríguez-Castillo,

- R. Hernández-Pando, M.I. Murcia // *Pathog. Glob. Health.* — 2019. — Vol. 113, No. 8. — P. 336–351.
118. Chatterjee, A. Strains of *Mycobacterium tuberculosis* from Western Maharashtra, India exhibit a high degree of diversity and strain-specific associations with drug resistance, cavitary disease and treatment failure / A. Chatterjee, D'D. Souza, T. Vira, A. Bamne, G.T. Ambe, M.P. Nicol, R.J. Wilkinson, N. Mistry // *J. Clin. Microbiol.* — 2010. — Vol. 48. — P. 3593–3599.
119. Cherednichenko, A. G. Detection and characteristics of rifampicin-resistant isolates of *Mycobacterium tuberculosis* / A.G. Cherednichenko, M.A. Dymova, O.A. Solodilova, T.I. Petrenko, A.I. Prozorov, M.L. Filipenko // *Bulletin of experimental biology and medicine.* — 2016. — Vol.160, No. 5. — P. 659–663.
120. Chen, J. Transmission of multidrug-resistant tuberculosis within family households by DTM-PCR and MIRU-VNTR genotyping / J. Chen, L. Chen, M. Zhou, G. Wu, F. Yi, C. Jiang, Q. Duan, M. Zhou // *BMC Infect Dis.* — 2022. — Vol. 22, No. 1:192.
121. Ciftci, I.H. Comparative evaluation of TK SLC-L, a rapid liquid mycobacterial culture medium, with the MGIT system / I.H. Ciftci, E. Karakece // *BMC Infect Dis.* — 2014. — Vol. 14: 130.
122. Cohen, K.A. Deciphering drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis* using whole-genome sequencing: progress, promise, and challenges / K.A. Cohen, A.L. Manson, C.A. Desjardins, T. Abeel, A.M. Earl // *Genome Med.* — 2019. — Vol. 11, No. 1: 45.
123. Cole, S.T. Deciphering the biology of *Mycobacterium tuberculosis* from the complete genome sequence / S.T. Cole, R. Brosch, J. Parkhill, T. Garnier, C. Churcher, D. Harris, S.V. Gordon, K. Eiglmeier, S. Gas, C.E. Barry 3rd, F. Tekaia, K. Badcock, D. Basham, D. Brown, T. Chillingworth, R. Connor, R. Davies, K. Devlin, T. Feltwell, S. Gentles, N. Hamlin, S. Holroyd, T. Hornsby, K. Jagels, A. Krogh, J. McLean, S. Moule, L. Murphy, K. Oliver, J. Osborne, M.A. Quail, M.A. Rajandream, J. Rogers, S. Rutter, K. Seeger,

- J. Skelton, R. Squares, S. Squares, J.E. Sulston, K. Taylor, S. Whitehead, B.G. Barrell // *Nature*. — 1998. — Vol. 393, No. 6685. — P. 537–544.
124. Comas, I. Genotyping of genetically monomorphic bacteria: DNA sequencing in *Mycobacterium tuberculosis* highlights the limitations of current methodologies / I. Comas, S. Homolka, S. Niemann, S. Gagneux // *PLoS One*. — 2009. — Vol. 4, No. 11: e7815.
125. Comas, I. Whole-genome sequencing of rifampicin-resistant *Mycobacterium tuberculosis* strains identifies compensatory mutations in RNA polymerase genes / I. Comas, S. Borrell, A. Roetzer, G. Rose, B. Malla, M. Kato-Maeda, J. Galagan, S. Niemann, S. Gagneux // *Nature genetics*. — 2011. — Vol. 44, No. 1. — P. 106–110.
126. Coscolla, M. Biological and epidemiological consequences of MTBC diversity / M. Coscolla // *Adv. Exp. Med. Biol.* — 2017. — Vol. 1019. — P. 95–116.
127. Coscolla, M. Consequences of genomic diversity in *Mycobacterium tuberculosis* / M. Coscolla, S. Gagneux // *Semin. Immunol.* — 2014. — Vol. 26, No. 6. — P. 431–444.
128. Coscolla, M. Does *M. tuberculosis* genomic diversity explain disease diversity? / M. Coscolla, S. Gagneux // *Drug Discov. Today Dis. Mech.* — 2010. — Vol. 7, No. 1. — P. e43-e59.
129. Coscolla, M. Phylogenomics of *Mycobacterium africanum* reveals a new lineage and a complex evolutionary history / M. Coscolla, S. Gagneux, F. Menardo, C. Loiseau, P. Ruiz-Rodriguez, S. Borrell, I.D. Otchere, A. Asante-Poku, P. Asare, L. Sánchez-Busó, F. Gehre, C.N. Sanoussi, M. Antonio, D. Affolabi, J. Fyfe, P. Beckert, S. Niemann, A.S. Alabi, M.P. Grobusch, R. Kobbe, J. Parkhill, C. Beisel, L. Fenner, E.C. Böttger, C.J. Meehan, S.R. Harris, B.C. de Jong, D. Yeboah-Manu, D. Brites // *Microb. Genom.* — 2021. — Vol. 7, No. 2: 000477.
130. Couvin, D. Macro-geographical specificities of the prevailing tuberculosis epidemic as seen through SITVIT2, an updated version of the *Mycobacterium*



- tuberculosis* genotyping database / D. Couvin, A. David, T. Zozio, N. Rastogi // Infect. Genet. Evol. — 2019. — Vol. 72. — P. 31–43.
131. Couvin, D. Two tales: worldwide distribution of Central Asian (CAS) versus ancestral East-African Indian (EAI) lineages of *Mycobacterium tuberculosis* underlines a remarkable cleavage for phylogeographical, epidemiological and demographical characteristics / D. Couvin, Y. Reynaud, N. Rastogi // PLoS One. — 2019. — Vol. 14, No. 7: e0219706.
132. Cox, H.S. The Beijing genotype and drug resistant tuberculosis in the Aral Sea region of Central Asia / H.S. Cox, T. Kubica, D. Doshetov, Y. Kebede, S. Rüsç-Gerdess, S. Niemann // Respir. Res. — 2005. — Vol. 6. — P. 134.
133. Crow, J.F. Spontaneous mutation as a risk factor / J.F. Crow // Exp. Clin. Immunogenet. — 1995. — Vol. 12. — P. 121–128.
134. Cruciani, M. Meta-analysis of BACTEC MGIT 960 and BACTEC 460 TB, with or without solid media, for detection of mycobacteria / M. Cruciani, C. Scarparo, M. Malena, O. Bosco, G. Serpelloni, C. Mengoli // J. Clin. Microbiol. — 2004. — Vol. 42, No. 5. — P. 2321–2325.
135. Crudu, V. Beijing and H4/Ural genotypes of *M. tuberculosis* are predominating among M/XDR-TB patients in Moldova / V. Crudu, E. Romancenco, E. Noroc, S. Alexandru, S. Niemann, C. Lange, R. Garfein, A. Catanzaro // Int. J. Tuberc. Lung. Dis. — 2014. — Vol. 18: S157.
136. Crudu, V. Nosocomial transmission of multidrug-resistant tuberculosis / V. Crudu, M. Merker, C. Lange, E. Noroc, E. Romancenco, D. Chesov, G. Günther, S. Niemann // Int. J. Tuberc. Lung. Dis. — 2015. — Vol. 19. — P. 1520–1523.
137. David, S. Implication of the RD(Rio) *Mycobacterium tuberculosis* sublineage in multidrug resistant tuberculosis in Portugal / S. David, E.L. Duarte, C.Q. Leite, J.N. Ribeiro, J.N. Maio, E. Paixão, C. Portugal, L. Sancho, J. Germano de Sousa // Infect. Genet. Evol. — 2012. — Vol. 12. — P. 1362–1367.

138. De Jong, B.C. *Mycobacterium africanum* — review of an important cause of human tuberculosis in West Africa / B.C. De Jong, M. Antonio, S. Gagneux // PLoS Negl. Trop. Dis. — 2010. — Vol. 4: e744.
139. Demay, C. SITVITWEB — a publicly available international multimarker database for studying *Mycobacterium tuberculosis* genetic diversity and molecular epidemiology / C. Demay, B. Liens, T. Burguière, V. Hill, D. Couvin, J. Millet, I. Mokrousov, C. Sola, T. Zozio, N. Rastogi // Infect. Genet. Evol. — 2012. — Vol. 12. — P. 755–766.
140. Diacon, A.H. Multidrug-resistant tuberculosis and culture conversion with bedaquiline / A.H. Diacon, A. Pym, M.P. Grobusch, J.M. de los Rios, E. Gotuzzo, I. Vasilyeva, V. Leimane, K. Andries, N. Bakare, T. De Marez, M. Haxaire-Theeuwes, N. Lounis, P. Meyvisch, E. De Paepe, R.P. van Heeswijk, B. Dannemann; TMC207-C208 Study Group // N. Engl. J. Med. — 2014. — Vol. 371, No. 8. — P. 723–732.
141. Díaz Acosta, C.C. Exploring the «Latin American Mediterranean» family and the RDRio lineage in *Mycobacterium tuberculosis* isolates from Paraguay, Argentina and Venezuela / Díaz C.C. Acosta, G. Russomando, N. Candia, V. Ritacco, S.E.G. Vasconcellos, M. de Berrêdo Pinho Moreira, N.J. de Romero, N. Morcillo, J.H. De Waard, H.M. Gomes, P.N. Suffys // BMC Microbiol. — 2019. — Vol. 19, No. 1: 131.
142. Drobniowski, F. Drug-resistant tuberculosis, clinical virulence, and the dominance of the Beijing strain family in Russia / F. Drobniowski, Y. Balabanova, V. Nikolayevsky, M. Ruddy, S. Kuznetzov, S. Zakharova, A. Melentyev, I. Fedorin // JAMA. — 2005. — Vol. 293, No. 22. — P. 2726–2731.
143. Drobniowski, F. Rifampin- and multidrug-resistant tuberculosis in Russian civilians and prison inmates: dominance of the Beijing strain family / F. Drobniowski, Y. Balabanova, M. Ruddy, L. Weldon, K. Jeltkova, T. Brown, N. Malomanova, E. Elizarova, A. Melentyey, E. Mutovkin, S. Zhakharova, I. Fedorin // Emerg. Infect. Dis. — 2002. — Vol. 8, No. 11. — P. 1320–1326.

144. Dubé, J.Y. Underwhelming or misunderstood? Genetic variability of pattern recognition receptors in immune responses and resistance to *Mycobacterium tuberculosis* / J.Y. Dubé, V.M. Fava, E. Schurr, M.A. Behr // Front. Immunol. — 2021. — Vol. 12: 714808.
145. Dubiley, S. Molecular characteristics of the *Mycobacterium tuberculosis* LAM-RUS family prevalent in Central Russia / S. Dubiley, E. Kirillov, A. Ignatova, V. Stepanshina, I. Shemyakin // J. Clin. Microbiol. — 2007. — Vol. 45, No. 12. — P. 4036–4038.
146. Dymova, M.A. Highest prevalence of the *Mycobacterium tuberculosis* Beijing genotype isolates in patients newly diagnosed with tuberculosis in the Novosibirsk oblast, Russian Federation / M.A. Dymova, V.N. Kinsht, A.G. Cherednichenko, E.A. Khrapov, A.V. Svistelnik, M.L. Filipenko // J. Med. Microbiol. — 2011. — Vol. 60, Pt 7. — P. 1003–1009.
147. Ebrahimi-Rad, M. Mutations in putative mutator genes of *Mycobacterium tuberculosis* strains of the W-Beijing family / M. Ebrahimi-Rad, P. Bifani, C. Martin, K. Kremer, S. Samper, J. Rauzier, B. Kreiswirth, J. Blazquez, M. Jouan, D. van Soolingen, B. Gicquel // Emerg. Infect. Dis. — 2003. — Vol. 9, No. 7. — P. 838–845.
148. European Centre for Disease Prevention and Control. Molecular typing for surveillance of multidrug-resistant tuberculosis in the EU/EEA: surveillance report. Stockholm, 2017. URL: <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/molecular-typing-surveillance-multidrug-resistant-tuberculosis-eueea> (дата обращения: 10.10.2021)
149. Farhat, M.R. Genomic analysis identifies targets of convergent positive selection in drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* / M.R. Farhat, B.J. Shapiro, K.J. Kieser, R. Sultana, K.R. Jacobson, T.C. Victor, R.M. Warren, E.M. Streicher, A. Calver, A. Sloutsky, D. Kaur, J.E. Posey, B. Plikaytis, M.R. Oggioni, J.L. Gardy, J.C. Johnston, M. Rodrigues, P.K. Tang, M. Kato-Maeda, M.L. Borowsky, B. Muddukrishna, B.N. Kreiswirth, N. Kurepina,

- J. Galagan, S. Gagneux, B. Birren, E.J. Rubin, E.S. Lander, P.C. Sabeti, Murray M. // *Nat. Genet.* — 2013. — Vol. 45. — P. 1183–1189.
150. Ferdinand, S. Data mining of *Mycobacterium tuberculosis* complex genotyping results using mycobacterial interspersed repetitive units validates the clonal structure of spoligotyping-defined families / S. Ferdinand, G. Valétudie, C. Sola, N. Rastogi // *Res. Microbiol.* — 2004. — Vol. 155, No. 8. — P. 647–654.
151. Filliol, I. Global phylogeny of *Mycobacterium tuberculosis* based on single nucleotide polymorphism (SNP) analysis: Insights into tuberculosis evolution, phylogenetic accuracy of other DNA fingerprinting systems, and recommendations for a minimal standard SNP set / I. Filliol, A.S. Motiwala, M. Cavatore, W. Qi, M.H. Hazbón, Bobadilla del M. Valle, J. Fyfe, L. García-García, N. Rastogi, C. Sola, T. Zozio, M.I. Guerrero, C.I. León, J. Crabtree, S. Angiuoli, K.D. Eisenach, R. Durmaz, M.L. Joloba, A. Rendón, J. Sifuentes-Osornio, Ponce A. de León, M.D. Cave, R. Fleischmann, T.S. Whittam, D. Alland // *J. Bacteriol.* — 2006. — Vol. 188. — P. 759–772.
152. Firdessa, R. Mycobacterial lineages causing pulmonary and extrapulmonary tuberculosis, Ethiopia / R. Firdessa, S. Berg, E. Hailu, E. Schelling, B. Gumi, G. Erenso, E. Gadisa, T. Kiros, M. Habtamu, J. Hussein, J. Zinsstag, B.D. Robertson, G. Ameni, A.J. Lohan, B. Loftus, I. Comas, S. Gagneux, R. Tschopp, L. Yamuah, G. Hewinson, S.V. Gordon, D.B. Young, Aseffa A. // *Emerg. Infect. Dis.* — 2013. — Vol. 19, No. 3. — P. 460–463.
153. Fleischmann, R.D. Whole-genome comparison of *Mycobacterium tuberculosis* clinical and laboratory strains / R.D. Fleischmann, D. Alland, J.A. Eisen, L. Carpenter, O. White, J. Peterson, DeR. Boy, R. Dodson, M. Gwinn, D. Haft, E. Hickey, J.F. Kolonay, W.C. Nelson, L.A. Umayam, M. Ermolaeva, S.L. Salzberg, A. Delcher, T. Utterback, J. Weidman, H. Khouri, J. Gill, A. Mikula, W. Bishai, Jacobs WR Jr, J.C. Venter, C.M. Fraser // *J. Bacteriol.* — 2002. — Vol. 184, No. 19. — P. 5479–5490.

