

Оригинальная статья

<https://doi.org/10.36233/0372-9311-449>

Генетическая структура и лекарственная устойчивость популяции *Mycobacterium tuberculosis* в Кемеровской области — Кузбассе

Лебедева И.Б.^{1✉}, Жданова С.Н.², Кондратов И.Г.², Сибиль К.В.³,
Огарков О.Б.², Брусина Е.Б.¹

¹Кемеровский государственный медицинский университет, Кемерово, Россия;

²Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека, Иркутск, Россия;

³Кузбасский клинический фтизиопульмонологический медицинский центр им. И.Ф. Копыловой, Кемерово, Россия

Аннотация

Введение. В Кемеровской области — Кузбассе сохраняется сложная эпидемиологическая ситуация по туберкулёзу (ТБ) с уровнями заболеваемости, превышающими среднероссийский уровень. Эпидемиологический процесс ТБ в значительной степени определяется циркулирующими вариантами *Mycobacterium tuberculosis*. Скрининг эпидемиологически значимых вариантов возбудителя на территориях с высоким бременем ТБ лежит в основе эпидемиологической диагностики и необходим для разработки эффективных мер профилактики, однако популяционная структура *M. tuberculosis* в Кемеровской области — Кузбассе мало изучена.

Цель исследования: изучить генетический полиморфизм и фенотипическую устойчивость к противотуберкулезным препаратам штаммов *M. tuberculosis* в Кемеровской области — Кузбассе.

Материалы и методы. Проведено MIRU-VNTR-генотипирование 163 изолятов *M. tuberculosis*, выделенных от больных ТБ жителей Кемеровской области в марте–октябре 2022 г. Культивирование *M. tuberculosis*, определение лекарственной чувствительности, выделение геномной ДНК осуществляли стандартными методами. Генотипическую идентификацию проводили с помощью 24 локусного MIRU-VNTR-типирования. Параллельно проведено экспресс-генотипирование: выявление изолятов генотипа Beijing (по RD105/207) и non-Beijing; субтипирование Beijing в полимеразной цепной реакции в реальном времени (ПЦР-РВ) на выявление Central Asian Russian и B0/W148; идентификацию группы non-Beijing — ПЦР-РВ-тестами на LAM, S, Ural.

Результаты. Установлено доминирование изолятов группы Beijing (67,5%) как среди впервые выявленных (64,4%), так и среди ранее леченных больных ТБ (88,5%). MIRU-VNTR-типирование обнаружило 75 профилей, из них 94-32 (35,3%) и 100-32 (15,7%) были самыми многочисленными и принадлежали генотипу Beijing. В целом 39,9 и 20,9% изолятов отнесено к эпидемиологическим кластерам Beijing Central Asian Russian и B0/W148 соответственно, которые значимо отличались по уровням множественной лекарственной устойчивости (МЛУ) — 50,8 и 85,3% соответственно ($p = 0,005$). Вторыми по распространенности были штаммы генетического семейства евро-американской линии (31,9%): LAM (6,7%), Ural (7,4%), Haarlem (4,9%) и L4-unclassified (12,9%). МЛУ среди этих минорных генотипов была значительно ниже, чем среди Beijing, и составляла 11,5% ($p < 0,001$). Штаммы от больных ТБ с ВИЧ-инфекцией (56,4% общей выборки) чаще имели МЛУ-профиль (54,8%), чем в случаях ТБ без ВИЧ-инфекции (35,2%; $p = 0,005$), что может быть связано с более высокими уровнями Beijing в группе больных ТБ с ВИЧ-инфекцией (75,0% против 57,7%; $p = 0,026$). Показана полная сопоставимость разработанных нами тестов однонуклеотидного полиморфизма для выявления основных генотипов и эпидемиологически значимых субтипов Beijing, позволивших охарактеризовать 75,5% выборки экспресс-методом.

Заключение. Молекулярно-генетический скрининг в Кемеровской области выявил гетерогенность популяции *M. tuberculosis*, в которой доминировали штаммы генотипа Beijing, по частоте субтипов, сравнимой с другими территориями Сибирского федерального округа.

Ключевые слова: *Mycobacterium tuberculosis*, молекулярная эпидемиология, генотипы, лекарственная устойчивость

Этическое утверждение. Исследование проводилось при добровольном информированном согласии пациентов. Протокол исследования одобрен Этическим комитетом Кемеровского государственного медицинского университета (протокол № 255/к от 11.11.2020) и Этическим комитетом Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека (протокол № 4 от 12.04.2023).

Источник финансирования. Исследование выполнено при финансовой поддержке гранта Российского научного фонда (проект № 23-15-00280).

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Для цитирования: Лебедева И.Б., Жданова С.Н., Кондратов И.Г., Сибиль К.В., Огарков О.Б., Брусина Е.Б. Генетическая структура и лекарственная устойчивость популяции *Mycobacterium tuberculosis* в Кемеровской области — Кузбассе. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2023;100(6):428–441.
DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-449>
EDN: <https://www.elibrary.ru/uwbzwm>

Original Study Article

<https://doi.org/10.36233/0372-9311-449>

Genetic structure and drug resistance of *Mycobacterium tuberculosis* strains in the Kemerovo Region — Kuzbass

Irina B. Lebedeva^{1✉}, Svetlana N. Zhdanova², Ilya G. Kondratov²,
Kirill V. Sybil³, Oleg B. Ogarkov², Elena B. Brusina¹

¹Kemerovo State Medical University, Kemerovo, Russia;

²Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, Irkutsk, Russia;

³Kuzbass Clinical Phthisiopulmonological Medical Center named after I.F. Kopylova, Kemerovo, Russia

Abstract

Background. Kemerovo Region has a high burden of tuberculosis (TB) with incidence rates twice the national average. The circulating variants of *Mycobacterium tuberculosis* significantly influence the TB epidemic process. Screening of epidemically significant variants of the pathogen in areas with a high burden of TB underlies epidemiological diagnosis and is necessary for the development of effective prevention measures. However, the population structure of *M. tuberculosis* in the Kemerovo Region — Kuzbass is poorly understood.