154. Fonseca, J.D. The complex evolution of antibiotic resistance in *Mycobacterium tuberculosis* / J.D. Fonseca, G.M. Knight, T.D. McHugh // Int. J. Infect. Dis. — 2015. — Vol. 32. — P. 94–100.
155. Ford, C.B. *Mycobacterium tuberculosis* mutation rate estimates from different lineages predict substantial differences in the emergence of drug-resistant tuberculosis / C.B. Ford, R.R. Shah, M.K. Maeda, S. Gagneux, M.B. Murray, T. Cohen, J.C. Johnston, J. Gardy, M. Lipsitch, S.M. Fortune // Nat. Genet. — 2013. — Vol. 45. — P. 784–790.
156. Frothingham, R. Genetic diversity in the *Mycobacterium tuberculosis* complex based on variable numbers of tandem DNA repeats / R. Frothingham, Meeker-O’W.A. Connell // Microbiology (Reading). — 1998. — Vol. 144, Pt 5. — P. 1189–1196.
157. Gagneux, S. Ecology and evolution of *Mycobacterium tuberculosis* / S. Gagneux // Nat. Rev. Microbiol. — 2018. — Vol. 16, No. 4. — P. 202–213.
158. Gagneux, S. Global phylogeography of *Mycobacterium tuberculosis* and implications for tuberculosis product development / S. Gagneux P.M. Small // Lancet Infect. Dis. — 2007. — Vol. 7. — P. 328–337.
159. Gagneux, S. Host-pathogen coevolution in human tuberculosis / Gagneux S. // Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci. — 2012. — Vol. 367, No. 1590. — P. 850–859.
160. Gagneux, S. Variable host-pathogen compatibility in *Mycobacterium tuberculosis* / S. Gagneux, DeK. Riemer, T. Van, M. Kato-Maeda, B.C. Jong de, S. Narayanan, M. Nicol, S. Niemann, K. Kremer, M.C. Gutierrez, M. Hilty, P.C. Hopewell, P.M. Small // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 2006. — Vol. 103. — P. 2869–2873.
161. Garcia de Viedma, D. New route of importation of *Mycobacterium tuberculosis* Beijing genotype / D. Garcia de Viedma, F. Chaves, J. Inigo, for the Tuberculosis molecular epidemiology study group // Emerg. Infect. Dis. — 2006. — Vol. 12. — P. 169–170.

162. Genewein, A. Molecular approach to identifying route of transmission of tuberculosis in the community / A. Genewein, A. Telenti, C. Bernasconi, C. Mordasini, S. Weiss, A.M. Maurer, H.L. Rieder, K. Schopfer, Bodmer T. // *Lancet*. — 1993. — Vol. 342, No. 8875. — P. 841–844.
163. Gibson, A.L. Application of sensitive and specific molecular methods to uncover global dissemination of the major RDRio sublineage of the Latin American-Mediterranean *Mycobacterium tuberculosis* spoligotype family / A.L. Gibson, R.C. Huard, N.C. Gey van Pittius, L.C. Lazzarini, J. Driscoll, N. Kurepina, T. Zozio, C. Sola, S.M. Spindola, A.L. Kritski, D. Fitzgerald, K. Kremer, H. Mardassi, P. Chitale, J. Brinkworth, D. Garcia de Viedma, B. Gicquel, J.W. Pape, D. van Soolingen, B.N. Kreiswirth, R.M. Warren, van P.D. Helden, N. Rastogi, P.N. Suffys, J. Lapa e Silva, J.L. Ho // *J. Clin. Microbiol.* — 2008. — Vol. 46. — P. 1259–1267.
164. Glynn, J.R. *Mycobacterium tuberculosis* Beijing genotype, northern Malawi / J.R. Glynn, A.C. Crampin, H. Traore, M.D. Yates, F.D. Mwaungulu, B.M. Ngwira, S.D. Chaguluka, D.T. Mwafulirwa, S. Floyd, C. Murphy, F.A. Drobniowski, P.E. Fine // *Emerg. Infect. Dis.* — 2005. — Vol. 11. — P. 150–153.
165. Glynn, J.R. Worldwide occurrence of Beijing/W strains of *Mycobacterium tuberculosis*: a systematic review / J.R. Glynn, J. Whiteley, P.J. Bifani, K. Kremer, D. van Soolingen // *Emerg. Infect. Dis.* — 2002. — Vol. 8, No. 8. — P. 843–849.
166. González-Pérez, M. Virulence and immune response induced by *Mycobacterium avium* complex strains in a model of progressive pulmonary tuberculosis and subcutaneous infection in BALB/c mice / M. González-Pérez, L. Mariño-Ramírez, C.A. Parra-López, M.I. Murcia, B. Marquina, D. Mata-Espinoza, Y. Rodríguez-Míguez, G.J. Baay-Guzman, S. Huerta-Yepez, R. Hernandez-Pando // *Infect. Immun.* — 2013. — Vol. 81, No. 11. — P. 4001–4012.

167. Goyal, M. Epidemiology of an outbreak of drug-resistant tuberculosis in the U.K. using restriction fragment length polymorphism / M. Goyal, L.P. Ormerod, R.J. Shaw // *Clin. Sci (Lond)*. — 1994. — Vol. 86, No. 6. — P. 749–751.
168. Grissa, I. The CRISPRdb database and tools to display CRISPRs and to generate dictionaries of spacers and repeats / I. Grissa, G. Vergnaud, C. Pourcel // *BMC Bioinformatics*. — 2007. — Vol. 8: 172.
169. Gryadunov, D. Evaluation of hybridisation on oligonucleotide microarrays for analysis of drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* / D. Gryadunov, V. Mikhailovich, S. Lapa, N. Roudinskii, M. Donnikov, S. Pan'kov, O. Markova, A. Kuz'min, L. Chernousova, O. Skotnikova, A. Moroz, A. Zasedatelev, A. Mirzabekov // *Clin. Microbiol. Infect.* — 2005. — Vol. 11. — P. 531–539.
170. Guo, Q. Whole genome sequencing identifies novel mutations associated with bedaquiline resistance in *Mycobacterium tuberculosis* / Q. Guo, J. Bi, Q. Lin, T. Ye, Z. Wang, Z. Wang, L. Liu, G. Zhang // *Front. Cell. Infect. Microbiol.* — 2022. — Vol. 12: 807095.
171. Haft, D.H. A guild of 45 CRISPR-associated (Cas) protein families and multiple CRISPR/Cas subtypes exist in prokaryotic genomes / D.H. Haft, J. Selengut, E.F. Mongodin, K.E. Nelson // *PLoS Comput. Biol.* — 2005. — Vol. 1, No. 6: e60.
172. Hakamata, M. Higher genome mutation rates of Beijing lineage of *Mycobacterium tuberculosis* during human infection / M. Hakamata, H. Takihara, T. Iwamoto, A. Tamaru, A. Hashimoto, T. Tanaka, S.A. Kaboso, G. Gebretsadik, A. Ilinov, A. Yokoyama, Y. Ozeki, A. Nishiyama, Y. Tateishi, H. Moro, T. Kikuchi, S. Okuda, S. Matsumoto // *Sci. Rep.* — 2020. — Vol. 10, No. 1: 17997.
173. Hameed, H.M.A. Molecular targets related drug resistance mechanisms in MDR-, XDR-, and TDR-*Mycobacterium tuberculosis* strains / H.M.A. Hameed, M.M. Islam, C. Chhotaray, C. Wang, Y. Liu, Y. Tan, X. Li, S. Tan, V. Delorme,

- W.W. Yew, J. Liu, T. Zhang // *Front. Cell. Infect. Microbiol.* — 2018 — Vol. 10, No. 8: 114.
174. Hanna, B.A. Multicenter evaluation of the BACTEC MGIT 960 system for recovery of mycobacteria / B.A. Hanna, A. Ebrahimzadeh, L.B. Elliott, M.A. Morgan, S.M. Novak, S. Rusch-Gerdes, M. Acio, D.F. Dunbar, T.M. Holmes, C.H. Rexer, C. Savthyakumar, A.M. Vannier // *J. Clin. Microbiol.* — 1999. — Vol. 37, No. 3. — P. 748–752.
175. Hargreaves, S. Multidrug-resistant tuberculosis and migration to Europe / S. Hargreaves, K. Lönnroth, L.B. Nellums, I.D. Oлару, R.R. Nathavitharana, M. Norredam, J.S. Friedland // *Clin. Microbiol. Infect.* — 2017. — Vol. 23, No. 3. — P. 141–146.
176. Hermans, P.W. The insertion element IS987 from *Mycobacterium bovis* BCG is located in a hot spot integration region for insertion elements in *Mycobacterium tuberculosis* complex strains / P.W. Hermans, D. van Soolingen, E.M. Bik, de P.E. Haas, J.W. Dale, van J.D. Embden // *Infect. Immun.* — 1991. — Vol. 59. — P. 2695–2705.
177. Homolka, S. High resolution discrimination of clinical *Mycobacterium tuberculosis* complex strains based on single nucleotide polymorphisms / S. Homolka, M. Projahn, S. Feuerriegel, T. Ubben, R. Diel, U. Nubel // *PLoS One.* — 2012. — Vol. 7, No. 7: e39855.
178. Huang, T.S. Trends in fluoroquinolone resistance of *Mycobacterium tuberculosis* complex in a Taiwanese medical centre: 1995–2003 / T.S. Huang, C.M. Kunin, S. Shin-Jung Lee, Y.S. Chen, H.Z. Tu, Y.C. Liu // *J. Antimicrob. Chemother.* — 2005. — Vol. 56, No. 6. — P. 1058–1062.
179. Hunter, P.R. Numerical index of the discriminatory ability of typing systems: an application of Simpson's index of diversity / P.R. Hunter, M.A. Gaston // *J. Clin. Microbiol.* — 1988. — Vol. 26, No. 11. — P. 2465–2466.
180. Ignatova, A. Predominance of multi-drug-resistant LAM and Beijing family strains among *Mycobacterium tuberculosis* isolates recovered from prison inmates in Tula Region, Russia / A. Ignatova, S. Dubiley, V. Stepanshina,



- I. Shemyakin // J. Med. Microbiol. — 2006. — Vol. 55, Pt 10. — P. 1413–1418.
181. Ioannidis, P. Multidrug-resistant/extensively drug-resistant tuberculosis in Greece: predominance of *Mycobacterium tuberculosis* genotypes endemic in the former Soviet Union countries / P. Ioannidis, D. van Soolingen, I. Mokrousov, D. Papaventsis, S. Karabela, E. Konstantinidou, I. Marinou, S. Nikolaou, S. Kanavaki, E. Mantadakis, G. Samonis, R. Anthony, E. Vogiatzakis // Clin. Microbiol. Infect. — 2017. — Vol. 23, No. 12. — P. 1002–1004.
182. Isakova, J. Mutations of *rpoB*, *katG*, *inhA* and *ahp* genes in rifampicin and isoniazid-resistant *Mycobacterium tuberculosis* in Kyrgyz Republic / J. Isakova, N. Sovkhozova, D. Vinnikov, Z. Goncharova, E. Talaibekova, N. Aldasheva, A. Aldashev // BMC Microbiol. — 2018. — Vol. 18, No. 1: 22.
183. Ismail, N. Genetic variants and their association with phenotypic resistance to bedaquiline in *Mycobacterium tuberculosis*: a systematic review and individual isolate data analysis / N. Ismail, E. Rivière, J. Limberis, S. Huo, J.Z. Metcalfe, R.M. Warren, A. Van Rie // Lancet Microbe. — 2021. — Vol. 2, No. 11: e604-e616.
184. Iwamoto, T. Genetic diversity and transmission characteristics of Beijing family strains of *Mycobacterium tuberculosis* in Peru / T. Iwamoto, L. Grandjean, K. Arikawa, N. Nakanishi, L. Caviedes, J. Coronel, P. Sheen, T. Wada, C.A. Taype, M.A. Shaw, D.A. Moore, R.H. Gilman // PLoS One. — 2012. — Vol. 7, No. 11: e49651.
185. Iwamoto, T. Hypervariable loci that enhance the discriminatory ability of newly proposed 15-loci and 24-loci variable-number tandem repeat typing method on *Mycobacterium tuberculosis* strains predominated by the Beijing family / T. Iwamoto, S. Yoshida, K. Suzuki, M. Tomita, R. Fujiyama, N. Tanaka, Y. Kawakami, M. Ito // FEMS Microbiol. Lett. — 2007. — Vol. 270, No. 1. — P. 67–74.

186. Iwamoto, T. Population structure dynamics of *Mycobacterium tuberculosis* Beijing strains during past decades in Japan / T. Iwamoto, R. Fujiyama, S. Yoshida, T. Wada, C. Shirai, Y. Kawakami // J. Clin. Microbiol. — 2009. — Vol. 47, No. 10. — P. 3340–3343.
187. Jackson, S. Effects of migration on tuberculosis epidemiological indicators in low and medium tuberculosis incidence countries: a systematic review / S. Jackson, Z. Kabir, C. Comiskey // J. Clin. Tuberc. Other Mycobact. Dis. — 2021. — Vol. 23: 100225.
188. Jain, M. Interaction between polyketide synthase and transporter suggests coupled synthesis and export of virulence lipid in *M. tuberculosis* / M. Jain, J.S. Cox // PLoS Pathog. — 2005. — Vol. 1, No. 1: e2.
189. Jani, J. The whole genome sequence data analyses of a *Mycobacterium tuberculosis* strain SBH321 isolated in Sabah, Malaysia, belongs to Ural family of Lineage 4 / J. Jani, Z.A. Mustapha, C.K. Ling, A.S.M. Hui, R. Teo, K. Ahmed // Data Brief. — 2020. — Vol. 33: 106388.
190. Kadura, S. Systematic review of mutations associated with resistance to the new and repurposed *Mycobacterium tuberculosis* drugs bedaquiline, clofazimine, linezolid, delamanid and pretomanid / S. Kadura, N. King, M. Nakhoul, H. Zhu, G. Theron, C.U. Köser, M. Farhat // J. Antimicrob. Chemother. — 2020. — Vol. 75, No. 8. — P. 2031–2043.
191. Kamerbeek, J. Simultaneous detection and strain differentiation of *Mycobacterium tuberculosis* for diagnosis and epidemiology / J. Kamerbeek, L. Schouls, A. Kolk, M. van Agterveld, D. van Soolingen, S. Kuijper, A. Bunschoten, H. Molhuizen, R. Shaw, M. Goyal, J. van Embden // J. Clin. Microbiol. — 1997. — Vol. 35, No. 4. — P. 907–914.
192. Kato-Maeda, M. Strain classification of *Mycobacterium tuberculosis*: congruence between large sequence polymorphisms and spoligotypes / M. Kato-Maeda, S. Gagneux, L.L. Flores, E.Y. Kim, P.M. Small, E.P. Desmond, P.C. Hopewell // Int. J. Tuberc. Lung. Dis. — 2011. — Vol. 15, No. 1. — P. 131–133.

193. Keikha, M. Beijing genotype of *Mycobacterium tuberculosis* is associated with extensively drug-resistant tuberculosis: a global analysis / M. Keikha, M. Majidzadeh // *New Microbes New Infect.* — 2021. — Vol. 43: 100921.
194. Klotoe, B.J. Genomic characterization of MDR/XDR-TB in Kazakhstan by a combination of high-throughput methods predominantly shows the ongoing transmission of L2/Beijing 94-32 central Asian/Russian clusters / B.J. Klotoe, S. Kacimi, E. Costa-Conceição, H.M. Gomes, R.B. Barcellos, S. Panaiotov, D. Haj Slimene, N. Sikhayeva, S. Sengstake, A.R. Schuitema, M. Akhalaia, A. Alenova, E. Zholdybayeva, P. Tarlykov, R. Anthony, G. Refrégier, C. Sola // *BMC Infect. Dis.* — 2019. — Vol. 19, No. 1: 553.
195. Kohl, T.A. Harmonized genome wide typing of tubercle bacilli using a web-based gene-by-gene nomenclature system / T.A. Kohl, D. Harmsen, J. Rothgänger, T. Walker, R. Diel, S. Niemann // *eBioMedicine.* — 2018. — Vol. 34. — P. 131–138.
196. Kovalev, S.Y. Genetic analysis of *Mycobacterium tuberculosis* strains isolated in Ural region, Russian Federation, by MIRU-VNTR genotyping / S.Y. Kovalev, E.Y. Kamaev, M.A. Kravchenko, N.E. Kurepina, S.N. Skorniakov // *Int. J. Tuberc. Lung. Dis.* — 2005. — No. 9. — P. 746–752.
197. Kremer, K. Comparison of methods based on different molecular epidemiological markers for typing of *Mycobacterium tuberculosis* complex strains: interlaboratory study of discriminatory power and reproducibility / K. Kremer, D. van Soolingen, R. Frothingham, W.H. Haas, P.W. Hermans, C. Martín, P. Palittapongarnpim, B.B. Plikaytis, L.W. Riley, M.A. Yakrus, J.M. Musser, van J.D. Embden // *J. Clin. Microbiol.* — 1999. — Vol. 37, No. 8. — P. 2607–2618.
198. Kremer, K. Definition of the Beijing/W lineage of *Mycobacterium tuberculosis* on the basis of genetic markers / K. Kremer, J.R. Glynn, T. Lillebaek, S. Niemann, N.E. Kurepina, B.N. Kreiswirth, P.J. Bifani, D. van Soolingen // *J. Clin. Microbiol.* — 2004. — Vol. 42, No. 9. — P. 4040–4049.

199. Kruuner, A. Spread of drug-resistant pulmonary tuberculosis in Estonia / A. Kruuner, S.E. Hoffner, H. Sillastu, M. Danilovits, K. Levina, S.B. Svenson, S. Ghebremichael, T. Koivula, G. Kallenius // *J. Clin. Microbiol.* — 2001. — Vol. 39, No. 9. — P. 3339–3345.
200. Kubica, T. The Beijing genotype is emerging among multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* strains from Germany / T. Kubica, S. Rüscher-Gerdes, S. Niemann // *Int. J. Tuberc. Lung Dis.* — 2004. — Vol. 8, No. 9. — P. 1107–1113.
201. Kurepina, N.E. Characterization of the phylogenetic distribution and chromosomal insertion 143 sites of five IS6110 elements in *Mycobacterium tuberculosis*: non-random integration in the dnaA-dnaN region / N.E. Kurepina, S. Sreevatsan, B.B. Plikaytis, P.J. Bifani, N.D. Connell, R.J. Donnelly, D. van Sooligen, J.M. Musser, B.N. Kreiswirth // *Tuberc. Lung Dis.* — 1998. — Vol. 79, No. 1. — P. 31–34.
202. Lau, R.W. Molecular characterization of fluoroquinolone resistance in *Mycobacterium tuberculosis*: functional analysis of gyrA mutation at position 74 / R.W. Lau, P.L. Ho, R.Y. Kao, W.W. Yew, T.C. Lau, V.C. Cheng, K.Y. Yuen, S.K. Tsui, X. Chen, W.C. Yam // *Antimicrob. Agents Chemother.* — 2011. — Vol. 55, No. 2. — P. 608–614.
203. Lazzarini, L.C. Discovery of a novel *Mycobacterium tuberculosis* lineage that is a major cause of tuberculosis in Rio de Janeiro, Brazil / L.C. Lazzarini, R.C. Huard, N.L. Boechat, H.M. Gomes, M.C. Oelemann, N. Kurepina // *J. Clin. Microbiol.* — 2007. — Vol. 45, No. 12. — P. 3891–3902.
204. Le Hang, N. T. Phenotypic and genotypic features of the *Mycobacterium tuberculosis* lineage 1 subgroup in central Vietnam / N. T. Le Hang, M. Hijikata, S. Maeda, A. Miyabayashi, K. Wakabayashi, S. Seto, N. Diem, N. Yen, L. Van Duc, P. H. Thuong, H. Van Huan, N. P. Hoang, S. Mitarai, N. Keicho, S. Kato // *Scientific reports.* — 2021. — Vol. 11, No. 1: 13609.
205. Lee, M. Linezolid for treatment of chronic extensively drug-resistant tuberculosis / M. Lee, J. Lee, M.W. Carroll, H. Choi, S. Min, T. Song, L.E. Via,

- L.C. Goldfeder, E. Kang, B. Jin, H. Park, H. Kwak, H. Kim, H.S. Jeon, I. Jeong, J.S. Joh, R.Y. Chen, K.N. Olivier, P.A. Shaw, D. Follmann, S.D. Song, J.K. Lee, D. Lee, C.T. Kim, V. Dartois, S.K. Park, S.N. Cho, Barry CE 3rd // *N. Engl. J. Med.* — 2012. — Vol. 367, No. 16. — P. 1508–1518.
206. Li, W.H. Rates of nucleotide substitution in primates and rodents and the generation-time effect hypothesis / W.H. Li, D.L. Ellsworth, J. Krushkal, B.H. Chang, D. Hewett-Emmett // *Mol. Phylogenet. Evol.* — 1996. — Vol. 5. — P. 182–187.
207. Lilic, M. Structural basis of transcriptional activation by the *Mycobacterium tuberculosis* intrinsic antibiotic-resistance transcription factor WhiB7 / M. Lilic, S.A. Darst, E.A. Campbell // *Mol. Cell.* — 2021 — Vol. 15, No. 81 (14). — P. 2875–2886.e5.
208. Lipin, M.Y. Association of specific mutations in *katG*, *rpoB*, *rpsL* and *rrs* genes with spoligotypes of multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* isolates in Russia / M.Y. Lipin, V.N. Stepanshina, I.G. Shemyakin, T.M. Shinnick // *Clin. Microbiol. Infect.* — 2007. — Vol. 13, No. 6. — P. 620–626.
209. Liu, Y. Evaluation of the frequency of mutation genes in multidrug-resistant tuberculosis (MDR-TB) strains in Beijing, China / Y. Liu, Y. Sun, X. Zhang, Z. Zhang, Q. Xing, W. Ren, C. Yao, J. Yu, B. Ding, S. Wang, C. Li // *Epidemiol. Infect.* — 2021. — Vol. 149: e21.
210. Livermore, D.M. Linezolid in vitro: mechanism and antibacterial spectrum / D.M. Livermore // *J. Antimicrob. Chemother.* — 2003. — Vol. 51, Suppl. 2. — P. ii9–ii16.
211. López, B. A marked difference in pathogenesis and immune response induced by different *Mycobacterium tuberculosis* genotypes / B. López, D. Aguilar, H. Orozco, M. Burger, C. Espitia, V. Ritacco, L. Barrera, K. Kremer, R. Hernandez-Pando, K. Huygen, D. van Soolingen // *Clin. Exp. Immunol.* — 2003. — Vol. 133, No. 1. — P. 30–37.
212. Luo, T. Southern East Asian origin and coexpansion of *Mycobacterium tuberculosis* Beijing family with Han Chinese / T. Luo, I. Comas, D. Luo, B. Lu,

- J. Wu, L. Wei, C. Yang, Q. Liu, M. Gan, G. Sun, X. Shen, F. Liu, S. Gagneux, J. Mei, R. Lan, K. Wan, Q. Gao // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 2015. — Vol. 112, No. 26. — P. 8136–8141.
213. Luzze, H. Relapse more common than reinfection in recurrent tuberculosis 1-2 years post treatment in urban Uganda / H. Luzze, D.F. Johnson, K. Dickman, H. Mayanja-Kizza, A. Okwera, K. Eisenach, M.D. Cave, C.C. Whalen, J.L. Johnson, W.H. Boom, M. Joloba // Int. J. Tuberc. Lung Dis. — 2013. — Vol. 17, No. 3. — P. 361–367.
214. Machado, D. Interplay between mutations and efflux in drug resistant clinical isolates of *Mycobacterium tuberculosis* / D. Machado, T.S. Coelho, J. Perdigão, C. Pereira, I. Couto, I. Portugal, R.A. Maschmann, D.F. Ramos, A. von Groll, M.L.R. Rossetti, P.A. Silva, M. Viveiros // Front. Microbiol. — 2017. — Vol. 27, No. 8: 711.
215. Maeda, S. Genotyping of *Mycobacterium tuberculosis* spreading in Hanoi, Vietnam using conventional and whole genome sequencing methods / S. Maeda, M. Hijikata, N.T.L. Hang, P.H. Thuong, H.V. Huan, N.P. Hoang, N.V. Hung, V.C. Cuong, A. Miyabayashi, S. Seto, N. Keicho // Infect Genet Evol. — 2020: 104107.
216. Maeda, S. *Mycobacterium tuberculosis* strains spreading in Hanoi, Vietnam: Beijing sublineages, genotypes, drug susceptibility patterns, and host factors / S. Maeda, N.T. Hang, L.T. Lien, P.H. Thuong, N.V. Hung, N.P. Hoang, V.C. Cuong, M. Hijikata, S. Sakurada, N. Keicho // Tuberculosis (Edinb.). — 2014. — Vol. 94, No. 6. — P. 649–656.
217. Mäkinen, J. Extremely high prevalence of multidrug resistant tuberculosis in Murmansk, Russia: a population-based study / J. Mäkinen, M. Marjamäki, M. Haanperä-Heikkinen, H. Marttila, L.B. Endourova, S.E. Presnova, V. Mathys, P. Bifani, R. Ruohonen, M.K. Viljanen, H. Soini // Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. — 2011. — Vol. 30, No. 9. — P. 1119–1126.
218. Malm, S. New *Mycobacterium tuberculosis* Complex Sublineage, Brazzaville, Congo / S. Malm, L.S. Linguissi, E.M. Tekwu, J.C. Vouvougui, T.A. Kohl,

- P. Beckert, A. Sidibe, S. Rüsç-Gerdes, I.K. Madzou-Laboum, S. Kwedi, V. Penlap Beng, M. Frank, F. Ntoumi, S. Niemann // *Emerg. Infect. Dis.* — 2017. — Vol. 23, No. 3. — P. 423–429.
219. Melly, G. MmpL proteins in physiology and pathogenesis of *M. tuberculosis* / G. Melly, G.E. Purdy // *Microorganisms.* – 2019. — Vol. 7, No. 3. — P. 70.
220. Merker, M. Compensatory evolution drives multidrug-resistant tuberculosis in Central Asia / M. Merker, M. Barbier, H. Cox, J.P. Rasigade, S. Feuerriegel, T.A. Kohl, R. Diel, S. Borrell, S. Gagneux, V. Nikolayevskyy, S. Andres, U. Nübel, P. Supply, T. Wirth, S. Niemann // *Elife.* — 2018. — Vol. 7: e38200.
221. Merker, M. Evolutionary history and global spread of the *Mycobacterium tuberculosis* Beijing lineage / M. Merker, C. Blin, S. Mona, N. Duforet-Frebourg, S. Lecher, E. Willery, M.G. Blum, S. Rüsç-Gerdes, I. Mokrousov, E. Aleksic, C. Allix-Béguet, A. Antierens, E. Augustynowicz-Kopec, M. Ballif, F. Barletta, H. Beck, C. Barry 3rd, M. Bonnet, E. Borroni, I. Campos-Herrero, D. Cirillo, H. Cox, S. Crowe, V. Crudu, R. Diel, F. Drobniowski, M. Fauville-Dufaux, S. Gagneux, S. Ghebremichael, M. Hanekom, S. Hoffner, W.W. Jiao, S. Kalon, T.A. Kohl, I. Kontsevaya, T. Lillebæk, S. Maeda, V. Nikolayevskyy, M. Rasmussen, N. Rastogi, S. Samper, E. Sanchez-Padilla, B. Savic, I.C. Shamputa, A. Shen, L.H. Sng, P. Stakenas, K. Toit, F. Varaine, D. Vukovic, C. Wahl, R. Warren, P. Supply, S. Niemann, T. Wirth // *Nat. Genet.* — 2015. — Vol. 47, No. 3. — P. 242–249.
222. Merker, M. Transcontinental spread and evolution of *Mycobacterium tuberculosis* W148 European/Russian clade toward extensively drug resistant tuberculosis / M. Merker, J.P. Rasigade, M. Barbier, H. Cox, S. Feuerriegel, T.A. Kohl, E. Shitikov, K. Klaos, C. Gaudin, R. Antoine, R. Diel, S. Borrell, S. Gagneux, V. Nikolayevskyy, S. Andres, V. Crudu, P. Supply, S. Niemann, T. Wirth // *Nat. Commun.* — 2022. — Vol. 13, No. 1: 5105.
223. Mestre, O. Phylogeny of *Mycobacterium tuberculosis* Beijing strains constructed from polymorphisms in genes involved in DNA replication, recombination and repair / O. Mestre, T. Luo, Dos T. Vultos, K. Kremer,

- A. Murray, A. Namouchi, C. Jackson, J. Rauzier, P. Bifani, R. Warren, V. Rasolofo, J. Mei, Q. Gao, B. Gicquel // PLoS One. — 2011. — Vol. 6, No. 1: e16020.
224. Mikhecheva, N.E. A nonsynonymous SNP catalog of *Mycobacterium tuberculosis* virulence genes and its use for detecting new potentially virulent sublineages / N.E. Mikhecheva, M.V. Zaychikova, A.V. Melerzanov, V.N. Danilenko // Genome Biol. Evol. — 2017. — Vol. 9, No. 4. — P. 887–899.
225. Milano, A. Azole resistance in *Mycobacterium tuberculosis* is mediated by the MmpS5-MmpL5 efflux system / A. Milano, M.R. Pasca, R. Proveddi, A.P. Lucarelli, G. Manina, A.L. Ribeiro, R. Manganelli, G. Riccardi // Tuberculosis (Edinb.). — 2009. — Vol. 89, No. 1. — P. 84–90.
226. Mitchison, D.A. Influence of initial drug resistance on the response to short-course chemotherapy of pulmonary tuberculosis / D.A. Mitchison, A.J. Nunn // Am. Rev. Respir. Dis. — 1986. — Vol. 133, No. 3. — P. 423–430.
227. Mokrousov, I. At baltic crossroads: a molecular snapshot of *Mycobacterium tuberculosis* population diversity in Kaliningrad, Russia / I. Mokrousov, T. Otten, T. Zozio, E. Turkin, V. Nazemtseva, A. Sheremet, B. Vishnevsky, O. Narvskaya, N. Rastogi // FEMS Immunol. Med. Microbiol. — 2009. — Vol. 55, No. 1. — P. 13–22.
228. Mokrousov, I. Detection of embB306 mutations in ethambutol-susceptible clinical isolates of *Mycobacterium tuberculosis* from Northwestern Russia: implications for genotypic resistance testing / I. Mokrousov, T. Otten, B. Vyshnevskiy, O. Narvskaya // J Clin Microbiol. — 2002. — Vol. 40, No. 10. — P. 3810–3813.
229. Mokrousov, I. Evolution of drug resistance in different sublineages of *Mycobacterium tuberculosis* Beijing genotype / I. Mokrousov, W.W. Jiao, G.Z. Sun, J.W. Liu, V. Valcheva, M. Li, O. Narvskaya, A.D. Shen // Antimicrob Agents Chemother. — 2006. — Vol. 50, No. 8. — P. 2820–2823.



230. Mokrousov, I. High prevalence of KatG Ser315Thr substitution among isoniazid-resistant *Mycobacterium tuberculosis* clinical isolates from northwestern Russia, 1996 to 2001 / I. Mokrousov, O. Narvskaya, T. Otten, E. Limeschenko, L. Steklova, B. Vyshnevskiy // *Antimicrob Agents Chemother.* — 2002. — Vol. 46, No. 5. — P. 1417–1424.
231. Mokrousov, I. Insights into the origin, emergence, and current spread of a successful Russian clone of *Mycobacterium tuberculosis* / I. Mokrousov // *Clin. Microbiol. Rev.* — 2013. — Vol. 26, No. 2. — P. 342–360.
232. Mokrousov, I. Molecular structure of *Mycobacterium tuberculosis* population in Russia and its interaction with neighboring countries / I. Mokrousov // *Int. J. Mycobacteriol.* — 2015. — Vol. 4, Suppl. 1. — P. 56–57.
233. Mokrousov, I. Molecular characterization of ofloxacin-resistant *Mycobacterium tuberculosis* strains from Russia / I. Mokrousov, T. Otten, O. Manicheva, Y. Potapova, B. Vishnevsky, O. Narvskaya, N. Rastogi // *Antimicrob. Agents Chemother.* — 2008. — Vol. 52, No 8. — P. 2937–2939.
234. Mokrousov, I. Molecular snapshot of *Mycobacterium tuberculosis* population structure and drug-resistance in Kyrgyzstan / I. Mokrousov, J. Isakova, V. Valcheva, A. Aldashev, N. Rastogi // *Tuberculosis (Edinb.)*. — 2013. — Vol. 93, No 5. — P. 501–507.
235. Mokrousov, I. *Mycobacterium tuberculosis* phylogeography in the context of human migration and pathogen's pathobiology: Insights from Beijing and Ural families / I. Mokrousov // *Tuberculosis (Edinb.)*. — 2015. — Vol. 95, Suppl. 1. — P. S167–S176.
236. Mokrousov, I. Origin and primary dispersal of the *Mycobacterium tuberculosis* Beijing genotype: clues from human phylogeography / I. Mokrousov, H.M. Ly, T. Otten, N.N. Lan, B. Vyshnevskiy, S. Hoffner, O. Narvskaya // *Genome Res.* — 2005. — Vol. 15, No. 10. — P. 1357–1364.
237. Mokrousov, I. Penitentiary population of *Mycobacterium tuberculosis* in Kyrgyzstan: exceptionally high prevalence of the Beijing genotype and its Russia-specific subtype / I. Mokrousov, V. Valcheva, N. Sovhozova,

- A. Aldashev, N. Rastogi, J. Isakova // *Infect. Genet. Evol.* — 2009. — Vol. 9. — P. 1400–1405.
238. Mokrousov, I. The quiet and controversial: Ural family of *Mycobacterium tuberculosis* / I. Mokrousov // *Infect. Genet. Evol.* — 2012. — Vol. 12. — P. 619–629.
239. Mokrousov, I. Ubiquitous and multifaceted: SIT53 spoligotype does not correlate with any particular family of *Mycobacterium tuberculosis* / I. Mokrousov // *Tuberculosis (Edinb.)*. — 2021. — Vol. 126: 102024.
240. Morris, R.P. Ancestral antibiotic resistance in *Mycobacterium tuberculosis* / R.P. Morris, L. Nguyen, J. Gatfield, K. Visconti, K. Nguyen, D. Schnappinger, S. Ehrt, Y. Liu, L. Heifets, J. Pieters, G. Schoolnik, C.J. Thompson // *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. — 2005 — Vol. 23, No. 102 (34): 12200-5.
241. Mostowy, S. Genomic interrogation of the dassie bacillus reveals it as a unique RD1 mutant within the *Mycobacterium tuberculosis* complex / S. Mostowy, D. Cousins, M.A. Behr // *J. Bacteriol.* — 2004. — Vol. 186. — P. 104–109.
242. Mourik, B.C. *Mycobacterium tuberculosis* clinical isolates of the Beijing and East-African Indian lineage induce fundamentally different host responses in mice compared to H37Rv / B.C. Mourik, de J.E.M. Steenwinkel, G.J. de Knegt, R. Huizinga, A. Verbon, T.H.M. Ottenhoff, D. van Soolingen, P.J.M. Leenen // *Sci. Rep.* — 2019. — Vol. 9, No. 1: 19922.
243. Muzondiwa, D. Resistance Sniffer: An online tool for prediction of drug resistance patterns of *Mycobacterium tuberculosis* isolates using next generation sequencing data / D. Muzondiwa, A. Mutshembele, R.E. Pierneef, O.N. Reva // *International Journal of Medical Microbiology*. — 2020. — Vol. 310, No 2: 151399.
244. Muzondiwa, D. The epistatic landscape of antibiotic resistance of different clades of *Mycobacterium tuberculosis* / D. Muzondiwa, H. Hlanze, O.N. Reva // *Antibiotics (Basel, Switzerland)*. — 2021. — Vol. 10, No 7: 857.

245. Musser, J.M. Antimicrobial agent resistance in mycobacteria: molecular genetic insights / J.M. Musser // *Clin. Microbiol. Rev.* — 1995. — Vol. 8, No. 4. — P. 496–514.
246. Musser, J.M. Negligible genetic diversity of *Mycobacterium tuberculosis* host immune system protein targets: evidence of limited selective pressure / J.M. Musser, A. Amin, S. Ramaswamy // *Genetics.* — 2000. — Vol. 155. — P. 7–16.
247. Napier, G. Robust barcoding and identification of *Mycobacterium tuberculosis* lineages for epidemiological and clinical studies / G. Napier, S. Campino, Y. Merid, M. Abebe, Y. Woldeamanuel, A. Aseffa, M.L. Hibberd, J. Phelan, T.G. Clark // *Genome Med.* — 2020. — Vol. 12, No. 1: 114.
248. Narang, A. Contribution of putative efflux pump genes to isoniazid resistance in clinical isolates of *Mycobacterium tuberculosis* / A. Narang, A. Giri, S. Gupta, K. Garima, M. Bose, M. Varma-Basil // *Int. J. Mycobacteriol.* — 2017. — Vol. 6. — P. 177–183.
249. Narvskaya, O. Molecular markers: application for studies of *Mycobacterium tuberculosis* population in Russia / O. Narvskaya, I. Mokrousov, T. Otten, B. Vishnevsky // *Trends in DNA Fingerprinting Research.* Ed. Read M.M. New York: Nova Science Publishers. — 2005. — P. 111–125.
250. Narvskaya, O. Nosocomial outbreak of multidrug-resistant tuberculosis caused by a strain of *Mycobacterium tuberculosis* W-Beijing family in St. Petersburg, Russia / O. Narvskaya, T. Otten, E. Limeschenko, N. Sapozhnikova, O. Graschenkova, L. Steklova, A. Nikonova, M.L. Filipenko, I. Mokrousov, B. Vyshnevskiy // *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* — 2002. — Vol. 21, No. 8. — P. 596–602.
251. Ngabonziza, J.C.S. A sister lineage of the *Mycobacterium tuberculosis* complex discovered in the African Great Lakes region / J.C.S. Ngabonziza, C. Loiseau, M. Marceau, A. Jouet, F. Menardo, O. Tzfidia, R. Antoine, E.B. Niyigena, W. Mulders, K. Fissette, M. Diels, C. Gaudin, S. Duthoy, W. Ssengooba, E. André, M.K. Kaswa, Y.M. Habimana, D. Brites, D. Affolabi, J.B. Mazarati,

- B.C. de Jong, L. Rigouts, S. Gagneux, C.J. Meehan, P. Supply // Nat. Commun. — 2020. — Vol. 11, No. 1: 2917.
252. Nguyen, T.V.A. Delamanid resistance: update and clinical management / T.V.A. Nguyen, R.M. Anthony, T.T.H. Cao, A.L. Bañuls, V.A.T. Nguyen, D.H. Vu, N.V. Nguyen, J.C. Alffenaar // Clin. Infect. Dis. — 2020. — Vol. 71, No. 12. — P. 3252–3259.
253. Nieto Ramirez, L.M. Whole genome sequencing for the analysis of drug resistant strains of *Mycobacterium tuberculosis*: a systematic review for bedaquiline and delamanid / L.M. Nieto Ramirez, K. Quintero Vargas, G. Diaz // Antibiotics (Basel). — 2020. — Vol. 9, No. 3: 133.
254. Nimmo, C. Population-level emergence of bedaquiline and clofazimine resistance-associated variants among patients with drug-resistant tuberculosis in southern Africa: a phenotypic and phylogenetic analysis / C. Nimmo, J. Millard, L. van Dorp, K. Brien, S. Moodley, A. Wolf, A.D. Grant, N. Padayatchi, A.S. Pym, F. Balloux, M. O'Donnell // The Lancet. Microbe. — 2020. — Vol. 1, No. 4: e165–e174.
255. Nsofor, C.A. Transmission is a noticeable cause of resistance among treated tuberculosis patients in Shanghai, China / C.A. Nsofor, Q. Jiang, J. Wu, M. Gan, Q. Liu, T. Zuo, G. Zhu, Q. Gao // Sci. Rep. — 2017. — Vol. 7, No. 1: 7691.
256. Oelemann, M.C. Assessment of an optimized mycobacterial interspersed repetitive- unit-variable-number tandem-repeat typing system combined with spoligotyping for population-based molecular epidemiology studies of tuberculosis / M.C. Oelemann, R. Diel, V. Vatin, W. Haas, S. Rüsç-Gerdes, C. Locht, S. Niemann, P. Supply // J. Clin. Microbiol. — 2007. — Vol. 45, No. 3. — P. 691–697.
257. Ogarkov, O.B. Molecular typing of the tuberculosis strains in Irkutsk region (East Siberia) in 2000–2005 / O.B. Ogarkov, T.V. Medvedeva, T. Zozio, V.I. Pogorelov, O.M. Necipelov, M.Y. Gutnikova, N.Y. Kuptsevich, I.V. Ushakov, C. Sola // Mol. Med. — 2007. — Vol. 2. — P. 33–38.

258. Orgeur, M. Evolution of virulence in the *Mycobacterium tuberculosis* complex / M. Orgeur, R. Brosch // *Curr. Opin. Microbiol.* — 2018. — Vol. 41. — P. 68–75.
259. Pang, Y. Study of the rifampin monoresistance mechanism in *Mycobacterium tuberculosis* / Y. Pang, J. Lu, Y. Wang, Y. Song, S. Wang, Y. Zhao // *Antimicrob. Agents Chemother.* — 2013. — Vol. 57, No. 2. — P. 893–900.
260. Panova, A.E. Molecular characteristics of *Mycobacterium tuberculosis* drug-resistant isolates from HIV- and HIV+ tuberculosis patients in Russia / A.E. Panova, A.S. Vinokurov, A.A. Shemetova, I.A. Burmistrova, M.V. Shulgina, A.G. Samoilova, I.A. Vasilyeva, D.V. Vakhrusheva, T.V. Umpeleva, N.I. Ereemeeva, L.S. Lavrenchuk, L.A. Golubeva, T.I. Danilova, T.B. Vasilyeva, V.A. Ugol'kova, N.V. Sosova, M.V. Lekhlyaider, I.A. Gorshkova, T.A. Romanova // *BMC Microbiol.* — 2022. — Vol. 22, No. 1: 138.
261. Parwati, I. *Mycobacterium tuberculosis* Beijing genotype is an independent risk factor for tuberculosis treatment failure in Indonesia / I. Parwati, B. Alisjahbana, L. Apriani, R.D. Soetikno, T.H. Ottenhoff, A.G. van der Zanden, J. van der Meer, D. van Soolingen, van R. Crevel // *J Infect Dis.* — 2010. — Vol. 15, No.201. — P. 553-557.
262. Parwati, I. Possible underlying mechanisms for successful emergence of the *Mycobacterium tuberculosis* Beijing genotype strains / I. Parwati, R. van Crevel, D. van Soolingen // *Lancet Infect. Dis.* — 2010. — Vol. 10, No. 2. — P. 103–111.
263. Perdigão, J. Emergence of multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* of the Beijing lineage in Portugal and Guinea-Bissau: a snapshot of moving clones by whole-genome sequencing / J. Perdigão, C. Silva, F. Maltez, D. Machado, A. Miranda, I. Couto, P. Rabna, P. Florez de Sessions, J. Phelan, A. Pain, McR. Nerney, M.L. Hibberd, I. Mokrousov, T.G. Clark, M. Viveiros, I. Portugal // *Emerg. Microbes Infect.* — 2020. — Vol. 9, No. 1. — P. 1342–1353.

264. Peretokina, I.V. Reduced susceptibility and resistance to bedaquiline in clinical *M. tuberculosis* isolates / I.V. Peretokina, L.Y. Krylova, O.V. Antonova, M.S. Kholina, E.V. Kulagina, E.Y. Nosova, S.G. Safonova, S.E. Borisov, D.V. Zimenkov // *J. Infect.* — 2020. — Vol. 80, No. 5. — P. 527–535.
265. Pérez-Lago, L. Urgent implementation in a hospital setting of a strategy to rule out secondary cases caused by imported extensively drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* strains at diagnosis / L. Pérez-Lago, M. Martínez-Lirola, S. García, M. Herranz, I. Mokrousov, I. Comas, L. Martínez-Priego, E. Bouza, D. García-de-Viedma // *J. Clin. Microbiol.* — 2016. — Vol. 54, No. 12. — P. 2969–2974.
266. Pfyffer, G.E. Multidrug-resistant tuberculosis in prison inmates, Azerbaijan / G.E. Pfyffer, A. Strässle, T. van Gorkum, F. Portaels, L. Rigouts, C. Mathieu, F. Mirzoyev, H. Traore, J.D. van Embden // *Emerg. Infect. Dis.* — 2001. — Vol. 7, No. 5. — P. 855–861.
267. Phelan, J.E. Integrating informatics tools and portable sequencing technology for rapid detection of resistance to anti-tuberculous drugs / J.E. Phelan, D.M. O'Sullivan, D. Machado, J. Ramos, Y.E.A. Oppong, S. Campino, J. O'Grady, R. McNerney, M.L. Hibberd, M. Viveiros, J.F. Huggett, T.G. Clark // *Genome Med.* — 2019. — Vol. 24, No. 11 (1): 41.
268. Plikaytis, B.B. Multiplex PCR assay specific for the multidrug resistant strain W of *Mycobacterium tuberculosis* / B.B. Plikaytis, J.L. Marden, J. Crawford, C.L. Woodley, W.R. Butler, T.M. Shinnick // *J. Clin. Microbiol.* — 1994. — Vol. 32. — P. 1542–1546.
269. Pole, I. Analysis of *Mycobacterium tuberculosis* genetic lineages circulating in Riga and Riga region, Latvia, isolated between 2008 and 2012 / I. Pole, J. Trofimova, I. Norvaisa, P. Supply, G. Skenders, A. Nodieva, I. Ozere, V. Riekstina, V. Igumnova, J. Storozenko, I. Jansone, L. Viksna, R. Ranka // *Infect. Genet. Evol.* — 2020. — Vol. 78: 104126.
270. Pym, A.S. Bedaquiline in the treatment of multidrug- and extensively drug-resistant tuberculosis / A.S. Pym, A.H. Diacon, S.J. Tang, F. Conradie,

- M. Danilovits, C. Chuchottaworn, I. Vasilyeva, K. Andries, N. Bakare, T. De Marez, M. Haxaire-Theeuwes, N. Lounis, P. Meyvisch, B. Van Baelen, R.P. van Heeswijk, B. Dannemann; TMC207-C209 Study Group // *Eur. Respir. J.* — 2016. — Vol. 47, No. 2. — P. 564–574.
271. Pym, A.S. Regulation of catalase-peroxidase (KatG) expression, isoniazid sensitivity and virulence by *furA* of *Mycobacterium tuberculosis* / A.S. Pym, P. Domenech, N. Honoré, J. Song, V. Deretic, S.T. Cole // *Mol. Microbiol.* — 2001. — Vol. 40, No. 4. — P. 879–889.
272. Reichmuth, M.L. Natural polymorphisms in *Mycobacterium tuberculosis* conferring resistance to delamanid in drug-naive patients / M.L. Reichmuth, R. Hömke, K. Zürcher, P. Sander, A. Avihingsanon, J. Collantes, C. Loiseau, S. Borrell, M. Reinhard, R.J. Wilkinson, M. Yotebieng, L. Fenner, E.C. Böttger, S. Gagneux, M. Egger, P.M. Keller // *Antimicrob. Agents Chemother.* — 2020. — Vol. 64, No. 11: e00513-20.
273. Reiling, N. Shaping the niche in macrophages: genetic diversity of the *M. tuberculosis* complex and its consequences for the infected host / N. Reiling, S. Homolka, T.A. Kohl, C. Steinhäuser, K. Kolbe, S. Schütze, J. Brandenburg // *Int. J. Med. Microbiol.* — 2018. — Vol. 308, No. 1. — P. 118–128.
274. Richter, E. First linezolid-resistant clinical isolates of *Mycobacterium tuberculosis* / E. Richter, S. Rusch-Gerdes, D. Hillemann // *Antimicrob. Agents Chemother.* — 2007. — Vol. 51, No. 4. — P. 1534–1536.
275. Roring, S. Development of variable-number tandem repeat typing of *Mycobacterium bovis*: comparison of results with those obtained by using existing exact tandem repeats and spoligotyping / S. Roring, A. Scott, D. Brittain, I. Walker, G. Hewinson, S. Neill, R. Skuce // *J. Clin. Microbiol.* — 2002. — Vol. 40, No. 6. — P. 2126–2133.
276. Rouse, D. A. Characterization of the *katG* and *inhA* genes of isoniazid-resistant clinical isolates of *Mycobacterium tuberculosis* / D.A. Rouse, Z. Li, G.H. Bai, S.L. Morris // *Antimicrob. Agents Chemother.* — 1995. — Vol. 39, No. 11. — P. 2472–2477.

277. Sandgren, A. Tuberculosis drug resistance mutation database / A. Sandgren, M. Strong, P. Muthukrishnan, B.K. Weiner, G.M. Church, M.B. Murray // *PLoS Med.* — 2009. — Vol. 6, No. 2: e2.
278. Segala, E. New mutations in the mycobacterial ATP synthase: new insights into the binding of the diarylquinoline TMC207 to the ATP synthase C-ring structure / E. Segala, W. Sougakoff, A. Nevejans-Chauffour, V. Jarlier, S. Petrella // *Antimicrob. Agents Chemother.* — 2012. — Vol. 56, No. 5. — P. 2326–2334.
279. Seifert, M. Genetic mutations associated with isoniazid resistance in *Mycobacterium tuberculosis*: a systematic review / M. Seifert, D. Catanzaro, A. Catanzaro, T.C. Rodwell // *PLoS One.* — 2015. — Vol. 10, No. 3: e0119628.
280. Shamputa, I.C. Genetic diversity of *Mycobacterium tuberculosis* isolates from a tertiary care tuberculosis hospital in South Korea / I.C. Shamputa, J. Lee, C. Allix-Béguet, E.J. Cho, J.I. Lee, V. Rajan, E.G. Lee, J.H. Min, M.W. Carroll, L.C. Goldfeder, J.H. Kim, H.S. Kang, S. Hwang, S.Y. Eum, S.K. Park, H. Lee, P. Supply, S.N. Cho, L.E. Via, C.E. Barry 3rd. // *J. Clin. Microbiol.* — 2010. — Vol. 48, No. 2. — P. 387–394.
281. Shitikov, E. Evolutionary pathway analysis and unified classification of East Asian lineage of *Mycobacterium tuberculosis* / E. Shitikov, S. Kolchenko, I. Mokrousov, J. Bespyatykh, D. Ischenko, E. Ilina, V. Govorun // *Sci. Rep.* — 2017. — Vol. 7, No. 1: 9227.
282. Silva, D. New and repurposed drugs to treat multidrug- and extensively drug-resistant tuberculosis / D. Silva, M. Dalcolmo, S. Tiberi, M. Arbex, M. Munoz-Torrico, R. Duarte, L. D'Ambrosio, D. Visca, A. Rendon, M. Gaga, A. Zumla, G. Migliori // *J Bras Pneumol.* — 2018. — Vol. 44, No. 2. — P. 153-160.
283. Sinkov, V. New epidemic cluster of pre-extensively drug resistant isolates of *Mycobacterium tuberculosis* Ural family emerging in Eastern Europe / V. Sinkov, O. Ogarkov, I. Mokrousov, Y. Bukin, S. Zhdanova, S.K. Heysell // *BMC Genomics.* — 2018. — Vol. 19, No. 1: 762.



284. Skiba, Y. Molecular snapshot of *Mycobacterium tuberculosis* population in Kazakhstan: a country-wide study / Y. Skiba, I. Mokrousov, G. Ismagulova, E. Maltseva, N. Yurkevich, V. Bismilda, L. Chingissova, T. Abildaev, N. Aitkhozhina // Tuberculosis (Edinb.). — 2015. — Vol. 95, No. 5. — P. 538–546.
285. Skrahina, A. Bedaquiline in the multidrug-resistant tuberculosis treatment: Belarus experience / A. Skrahina, H. Hurevich, D. Falzon, L. Zhilevich, V. Rusovich, M. Dara, S. Setkina // Int. J. Mycobacteriol. — 2016. — Vol. 5: S62-S63.
286. Slayden, R.A. The genetics and biochemistry of isoniazid resistance in *Mycobacterium tuberculosis* / R.A. Slayden, C.E. Barry // Microbes and Infection. — 2000. — Vol. 2, No 6. — P. 659–669.
287. Sola, C. Spoligotype database of *Mycobacterium tuberculosis*: biogeographic distribution of shared types and epidemiologic and phylogenetic perspectives / C. Sola, I. Filliol, M.C. Gutierrez, I. Mokrousov, V. Vincent, N. Rastogi // Emerg. Infect. Dis. — 2001. — Vol. 7, No. 3. — P. 390–396.
288. Somoskövi, Á. Comparison of Recoveries of *Mycobacterium tuberculosis* using the Automated BACTEC MGIT 960 System, the BACTEC 460 TB System, and Löwenstein-Jensen Medium / Á. Somoskövi, C. Ködmön, Á. Lantos, Z. Bártfai, L. Tamási, J. Füzy, P. Magyar // J. Clin. Microbiol. — 2000. — Vol. 38, No. 6. — P. 2395–2397.
289. Sreevatsan, S. Restricted structural gene polymorphism in the *Mycobacterium tuberculosis* complex indicates evolutionary recent global dissemination / S. Sreevatsan, X. Pan, K. Stockbauer, N. Connell, B. Kreiswirth, T. Whittam, J.M. Musser // Proc. Natl Acad. Sci. USA. — 1997. — Vol. 97. — P. 9869–9874.
290. Starshinova, A.A. Molecular and cellular mechanisms of *M. tuberculosis* and SARS-CoV-2 infections-unexpected similarities of pathogenesis and what to expect from co-infection / A.A. Starshinova, I. Kudryavtsev, A. Malkova, U. Zinchenko, V. Karev, D. Kudlay, A. Glushkova, A.Y. Starshinova,

- J. Dominguez, R. Villar-Hernández, I. Dovgalyk, P. Yablonskiy // *Int. J. Mol. Sci.* — 2022. — Vol. 23, No. 4: 2235.
291. Stucki, D. *Mycobacterium tuberculosis* lineage 4 comprises globally distributed and geographically restricted sublineages / D. Stucki, D. Brites, L. Jeljeli, M. Coscolla, Q. Liu, A. Trauner, L. Fenner, L. Rutaihwa, S. Borrell, T. Luo, Q. Gao, M. Kato-Maeda, M. Ballif, M. Egger, R. Macedo, H. Mardassi, M. Moreno, Tundo G. Vilanova, J. Fyfe, M. Globan, J. Thomas, F. Jamieson, J.L. Guthrie, A. Asante-Poku, D. Yeboah-Manu, E. Wampande, W. Ssenooba, M. Joloba, Henry W. Boom, I. Basu, J. Bower, M. Saraiva, S.E.G. Vaconcellos, P. Suffys, A. Koch, R. Wilkinson, L. Gail-Bekker, B. Malla, S.D. Ley, H.P. Beck, B.C. de Jong, K. Toit, E. Sanchez-Padilla, M. Bonnet, A. Gil-Brusola, M. Frank, V.N. Penlap Beng, K. Eisenach, I. Alani, P. Wangui Ndung'u, G. Revathi, F. Gehre, S. Akter, F. Ntoumi, L. Stewart-Isherwood, N.E. Ntinginya, A. Rachow, M. Hoelscher, D.M. Cirillo, G. Skenders, S. Hoffner, D. Bakonyte, P. Stakenas, R. Diel, V. Crudu, O. Moldovan, S. Al-Hajoj, L. Otero, F. Barletta, E. Jane Carter, L. Diero, P. Supply, I. Comas, S. Niemann, S. Gagneux // *Nat. Genet.* — 2016. — Vol. 48, No. 12. — P. 1535–1543.
292. Sukkasem, S. Drug resistance and IS6110-RFLP patterns of *Mycobacterium tuberculosis* in patients with recurrent tuberculosis in northern Thailand / S. Sukkasem, H. Yanai, S. Mahasirimongkol, N. Yamada, D. Rienthong, P. Palittapongarnpim, S. Khusmith // *Microbiol. Immunol.* — 2013. — Vol. 57, No. 1. — P. 21–22.
293. Supply, P. Automated high-throughput genotyping for study of global epidemiology of *Mycobacterium tuberculosis* based on mycobacterial interspersed repetitive units / P. Supply, S. Lesjean, E. Savine, K. Kremer, D. van Soolingen, C. Locht // *J. Clin. Microbiol.* — 2001. — Vol. 39, No. 10. — P. 3563–3571.
294. Supply, P. Linkage disequilibrium between minisatellite loci supports clonal evolution of *Mycobacterium tuberculosis* in a high tuberculosis incidence area /

- P. Supply, R.M. Warren, A.L. Banuls, S. Lesjean, G.D. van der Spuy, L.A. Lewis, M. Tibayrenc, P.D. van Helden, C. Locht // *Mol. Microbiol.* — 2003. — Vol. 47. — P. 529–538.
295. Supply, P. Proposal for standardization of optimized Mycobacterial interspersed repetitive Unit-Variable-Number Tandem Repeat Typing of *Mycobacterium tuberculosis* / P. Supply, C. Allix, S. Lesjean, M. Cardoso-Oelemann, S. Rüscher-Gerdes, E. Willery, E. Savine, P. de Haas, H. van Deutekom, S. Roring, P. Bifani, N. Kurepina, B. Kreiswirth, C. Sola, N. Rastogi, V. Vatin, M.C. Gutierrez, M. Fauville, S. Niemann, R. Skuce, K. Kremer, C. Locht, D. van Soolingen // *J. Clin. Microbiol.* — 2006. — Vol. 44, No. 12. — P. 4498–4510.
296. Swain, S.S. Molecular mechanisms of underlying genetic factors and associated mutations for drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis* / S.S. Swain, D. Sharma, T. Hussain, S. Pati // *Emerg. Microbes Infect.* — 2020. — Vol. 9, No. 1. — P. 1651–1663.
297. Takiff, H.E. The molecular mechanisms of drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis* / H.E. Takiff // *Multidrug-resistant tuberculosis*. Eds. I. Bastian, F. Portaels. Springer Science+Business Media Dordrecht, 2000. — P. 77–114.
298. Toungousova, O.S. Molecular epidemiology and drug resistance of *Mycobacterium tuberculosis* isolates in the Archangel prison in Russia: predominance of the W-Beijing clone family / O.S. Toungousova, A. Mariandyshev, G. Bjune, P. Sandven, D.A. Caugant // *Clin. Infect. Dis.* — 2003. — Vol. 37, No. 5. — P. 665–672.
299. Toungousova, O.S. Spread of drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* strains of the Beijing genotype in the Archangel Oblast, Russia / O.S. Toungousova, P. Sandven, A.O. Mariandyshev, N.I. Nizovtseva, G. Bjune, D.A. Caugant // *J. Clin. Microbiol.* — 2002. — Vol. 40, No. 6. — P. 1930–1937.
300. Tsolaki, A.G. Functional and evolutionary genomics of *Mycobacterium tuberculosis*: insights from genomic deletions in 100 strains / A.G. Tsolaki,

- A.E. Hirsh, DeK. Riemer, J.A. Enciso, M.Z. Wong, M. Hannan, Y.O. Goguet de la Salmoniere, K. Aman, M. Kato-Maeda, P.M. Small // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2004. — Vol. 101. — P. 4865–4870.
301. Tsolaki, A.G. Genomic deletions classify the Beijing/W strains as a distinct genetic lineage of *Mycobacterium tuberculosis* / A.G. Tsolaki, S. Gagneux, A.S. Pym, Y.O. Goguet de la Salmoniere, B.N. Kreiswirth, D. van Soolingen, P.M. Small // J. Clin. Microbiol. — 2005. — Vol. 43. — P. 3185–3191.
302. Tuyen, L.T.K. Molecular fingerprinting of *Mycobacterium tuberculosis* strains isolated in Vietnam using IS 6110 as probe / L.T.K. Tuyen, B.K. Hoa, H.M. Ly, L.N. Van, N.T.N. Lan, D. Chevrier, J.-L. Guesdon // Tuber. Lung Dis. — 2000. — Vol. 80. — P. 75–83.
303. Valafar, S.J. Systematic review of mutations associated with isoniazid resistance points to continuing evolution and subsequent evasion of molecular detection, and potential for emergence of multidrug resistance in clinical strains of *Mycobacterium tuberculosis* / S.J. Valafar // Antimicrob. Agents Chemother. — 2021. — Vol. 65, No. 3: e02091-20.
304. Van Embden, J.D. Strain identification of *Mycobacterium tuberculosis* by DNA fingerprinting: recommendations for a standardized methodology / J.D. Van Embden, M.D. Cave, J.T. Crawford, J.W. Dale, K.D. Eisenach, B. Gicquel, P. Hermans, C. Martin, R. McAdam, T.M. Shinnick, P.M. Small // J. Clin. Microbiol. — 1993. — Vol. 31, No. 2. — P. 406–409.
305. Van Rie, A. Analysis for a limited number of gene codons can predict drug resistance of *Mycobacterium tuberculosis* in a high-incidence community / A. Van Rie, R. Warren, I. Mshanga, A.M. Jordaan, G.D. van der Spuy, M. Richardson, J. Simpson, R.P. Gie, D.A. Enarson, N. Beyers, P.D. van Helden, T.C. Victor // J. Clin. Microbiol. — 2001. — Vol. 39, No. 2. — P. 636–641.
306. Van Soolingen, D. 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 /

- Van D. Soolingen, P.E. de Haas, H.R. van Doorn, E. Kuijper, H. Rinder, M.W. Borgdorff // *J. Infect. Dis.* — 2000. — Vol. 182, No. 6. — P. 1788–1790.
307. Van Soolingen, D. Predominance of a single genotype of *Mycobacterium tuberculosis* in countries of East Asia / D. Van Soolingen, L. Qian, P.E.W. de Haas, J.T. Douglas, H. Traore, F. Portaels, H.Z. Qing, D. Enkhsaikan, P. Nymadawa, J.D. van Embden // *J. Clin. Microbiol.* — 1995. — Vol. 33. — P. 3234–3238.
308. Veziris, N. Rapid emergence of *Mycobacterium tuberculosis* bedaquiline resistance: lessons to avoid repeating past errors / N. Veziris, C. Bernard, L. Guglielmetti, D. Le Du, D. Marigot-Outtandy, M. Jaspard, E. Caumes, I. Lerat, C. Rioux, Y. Yazdanpanah, A. Tiotiu, N. Lemaitre, F. Brossier, V. Jarlier, J. Robert, W. Sougakoff, A. Aubry // *The European Respiratory Journal.* — 2017. — Vol. 49, No. 3: 1601719.
309. Vilchèze, C. Resistance to isoniazid and ethionamide in *Mycobacterium tuberculosis*: Genes, Mutations, and Causalities / C. Vilchèze, W.R. Jacobs Jr. // *Microbiol. Spectr.* — 2014. — Vol. 2, No. 4: MGM2-0014-2013.
310. Villellas, C. Unexpected high prevalence of resistance-associated Rv0678 variants in MDR-TB patients without documented prior use of clofazimine or bedaquiline / C. Villellas, N. Coeck, C.J. Meehan, N. Lounis, B. de Jong, L. Rigouts, K. Andries // *J. Antimicrob. Chemother.* — 2017. — Vol. 72, No. 3. — P. 684–690.
311. Vultos, T. Evolution and diversity of clonal bacteria: the paradigm of *Mycobacterium tuberculosis* / T. dos Vultos, O. Mestre, J. Rauzier, M. Golec, N. Rastogi, V. Rasolofo, T. Tonjum, C. Sola, I. Matic, B. Gicquel // *PLoS One.* — 2008. — Vol. 3: e1538.
312. Wada, T. Genetic diversity of the *Mycobacterium tuberculosis* Beijing family in East Asia revealed through refined population structure analysis / T. Wada, T. Iwamoto, S. Maeda // *FEMS Microbiol. Lett.* — 2009. — Vol. 291, No. 1. — P. 35–43.

313. Warren, R.M. Microevolution of the direct repeat region of *Mycobacterium tuberculosis*: implications for interpretation of spoligotyping data / R.M. Warren, E.M. Streicher, S.L. Sampson, G.D. van der Spuy, M. Richardson, D. Nguyen, M.A. Behr, T.C. Victor, P.D. van Helden // J. Clin. Microbiol. — 2002. — Vol. 40, No. 12. — P. 4457–4465.
314. Warren, R.M. Patients with active tuberculosis often have different strains in the same sputum specimen / R.M. Warren, T.C. Victor, E.M. Streicher, M. Richardson, N. Beyers, N.C. Gey van Pittius, P.D. van Helden // Am. J. Respir. Crit. Care Med. — 2004. — Vol. 169, No. 5. — P. 610–614.
315. Weniger, T. MIRU-VNTRplus: a web tool for polyphasic genotyping of *Mycobacterium tuberculosis* complex bacteria / T. Weniger, J. Krawczyk, P. Supply, S. Niemann, D. Harmsen // Nucleic Acids Res. — 2010. — Vol. 38 (Web Server issue): W326-31.
316. Werngren, J. Evaluation of a novel kit for use with the BacT/ALERT 3D system for drug susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis* / J. Werngren, K. Lisbeth, S.E. Hoffner // J. Clin. Microbiol. — 2006. — Vol. 44, No. 6. — P. 2130–2132.
317. WHO (World Health Organization). Automated real-time nucleic acid amplification technology for rapid and simultaneous detection of tuberculosis and rifampicin resistance: Xpert MTB/RIF assay for the diagnosis of pulmonary and extrapulmonary TB in adults and children: policy update // Geneva: World Health Organization, 2013. — URL: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/112472?show=full> (дата обращения: 27.12.2020)
318. WHO (World Health Organization). Catalogue of mutations in *Mycobacterium tuberculosis* complex and their association with drug resistance // Geneva: World Health Organization, 2021. — URL: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240028173> (дата обращения: 01.02.2022)
319. WHO (World Health Organization). Global tuberculosis control: surveillance, planning, financing: WHO report 2008 // Geneva: World Health Organization,

2008. — URL: [https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/43831/9789241563543\\_eng.pdf?sequence=1](https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/43831/9789241563543_eng.pdf?sequence=1) (дата обращения: 19.02.2021)
320. WHO (World Health Organization). Global tuberculosis report 2017 // Geneva: World Health Organization, 2017. — URL: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/259366> (дата обращения: 19.02.2021)
321. WHO (World Health Organization). Global tuberculosis report 2019 // Geneva: World Health Organization, 2019. — URL: <https://www.who.int/publications/i/item/9789241565714> (дата обращения: 19.01.2021)
322. WHO (World Health Organization). Global tuberculosis report 2020 // Geneva: World Health Organization, 2020. — URL: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240013131> (дата обращения: 19.01.2021)
323. WHO (World Health Organization). Global tuberculosis report 2021 // Geneva: World Health Organization, 2021. URL: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240037021> (дата обращения: 01.02.2022)
324. WHO (World Health Organization). Meeting report of the WHO expert consultation on the definition of extensively drug-resistant tuberculosis // Geneva: World Health Organization, 2020. — URL: <https://www.who.int/publications/i/item/meeting-report-of-the-who-expert-consultation-on-the-definition-of-extensively-drug-resistant-tuberculosis> (дата обращения: 10.02.2021)
325. WHO (World Health Organization). Technical manual for drug susceptibility testing of medicines used in the treatment of tuberculosis // Geneva: World Health Organization, 2018. — URL: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/275469> (дата обращения: 28.12.2020)
326. WHO (World Health Organization). Tuberculosis MDR-TB and XDR-TB 2011 progress report // World Health Organization, 2011. — URL: [https://www.asianscientist.com/wp-content/uploads/2012/01/factsheet\\_mdr\\_progress\\_march2011.pdf](https://www.asianscientist.com/wp-content/uploads/2012/01/factsheet_mdr_progress_march2011.pdf) (дата обращения: 15.01.2021)
327. Witney, A.A. Use of whole-genome sequencing to distinguish relapse from reinfection in a completed tuberculosis clinical trial / A.A. Witney,

- A.L. Bateson, A. Jindani, P.P. Phillips, D. Coleman, N.G. Stoker, P.D. Butcher, T.D. McHugh; RIFAQUIN Study Team. // *BMC Med.* — 2017. — Vol. 15, No. 1: 71
328. Worley, M.V. Bedaquiline: a novel antitubercular agent for the treatment of multidrug-resistant tuberculosis / M.V. Worley, S.J. Estrada // *Pharmacotherapy.* — 2014. — Vol. 34, No. 11. — P. 1187–1197.
329. Yin, Q.Q. Evolutionary History and Ongoing Transmission of Phylogenetic Sublineages of *Mycobacterium tuberculosis* Beijing Genotype in China / Q.Q. Yin, H.C. Liu, W.W. Jiao, Q.J. Li, R. Han, J.L. Tian, Z.G. Liu, X.Q. Zhao, Y.J. Li, K.L. Wan, A.D. Shen, I. Mokrousov // *Sci. Rep.* — 2016. — Vol. 6: 34353.
330. Zalutskaya, A. Multidrug-resistant *Myobacterium tuberculosis* caused by the Beijing genotype and a specific T1 genotype clone (SIT No. 266) is widely transmitted in Minsk / A. Zalutskaya, M. Wijkander, P. Jureen, A. Skrahina, S. Hoffner // *Int. J. Mycobacteriol.* — 2013. — Vol. 2, No. 4. — P. 194–198.
331. Zaw, M.T. Mutations inside rifampicin-resistance determining region of *rpoB* gene associated with rifampicin-resistance in *Mycobacterium tuberculosis* / M.T. Zaw, N.A. Emran, Z. Lin // *J. Infect. Public. Health.* — 2018. — Vol. 11, no. 5. — P. 605–610.
332. Zhang, J. Genotypes and drug susceptibility of *Mycobacterium tuberculosis* Isolates in Shihezi, Xinjiang Province, China / J. Zhang, L. Mi, Y. Wang, P. Liu, H. Liang, Y. Huang, B. Lv, L. Yuan // *BMC Res. Notes.* — 2012. — Vol. 5: 309.
333. Zhang, Q. Uncovering the resistance mechanism of *Mycobacterium tuberculosis* to rifampicin due to RNA polymerase H451D/Y/R mutations from computational perspective / Q. Zhang, X. An, H. Liu, S. Wang, T. Xiao, H. Liu // *Front. Chem.* — 2019. — Vol. 7: 819.
334. Zhang, S. Identification of novel mutations associated with clofazimine resistance in *Mycobacterium tuberculosis* / S. Zhang, J. Chen, P. Cui, W. Shi,



- W. Zhang, Y. Zhang // *J. Antimicrob. Chemother.* — 2015. — Vol. 70. — P. 2507–2510.
335. Zhang, Y. Genetics of drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis* / Y. Zhang, A. Telenti, A.G. Hatfull, W.R. Jacobs // USA, Washington, DC: ASM Press, 2000. — P. 235–254.
336. Zhang, Z. Beijing genotype of *Mycobacterium tuberculosis* is significantly associated with linezolid resistance in multidrug-resistant and extensively drug-resistant tuberculosis in China / Z. Zhang, Y. Pang, Y. Wang, C. Liu, Y. Zhao // *Int. J. Antimicrob. Agents.* — 2014. — Vol. 43, No. 3. — P. 231–235.
337. Zhdanova, S. Primary multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* in 2 regions, Eastern Siberia, Russian Federation / S. Zhdanova, S.K. Heysell, O. Ogarkov, G. Boyarinova, G. Alexeeva, S. Pholwat, E. Zorkaltseva, E.R. Houpt, E. Savilov // *Emerg. Infect. Dis.* — 2013. — Vol. 19, No. 10. — P. 1649–1652.
338. Zimenkov, D.V. Examination of bedaquiline- and linezolid-resistant *Mycobacterium tuberculosis* isolates from the Moscow region / D.V. Zimenkov, E.Y. Nosova, E.V. Kulagina, O.V. Antonova, L.R. Arslanbaeva, A.I. Isakova, L.Y. Krylova, I.V. Peretokina, M.V. Makarova, S.G. Safonova, S.E. Borisov, D.A. Gryadunov // *J. Antimicrob. Chemother.* — 2017. — Vol. 72, No. 7. — P. 1901–1906.

















































## Продолжение приложения 2

Профиль ЛУ	Beijing (n=279)	Кластеры Beijing			non- Beijing (n=77)	Генотипы non-Beijing					S (n=1)	Всего (n=356)
		B0/W148 (n=111)	Central Asian/ Russian (n=139)	Другие (n=29)		T (n=11)	LAM (n=25)	Ural (n=19)	Haarlem (n=11)	Unknown (n=10)		
SHREKmAмCm	6	2	2	2	-	-	-	-	-	-	-	6
SHREKmAмCmEto	1	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	1
SHREKmCm	3	1	2	-	-	-	-	-	-	-	-	3
SHREKmCmEto	-	-	-	-	1	-	-	-	-	1	-	1
SHREKmCmPas	-	-	-	-	1	-	1	-	-	-	-	1
SHREKmEto	2	-	2	-	1	-	-	-	1	-	-	3
SHREZAmEto	1	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	1
SHREZKm	9	2	7	-	-	-	-	-	-	-	-	9
SHREZKmCm	2	-	1	1	-	-	-	-	-	-	-	2
SHREZKmCmEto	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
SHREZKmCmPas	2	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	2
SHREZKmCsPas	-	-	-	-	1	-	1	-	-	-	-	1
SHREZKmEto	2	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	2
SHREZPas	1	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	1
SHRKm	-	-	-	-	1	-	1	-	-	-	-	1
SHRmAмCm	5	3	1	1	-	-	-	-	-	-	-	5
SHRmCmEto	1	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	1
SHRPas	2	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2
SHRZKm	2	1	-	1	-	-	-	-	-	-	-	2
SHRZmAмCm	1	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	1
SHREto	4	2	2	-	1	-	-	-	1	-	-	5



## Окончание приложения 2

Профиль ЛУ	Beijing (n=279)	Кластеры Beijing			non- Beijing (n=77)	Генотипы non-Beijing					S (n=1)	Всего (n=356)
		B0/W148 (n=111)	Central Asian/ Russian (n=139)	Другие (n=29)		T (n=11)	LAM (n=25)	Ural (n=19)	Haarlem (n=11)	Unknown (n=10)		
SHROfx	2	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2
SHREOfx	6	3	3	-	-	-	-	-	-	-	-	6
SHROfxEto	1	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	1
SHREZOfx	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
SHREOfxEto	3	2	1	-	-	-	-	-	-	-	-	3
SHROfxKm	-	-	-	-	2	-	1	1	-	-	-	2
SHREOfxKm	4	3	1	-	1	1	-	-	-	-	-	5
SHROfxEtoCs	-	-	-	-	1	-	-	-	-	1	-	1
SHREOfxKmCm	2	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	2
SHREOfxKmPas	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
SHREZOfxKm	3	-	2	1	-	-	-	-	-	-	-	3
SHROfxKmCmEto	1	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	1
SHREOfxKmCmEto	2	1	1	-	1	-	-	-	-	1	-	3
SHREOfxKmAmCmEto	1	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	1

Примечание: S – стрептомицин, H – изониазид, R – рифампицин, E – этамбутол, Z – пипразинамид, Km – канамицин, Am – амикацин, Eto – этионамид, Cm – капреомицин, Ofx – офлоксацин, Cs – циклосерин, PAS – аминосалициловая кислота; в скобках указаны препараты, к которым выявлена устойчивость отдельных штаммов

## Приложение 3

Профили MIRU-VNTR<sub>24</sub> штаммов *M. tuberculosis* Beijing, выделенных от больных впервые выявленным туберкулезом в шести регионах СЗФО (n=288)

№ пп	Штамм	Регион	Числовой профиль*	MLVA MtbC15-9	Характеристика (кластер, сублиния)	Отношение к ПТП
1	57	Вологодская обл.	244233352644425173353723	100-32	B0/W148	МЛУ
2	3135	Вологодская обл.	244233352644425173353723	100-32	B0/W148	П
3	4179	Вологодская обл.	244233352644425173353723	100-32	B0/W148	МЛУ
4	4321	Вологодская обл.	244233352644425173353723	100-32	B0/W148	МЛУ
5	3680	Республика Коми	244233352644425173353723	100-32	B0/W148	МЛУ
6	407	Республика Коми	244233352644425173353723	100-32	B0/W148	МЛУ
7	273	Республика Коми	244233352644425173353723	100-32	B0/W148	МЛУ
8	4850	Республика Коми	244233352644425173353723	100-32	B0/W148	МЛУ
9	2301	Республика Коми	244233352644425173353723	100-32	B0/W148	МЛУ
10	653	Республика Коми	244233352644425173353723	100-32	B0/W148	МЛУ
11	870	Республика Коми	244233352644425173353723	100-32	B0/W148	МЛУ
12	54	Республика Коми	244233352644425173353723	100-32	B0/W148	МЛУ
13	438	Республика Коми	244233352644425173353723	100-32	B0/W148	МЛУ
14	176	Республика Коми	244233352644425173353723	100-32	B0/W148	МЛУ
15	229	Республика Коми	244233352644425173353723	100-32	B0/W148	МЛУ
16	786	Республика Коми	244233352644425173353723	100-32	B0/W148	МЛУ
17	228	Республика Коми	244233352644425173353723	100-32	B0/W148	МЛУ
18	531	Республика Коми	244233352644425173353723	100-32	B0/W148	МЛУ
19	775	Республика Коми	244233352644425173353723	100-32	B0/W148	П
20	437	Республика Коми	244233352644425173353723	100-32	B0/W148	П
21	483	Республика Коми	244233352644425173353723	100-32	B0/W148	П
22	584	Республика Коми	244233352644425173353723	100-32	B0/W148	П
23	451	Республика Коми	244233352644425173353723	100-32	B0/W148	МЛУ
24	225	Республика Коми	244233352644425173353723	100-32	B0/W148	П
25	699	Республика Коми	244233352644425173353723	100-32	B0/W148	П

## Продолжение приложения 3

№ пп	Штамм	Регион	Числовой профиль*	MLVA MtbC15-9	Характеристика (кластер, сублиния)	Отношение к ПТП
26	35	Псковская обл.	244233352644425173353723	100-32	B0/W148	МЛУ
27	196	Псковская обл.	244233352644425173353723	100-32	B0/W148	МЛУ
28	247	Псковская обл.	244233352644425173353723	100-32	B0/W148	МЛУ
29	283	Псковская обл.	244233352644425173353723	100-32	B0/W148	П
30	1494	Псковская обл.	244233352644425173353723	100-32	B0/W148	МЛУ
31	6247	Псковская обл.	244233352644425173353723	100-32	B0/W148	МЛУ
32	62830	Калининградская обл.	244233352644425173353723	100-32	B0/W148	МЛУ
33	8216	Калининградская обл.	244233352644425173353723	100-32	B0/W148	МЛУ
34	8302	Калининградская обл.	244233352644425173353723	100-32	B0/W148	МЛУ
35	13982	Калининградская обл.	244233352644425173353723	100-32	B0/W148	МЛУ
36	51141	Калининградская обл.	244233352644425173353723	100-32	B0/W148	МЛУ
37	51333	Калининградская обл.	244233352644425173353723	100-32	B0/W148	МЛУ
38	51924	Калининградская обл.	244233352644425173353723	100-32	B0/W148	МЛУ
39	59634	Калининградская обл.	244233352644425173353723	100-32	B0/W148	МЛУ
40	60470	Калининградская обл.	244233352644425173353723	100-32	B0/W148	МЛУ
41	62768	Калининградская обл.	244233352644425173353723	100-32	B0/W148	МЛУ
42	63273	Калининградская обл.	244233352644425173353723	100-32	B0/W148	МЛУ
43	11656	Калининградская обл.	244233352644425173353723	100-32	B0/W148	МЛУ
44	11738	Калининградская обл.	244233352644425173353723	100-32	B0/W148	МЛУ
45	67	Мурманская обл.	244233352644425173353723	100-32	B0/W148	МЛУ
46	1002	Мурманская обл.	244233352644425173353723	100-32	B0/W148	МЛУ
47	4942	Мурманская обл.	244233352644425173353723	100-32	B0/W148	М
48	6665	Мурманская обл.	244233352644425173353723	100-32	B0/W148	МЛУ
49	7069	Мурманская обл.	244233352644425173353723	100-32	B0/W148	МЛУ
50	2885	Мурманская обл.	244233352644425173353723	100-32	B0/W148	МЛУ
51	19	Республика Карелия	244233352644425173353723	100-32	B0/W148	МЛУ
52	23	Республика Карелия	244233352644425173353723	100-32	B0/W148	МЛУ
53	509	Республика Карелия	244233352644425173353723	100-32	B0/W148	МЛУ
54	530	Республика Карелия	244233352644425173353723	100-32	B0/W148	П

## Продолжение приложения 3

№ пп	Штамм	Регион	Числовой профиль*	MLVA MtbC15-9	Характеристика (кластер, сублиния)	Отношение к ПТП
55	2849	Республика Карелия	244233352644425173353723	100-32	B0/W148	МЛУ
56	3123	Республика Карелия	244233352644425173353723	100-32	B0/W148	МЛУ
57	3325	Республика Карелия	244233352644425173353723	100-32	B0/W148	МЛУ
58	3984	Республика Карелия	244233352644425173353723	100-32	B0/W148	МЛУ
59	4766	Республика Карелия	244233352644425173353723	100-32	B0/W148	МЛУ
60	243	Республика Карелия	244233352644425173354723	10156-32	B0/W148	МЛУ
61	2169	Вологодская обл.	244233352644425173353823	1048-32	-	ЛЧ
62	59800	Калининградская обл.	244233352644425173353823	1048-32	-	ЛЧ
63	50106	Калининградская обл.	244233352644425173352723	10516-32	B0/W148	МЛУ
64	333	Республика Карелия	244233352644425143353723	10519-32	B0/W148	МЛУ
65	2802	Вологодская обл.	244233352644425143353623	10520-32	Central Asian/Russian	ЛЧ
66	124	Вологодская обл.	244233352644425153353623	1065-32	Central Asian/Russian	МЛУ
67	2605	Вологодская обл.	244233352644425153353623	1065-32	Central Asian/Russian	П
68	83	Республика Коми	244233352644425153353623	1065-32	Central Asian/Russian	МЛУ
69	178	Республика Коми	244233352644425153353623	1065-32	Central Asian/Russian	МЛУ
70	106	Республика Коми	244233352644425153353623	1065-32	Central Asian/Russian	МЛУ
71	449	Республика Коми	244233352644425153353623	1065-32	Central Asian/Russian	МЛУ
72	428	Республика Коми	244233352644425153353623	1065-32	Central Asian/Russian	МЛУ
73	1006	Республика Коми	244233352644425153353623	1065-32	Central Asian/Russian	МЛУ
74	387	Республика Коми	244233352644425153353623	1065-32	Central Asian/Russian	МЛУ
75	471	Республика Коми	244233352644425153353623	1065-32	Central Asian/Russian	М
76	424	Псковская обл.	244233352644425153353623	1065-32	Central Asian/Russian	МЛУ
77	706	Псковская обл.	244233352644425153353623	1065-32	Central Asian/Russian	МЛУ
78	845	Псковская обл.	244233352644425153353623	1065-32	Central Asian/Russian	МЛУ
79	2195	Псковская обл.	244233352644425153353623	1065-32	Central Asian/Russian	МЛУ
80	3714	Псковская обл.	244233352644425153353623	1065-32	Central Asian/Russian	МЛУ
81	3919	Псковская обл.	244233352644425153353623	1065-32	Central Asian/Russian	МЛУ
82	3516	Республика Карелия	244233352644425153353623	1065-32	Central Asian/Russian	МЛУ
83	258	Псковская обл.	244233352644425173353623	1066-32	-	П

## Продолжение приложения 3

№ пп	Штамм	Регион	Числовой профиль*	MLVA MtbC15-9	Характеристика (кластер, сублиния)	Отношение к ПТП
84	6820	Мурманская обл.	244233352644425173353623	1066-32	-	МЛУ
85	537	Вологодская обл.	244233352644425143353823	1068-32	Central Asian/Russian	ЛЧ
86	4787	Вологодская обл.	244233352644425143353823	1068-32	Central Asian/Russian	М
87	51818	Калининградская обл.	244233352644425143353823	1068-32	Central Asian/Russian	П
88	98	Республика Коми	244231342644425173353923	1071-32	Beijing древняя сублиния	МЛУ
89	1270	Псковская обл.	244231342644425173353923	1071-32	Beijing древняя сублиния	МЛУ
90	1733	Псковская обл.	244231342644425173353923	1071-32	Beijing древняя сублиния	МЛУ
91	2254	Псковская обл.	244231342644425173353923	1071-32	Beijing древняя сублиния	МЛУ
92	51015	Калининградская обл.	244231342644425173353923	1071-32	Beijing древняя сублиния	МЛУ
93	414	Республика Карелия	244231342644425173353923	1071-32	Beijing древняя сублиния	МЛУ
94	3091	Республика Карелия	244231342644425173353923	1071-32	Beijing древняя сублиния	МЛУ
95	3416	Республика Карелия	244231342644425173353923	1071-32	Beijing древняя сублиния	МЛУ
96	436	Республика Коми	244233352644425173353423	1073-32	-	МЛУ
97	2408	Псковская обл.	244233352644425163353723	1075-32	B0/W148	МЛУ
98	3611	Мурманская обл.	244233352644425163353723	1075-32	B0/W148	МЛУ
99	414	Республика Коми	244233352644425163353823	1076-32	Central Asian/Russian	М
100	27	Псковская обл.	244233352644425163353823	1076-32	Central Asian/Russian	П
101	3385	Псковская обл.	244233352644425163353823	1076-32	Central Asian/Russian	ЛЧ
102	52299	Калининградская обл.	244233352644425163353823	1076-32	Central Asian/Russian	МЛУ
103	20	Мурманская обл.	244233352644425163353823	1076-32	Central Asian/Russian	П
104	2722	Республика Коми	244233352644225173353723	1141-32	B0/W148	МЛУ
105	3852	Республика Карелия	244233352644425153353523	11427-32	Central Asian/Russian	ЛЧ
106	2320	Вологодская обл.	244233362644425153353723	11780-32	Central Asian/Russian	М
107	2913	Республика Карелия	244233352644225153353823	14938-32	Central Asian/Russian	МЛУ
108	52576	Калининградская обл.	244233342544425153353823	14939-32	Central Asian/Russian	ЛЧ
109	2492	Псковская обл.	244233352544425173353223	1497-32	B0/W148	МЛУ
110	1654	Вологодская обл.	244233352634425153343823	18075-32	Central Asian/Russian	МЛУ
111	62327	Калининградская обл.	244233352534425153353823	2224-32	Central Asian/Russian	ЛЧ
112	4484	Вологодская обл.	234233352644425173353723	3754-32	-	МЛУ

## Продолжение приложения 3

№ пп	Штамм	Регион	Числовой профиль*	MLVA MtbC15-9	Характеристика (кластер, сублиния)	Отношение к ПТП
113	1187	Республика Карелия	244233342644425173353623	3799-32	-	МЛУ
114	638	Псковская обл.	244233352544425173353623	3823-32	-	М
115	3406	Республика Карелия	244233352544425173353723	3828-32	B0/W148	МЛУ
116	926	Республика Коми	244233352644425173353323	3837-32	B0/W148	МЛУ
117	4219	Вологодская обл.	244233352644425173353523	3838-32	-	ЛЧ
118	318	Псковская обл.	244233352644425173353923	3839-32	-	М
119	420	Республика Коми	244233352544425153353823	407-32	Central Asian/Russian	ЛЧ
120	1024	Республика Коми	244233352544425153353823	407-32	Central Asian/Russian	ЛЧ
121	52679	Калининградская обл.	244233352634425163353823	4202-32	-	МЛУ
122	196	Псковская обл.	244233352644425163353623	4205-32	Central Asian/Russian	П
123	3307	Мурманская обл.	244233352744425153353823	4402-32	Central Asian/Russian	МЛУ
124	3188	Республика Карелия	254233352644425153353823	4404-32	Central Asian/Russian	МЛУ
125	2193	Вологодская обл.	244233352644425173343723	4737-32	B0/W148	МЛУ
126	920	Республика Коми	244233352644425173343723	4737-32	B0/W148	МЛУ
127	1205	Республика Коми	244233352644425173343723	4737-32	B0/W148	МЛУ
128	4031	Республика Коми	244233352644425173343723	4737-32	B0/W148	МЛУ
129	2298	Республика Карелия	244233352644425173343723	4737-32	B0/W148	МЛУ
130	3153	Республика Карелия	244233352644425193353823	5526-32	Central Asian/Russian	МЛУ
131	10735	Калининградская обл.	224233352644425163353823	5866-32	Central Asian/Russian	МЛУ
132	1031	Республика Коми	244243352544425153353823	770-32	Central Asian/Russian	ЛЧ
133	1148	Мурманская обл.	244243352544425153353823	770-32	Central Asian/Russian	ЛЧ
134	60004	Калининградская обл.	244233342644425153353823	801-32	Central Asian/Russian	П
135	62084	Калининградская обл.	244233342644425153353823	801-32	Central Asian/Russian	М
136	489	Республика Коми	244232352634425153353823	809-32	Central Asian/Russian	М
137	13987	Калининградская обл.	224233352644425173353723	893-32	B0/W148	МЛУ
138	29	Республика Коми	234233352644425153353823	9124-32	Central Asian/Russian	МЛУ
139	1702	Вологодская обл.	244233352644425153353923	9125-32	Central Asian/Russian	П
140	2999	Вологодская обл.	244233352644425153343823	9129-32	Central Asian/Russian	П
141	4580	Мурманская обл.	244233352844425153353823	9341-32	-	ЛЧ

## Продолжение приложения 3

№ пп	Штамм	Регион	Числовой профиль*	MLVA MtbC15-9	Характеристика (кластер, сублиния)	Отношение к ПТП
142	711	Республика Коми	242233352644425153363823	9356-32	Central Asian/Russian	ЛЧ
143	306	Республика Коми	242233352644425153363823	9356-32	Central Asian/Russian	ЛЧ
144	238	Республика Коми	242233352644425153353823	9357-32	Central Asian/Russian	ЛЧ
145	72	Республика Коми	242233352644425153353823	9357-32	Central Asian/Russian	ЛЧ
146	1019	Вологодская обл.	224233352644425153353823	9358-32	Central Asian/Russian	МЛУ
147	50476	Калининградская обл.	224233352644425153353823	9358-32	Central Asian/Russian	ЛЧ
148	781	Вологодская обл.	244233352644225153343822	9360-15	Central Asian/Russian	МЛУ
149	2044	Вологодская обл.	244233352644225153343823	9360-32	Central Asian/Russian	П
150	4798	Вологодская обл.	244233342644425173353723	9378-32	B0/W148	П
151	52974	Калининградская обл.	244233342644425173353723	9378-32	B0/W148	МЛУ
152	234	Псковская обл.	244233352544425173353923	9380-32	-	М
153	2702	Псковская обл.	244233352544425173353923	9380-32	-	М
154	694	Псковская обл.	244234352644425173353823	9391-32	-	ЛЧ
155	1953	Псковская обл.	244234352644425173353823	9391-32	-	ЛЧ
156	50509	Калининградская обл.	244234352644425173353823	9391-32	-	ЛЧ
157	50718	Калининградская обл.	244234352644425173353823	9391-32	-	ЛЧ
158	54087	Калининградская обл.	244234352644425173353823	9391-32	-	ЛЧ
159	5536	Мурманская обл.	244234352644425173353823	9391-32	-	ЛЧ
160	543	Мурманская обл.	244234352644425173353823	9391-32	-	ЛЧ
161	8800	Мурманская обл.	244234352644425173353823	9391-32	-	ЛЧ
162	477	Республика Карелия	244234352644425173353823	9391-32	-	ЛЧ
163	1610	Мурманская обл.	244243352544425153343823	9397-32	Central Asian/Russian	ЛЧ
164	203	Вологодская обл.	244233352644425153353823	94-32	Central Asian/Russian	МЛУ
165	374	Вологодская обл.	244233352644425153353823	94-32	Central Asian/Russian	МЛУ
166	546	Вологодская обл.	244233352644425153353823	94-32	Central Asian/Russian	ЛЧ
167	970	Вологодская обл.	244233352644425153353823	94-32	Central Asian/Russian	МЛУ
168	1033	Вологодская обл.	244233352644425153353823	94-32	Central Asian/Russian	ЛЧ
169	1290	Вологодская обл.	244233352644425153353823	94-32	Central Asian/Russian	МЛУ
170	1737	Вологодская обл.	244233352644425153353823	94-32	Central Asian/Russian	ЛЧ

## Продолжение приложения 3

№ пп	Штамм	Регион	Числовой профиль*	MLVA MtbC15-9	Характеристика (кластер, сублиния)	Отношение к ПТП
171	2194	Вологодская обл.	244233352644425153353823	94-32	Central Asian/Russian	ЛЧ
172	3219	Вологодская обл.	244233352644425153353823	94-32	Central Asian/Russian	МЛУ
173	3773	Вологодская обл.	244233352644425153353823	94-32	Central Asian/Russian	ЛЧ
174	3809	Вологодская обл.	244233352644425153353823	94-32	Central Asian/Russian	МЛУ
175	4139	Вологодская обл.	244233352644425153353823	94-32	Central Asian/Russian	МЛУ
176	4435	Вологодская обл.	244233352644425153353823	94-32	Central Asian/Russian	МЛУ
177	5015	Вологодская обл.	244233352644425153353823	94-32	Central Asian/Russian	МЛУ
178	1902	Вологодская обл.	244233352644425153353823	94-32	Central Asian/Russian	П
179	2620	Вологодская обл.	244233352644425153353823	94-32	Central Asian/Russian	МЛУ
180	2715	Вологодская обл.	244233352644425153353823	94-32	Central Asian/Russian	МЛУ
181	4640	Вологодская обл.	244233352644425153353823	94-32	Central Asian/Russian	МЛУ
182	187	Республика Коми	244233352644425153353823	94-32	Central Asian/Russian	МЛУ
183	336	Республика Коми	244233352644425153353823	94-32	Central Asian/Russian	П
184	1634	Республика Коми	244233352644425153353823	94-32	Central Asian/Russian	ЛЧ
185	518	Республика Коми	244233352644425153353823	94-32	Central Asian/Russian	ЛЧ
186	579	Республика Коми	244233352644425153353823	94-32	Central Asian/Russian	ЛЧ
187	376	Республика Коми	244233352644425153353823	94-32	Central Asian/Russian	ЛЧ
188	4141	Республика Коми	244233352644425153353823	94-32	Central Asian/Russian	ЛЧ
189	175	Республика Коми	244233352644425153353823	94-32	Central Asian/Russian	ЛЧ
190	214	Республика Коми	244233352644425153353823	94-32	Central Asian/Russian	ЛЧ
191	299	Республика Коми	244233352644425153353823	94-32	Central Asian/Russian	МЛУ
192	484	Республика Коми	244233352644425153353823	94-32	Central Asian/Russian	МЛУ
193	1025	Республика Коми	244233352644425153353823	94-32	Central Asian/Russian	М
194	889	Республика Коми	244233352644425153353823	94-32	Central Asian/Russian	ЛЧ
195	409	Республика Коми	244233352644425153353823	94-32	Central Asian/Russian	ЛЧ
196	1201	Республика Коми	244233352644425153353823	94-32	Central Asian/Russian	ЛЧ
197	756	Республика Коми	244233352644425153353823	94-32	Central Asian/Russian	ЛЧ
198	627	Республика Коми	244233352644425153353823	94-32	Central Asian/Russian	ЛЧ
199	232	Псковская обл.	244233352644425153353823	94-32	Central Asian/Russian	П



## Продолжение приложения 3

№ пп	Штамм	Регион	Числовой профиль*	MLVA MtbC15-9	Характеристика (кластер, сублиния)	Отношение к ПТП
200	352	Псковская обл.	244233352644425153353823	94-32	Central Asian/Russian	МЛУ
201	437	Псковская обл.	244233352644425153353823	94-32	Central Asian/Russian	МЛУ
202	674	Псковская обл.	244233352644425153353823	94-32	Central Asian/Russian	ЛЧ
203	483	Псковская обл.	244233352644425153353823	94-32	Central Asian/Russian	ЛЧ
204	703	Псковская обл.	244233352644425153353823	94-32	Central Asian/Russian	П
205	3847	Псковская обл.	244233352644425153353823	94-32	Central Asian/Russian	ЛЧ
206	3892	Псковская обл.	244233352644425153353823	94-32	Central Asian/Russian	ЛЧ
207	4124	Псковская обл.	244233352644425153353823	94-32	Central Asian/Russian	ЛЧ
208	4272	Псковская обл.	244233352644425153353823	94-32	Central Asian/Russian	МЛУ
209	50163	Калининградская обл.	244233352644425153353823	94-32	Central Asian/Russian	МЛУ
210	51326	Калининградская обл.	244233352644425153353823	94-32	Central Asian/Russian	МЛУ
211	52713	Калининградская обл.	244233352644425153353823	94-32	Central Asian/Russian	М
212	54043	Калининградская обл.	244233352644425153353823	94-32	Central Asian/Russian	МЛУ
213	58303	Калининградская обл.	244233352644425153353823	94-32	Central Asian/Russian	МЛУ
214	63035	Калининградская обл.	244233352644425153353823	94-32	Central Asian/Russian	МЛУ
215	7720	Мурманская обл.	244233352644425153353823	94-32	Central Asian/Russian	П
216	546	Мурманская обл.	244233352644425153353823	94-32	Central Asian/Russian	ЛЧ
217	2115	Мурманская обл.	244233352644425153353823	94-32	Central Asian/Russian	МЛУ
218	2321	Мурманская обл.	244233352644425153353823	94-32	Central Asian/Russian	МЛУ
219	2332	Мурманская обл.	244233352644425153353823	94-32	Central Asian/Russian	ЛЧ
220	3989	Мурманская обл.	244233352644425153353823	94-32	Central Asian/Russian	ЛЧ
221	4147	Мурманская обл.	244233352644425153353823	94-32	Central Asian/Russian	ЛЧ
222	4940	Мурманская обл.	244233352644425153353823	94-32	Central Asian/Russian	МЛУ
223	5286	Мурманская обл.	244233352644425153353823	94-32	Central Asian/Russian	ЛЧ
224	5579	Мурманская обл.	244233352644425153353823	94-32	Central Asian/Russian	ЛЧ
225	5872	Мурманская обл.	244233352644425153353823	94-32	Central Asian/Russian	ЛЧ
226	6035	Мурманская обл.	244233352644425153353823	94-32	Central Asian/Russian	МЛУ
227	8105	Мурманская обл.	244233352644425153353823	94-32	Central Asian/Russian	МЛУ
228	2399	Мурманская обл.	244233352644425153353823	94-32	Central Asian/Russian	ЛЧ

## Продолжение приложения 3

№ пп	Штамм	Регион	Числовой профиль*	MLVA MtbC15-9	Характеристика (кластер, сублиния)	Отношение к ПТП
229	7060	Мурманская обл.	244233352644425153353823	94-32	Central Asian/Russian	ЛЧ
230	79	Республика Карелия	244233352644425153353823	94-32	Central Asian/Russian	ЛЧ
231	129	Республика Карелия	244233352644425153353823	94-32	Central Asian/Russian	ЛЧ
232	223	Республика Карелия	244233352644425153353823	94-32	Central Asian/Russian	МЛУ
233	422	Республика Карелия	244233352644425153353823	94-32	Central Asian/Russian	МЛУ
234	808	Республика Карелия	244233352644425153353823	94-32	Central Asian/Russian	М
235	860	Республика Карелия	244233352644425153353823	94-32	Central Asian/Russian	МЛУ
236	2724	Республика Карелия	244233352644425153353823	94-32	Central Asian/Russian	МЛУ
237	4098	Республика Карелия	244233352644425153353823	94-32	Central Asian/Russian	МЛУ
238	4516	Республика Карелия	244233352644425153353823	94-32	Central Asian/Russian	М
239	575	Вологодская обл.	244233352634425153353823	95-32	Central Asian/Russian	МЛУ
240	800	Вологодская обл.	244233352634425153353823	95-32	Central Asian/Russian	ЛЧ
241	1485	Вологодская обл.	244233352634425153353823	95-32	Central Asian/Russian	МЛУ
242	2026	Вологодская обл.	244233352634425153353823	95-32	Central Asian/Russian	МЛУ
243	2134	Вологодская обл.	244233352634425153353823	95-32	Central Asian/Russian	МЛУ
244	2283	Вологодская обл.	244233352634425153353823	95-32	Central Asian/Russian	МЛУ
245	2879	Вологодская обл.	244233352634425153353823	95-32	Central Asian/Russian	МЛУ
246	4119	Вологодская обл.	244233352634425153353823	95-32	Central Asian/Russian	П
247	278	Республика Коми	244233352634425153353823	95-32	Central Asian/Russian	М
248	328	Псковская обл.	244233352634425153353823	95-32	Central Asian/Russian	ЛЧ
249	50268	Калининградская обл.	244233352634425153353823	95-32	Central Asian/Russian	М
250	58577	Калининградская обл.	244233352634425153353823	95-32	Central Asian/Russian	ЛЧ
251	3023	Республика Карелия	244233352633425153353823	95-34	Central Asian/Russian	МЛУ
252	432	Республика Коми	244233362644425153353823	96-32	Central Asian/Russian	МЛУ
253	344	Псковская обл.	244233362644425153353823	96-32	Central Asian/Russian	ЛЧ
254	1974	Мурманская обл.	244233362644425153353823	96-32	Central Asian/Russian	МЛУ
255	4418	Вологодская обл.	244233352644425153353723	99-32	Central Asian/Russian	ЛЧ
256	213	Республика Коми	244233352644425153353723	99-32	Central Asian/Russian	М
257	177	Республика Коми	244233352644425153353723	99-32	Central Asian/Russian	ЛЧ

## Продолжение приложения 3

258	5194	Республика Коми	244233352644425153353723	99-32	Central Asian/Russian	М
259	233	Псковская обл.	244233352644425153353723	99-32	Central Asian/Russian	П
260	58704	Калининградская обл.	244233352644425153353723	99-32	Central Asian/Russian	П
261	13089	Калининградская обл.	244233352642425153353723	99-332	Central Asian/Russian	М
262	58072	Калининградская обл.	244233352642425153353723	99-332	Central Asian/Russian	ЛЧ
263	6253	Мурманская обл.	244233352642425153353723	99-332	Central Asian/Russian	ЛЧ
264	6309	Мурманская обл.	244233352642425153353723	99-332	Central Asian/Russian	ЛЧ
265	2690	Вологодская обл.	224233342644423153343632	?-114	Beijing древняя сублия	ЛЧ
266	3663	Республика Карелия	244233352644425153243723	?-25	Central Asian/Russian	ЛЧ
267	1221	Вологодская обл.	224233352644425153343823	?-32	Central Asian/Russian	ЛЧ
268	3459	Вологодская обл.	224233352644425153343823	?-32	Central Asian/Russian	ЛЧ
269	433	Республика Коми	234233352644425153363623	?-32	Central Asian/Russian	МЛУ
270	22	Республика Коми	234233352634425153353723	?-32	Central Asian/Russian	М
271	574	Республика Коми	242233352544425153353823	?-32	Central Asian/Russian	М
272	1202	Республика Коми	244243352634425153353823	?-32	Central Asian/Russian	М
273	1680	Республика Коми	244223332844425153353823	?-32	Central Asian/Russian	ЛЧ
274	57	Псковская обл.	244243352544425153343723	?-32	Central Asian/Russian	ЛЧ
275	405	Псковская обл.	224243352244425163343523	?-32	Central Asian/Russian	М
276	490	Псковская обл.	244233362544425153353823	?-32	Central Asian/Russian	ЛЧ
277	574	Псковская обл.	244233342634425153353823	?-32	Central Asian/Russian	П
278	640	Псковская обл.	245233352644425163353823	?-32	Central Asian/Russian	ЛЧ
279	1508	Псковская обл.	245233352644425173353623	?-32	-	П
280	54130	Калининградская обл.	244231352644425173354623	?-32	-	ЛЧ
281	13093	Калининградская обл.	244231322614425173353633	?-32	Beijing древняя сублия	ЛЧ
282	52676	Калининградская обл.	244243352544425173353723	?-32	В0/W148	МЛУ
283	62499	Калининградская обл.	244233352744425143353823	?-32	Central Asian/Russian	М
284	7446	Мурманская обл.	244233352624425153344823	?-32	Central Asian/Russian	МЛУ

## Окончание приложения 3

285	665	Республика Карелия	244233352514425153353823	?-32	Central Asian/Russian	МЛУ
286	3297	Республика Карелия	244233312644425153353623	?-32	Central Asian/Russian	МЛУ
287	3145	Псковская обл.	244233352622425153353623	?-332	Central Asian/Russian	ЛЧ
288	64076	Калининградская обл.	244233352742425153353723	?-332	Central Asian/Russian	ЛЧ

Примечание: \* числовой профиль штамма – число повторов в каждом из 24 локусов MIRU-VNTR в следующем порядке: 12 локусов (1-12) MIRU, ETR-A, ETR-B, ETR-C, QUB-11b, QUB-26, QUB-4156, Mtub04, Mtub21, Mtub29, Mtub30, Mtub34, Mtub39; ПТП – противотуберкулезные препараты; М – монорезистентность, П – полирезистентность

## Последовательности олигонуклеотидных праймеров и зондов

Генотип, ген, локус	Праймер, зонд	Нуклеотидная последовательность 5' – 3'	Условия и оценка результатов ПЦР
Beijing <i>dnaA-dnaN::IS6110</i>	BGF	agatcagagagtctccggactca	ПЦР смесь (конечный объем 30 мкл): 1 U Taq ДНК полимеразы для ПЦР-РВ, 1,5 mM MgCl <sub>2</sub> , 200 μM каждого из дНТФ, по 5 пмоль праймеров и по 2 пмоль зондов. Режим ПЦР: 95 °С, 10 мин; далее 40 циклов 94 °С, 15 с; 60 °С, 40 с. Считывание сигнала флуоресценции – при 60° С. Оценка результатов: по каналу R6G – регистрация накопления продукта амплификации фрагмента ДНК, специфического для генотипа Beijing, по каналу FAM – детекция <i>M. tuberculosis</i> complex
	BGR	cgccgggactgtatgagtct	
	MTF	ccatcgacctactacgaccacat	
	MTR	cggctgatgtgctccttgagt	
	BGP	R6G-tgtgcacagcgacactcacagcca-BHQ2	
	MTP	FAM-cagccgccgagctgc-RTQ-1	
Кластер B0/W148 Beijing <i>Rv2664- Rv2665::IS6110</i>	BZF	cgatcactattgtgtttgccg	ПЦР смесь (конечный объем 25 мкл): 1 U полимеразы Taq, 1,5 mM MgCl <sub>2</sub> , 200 μM каждого из дНТФ, по 15 пмоль каждого праймера. Режим ПЦР: 95°С, 2 мин, 40 циклов 95°С, 20 с, 63°С, 30 с, 72°С, 50 с и элонгация 72°С, 50 с. Продукты ПЦР разделяют электрофорезом в 1,3% агарозном геле. Оценка результатов: по каналу FAM – регистрируется накопление продукта амплификации фрагмента ДНК, специфического для генотипа Beijing B0/W148, по каналу HEX – фрагмента ДНК, специфического для любого другого генотипа <i>M. tuberculosis</i>
	BZRi	aacgccagagaccagccg	
	BZR	tatcacgtcctggccagga	
	PBZ	FAM-ccggtgagtccggagactctctgatc-RTQ1	
	nPBZ	HEX-ggcgatgggcttgattcctctga-BHQ2	