Aims: to study genetic heterogeneity and phenotypic resistance to anti-tuberculosis drugs of *M. tuberculosis* strains in the Kemerovo Region.

Materials and methods. The MIRU-VNTR genotyping of 163 *M. tuberculosis* strains isolated from TB patients in the Kemerovo Region in March–October 2022 was carried out. Cultivation of *M. tuberculosis*, drug susceptibility testing, and isolation of genomic DNA were carried out by standard methods. Genotypic identification was performed using MIRU-VNTR (24 loci) typing. In parallel, express genotyping was carried out: identification of isolates of the Beijing genotype (by RD105/207) and non-Beijing; subtyping Beijing using real-time PCR tests for detection of Central Asian Russian and B0/W148; identification of the non-Beijing group by real-time PCR RT tests for LAM, S, Ural.

Results. The isolates of the Beijing genotype (67.5%) were found to dominate both among newly diagnosed (64.4%) and previously treated patients (88.5%). MIRU-VNTR typing revealed 75 profiles, of which 94-32 (35.3%) and 100-32 (15.7%) were the most abundant and belonged to the Beijing genotype. Overall, 39.9% and 20.9% of isolates, respectively, were assigned to the Beijing Central Asian Russian and B0/W148 epidemic clusters, which differed significantly in MDR levels (50.8% and 85.3%, respectively; $p = 0.005$). The second most common were strains of the genetic family of the Euro-American lineage (L4) (31.9%): LAM (6.7%) Ural (7.4%) Haarlem (4.9%) and L4-unclassified (12.9%), MDR among of these minor genotypes was significantly lower than among Beijing genotype strains, and amounted to 11.5% ($p < 0.001$). Strains from HIV-TB patients (56.4% of the total sample) carried an MDR profile more often (54.8%) compared to TB cases without HIV infection (35.2%) ($p = 0.005$), which may be due to higher proportion of Beijing genotype strains in the HIV-TB group (75.0% vs. 57.7%; $p = 0.026$). Complete comparability of the SNP analysis (in-house tests) to identify the main genotypes and epidemically significant Beijing subtypes was shown, which made it possible to characterize 75.5% of the sample by the express method.

Conclusions. The molecular genetic screening carried out in the Kemerovo Region revealed the heterogeneity of the *M. tuberculosis* population, which was dominated by strains of the Beijing genotype, with the frequency of subtypes comparable with other territories of the Siberian Federal District.

Keywords: *Mycobacterium tuberculosis*, molecular epidemiology, genotypes, drug resistance

Ethics approval. The study was conducted with the informed consent of the patients. The research protocol was approved by the Ethics Committee of the Kemerovo State Medical University (protocol No. 255/к, November 11, 2020) and by the Ethics Committee of the Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems (protocol No. 4, April 12, 2023).

Funding source. The study was carried out with financial support from a grant from the Russian Science Foundation (project No. 23-15-00280).

Conflict of interest. The authors declare no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

For citation: Lebedeva I.B., Zhdanova S.N., Kondratov I.G., Sybil K.V., Ogarkov O.B., Brusina E.B. Genetic structure and drug resistance of *Mycobacterium tuberculosis* strains in the Kemerovo Region — Kuzbass. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology*. 2023;100(6):428–441.
DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-449>
EDN: <https://www.elibrary.ru/uwbzwm>

Введение

Несмотря на то что заболеваемость туберкулезом (ТБ) на территории Кемеровской области — Кузбасса, как и в целом по России, за последние годы снизилась [1], Кузбасс сохраняет позиции региона с высоким бременем этой инфекции [2]. В 2021 г. заболеваемость ТБ составила 70,3 на 100 тыс. населения, что более чем в 2 раза выше среднероссийского уровня (31,1 на 100 тыс. населения).

Среди причин сохранения неблагоприятной эпидемиологической обстановки по ТБ отмечают рост числа случаев ТБ с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ) и распространение сочетанной инфекции ВИЧ и ТБ. Кемеровская область по уровням МЛУ-ТБ и ВИЧ-ТБ входит в группу лидеров не только в Сибирском федеральном округе, но и в России [2]. Распространение МЛУ-ТБ в России связывают с широкой циркуляцией штаммов *Mycobacterium tuberculosis* (МБТ) генотипа Beijing, его основных субтипов — Beijing Central Asian Russian (Центральноазиатский российский) и Beijing B0/W148 [3, 4]. В азиатских регионах России

доля генотипа Beijing варьирует от 45 до 70% [5–9]. По Кемеровской области системная информация о популяционной структуре возбудителя ТБ практически отсутствует, поскольку ранее проводимые в Западной Сибири скрининговые исследования МБТ включали лишь небольшое количество штаммов из этого региона [9, 10].

Цель исследования: изучить генетический полиморфизм и фенотипическую устойчивость к противотуберкулезным препаратам (ПТП) штаммов МБТ в Кемеровской области — Кузбассе.

Материалы и методы

Дизайн исследования

Выполнено MIRU-VNTR-генотипирование МБТ, схема которого представлена на **рис. 1**. Объект исследования — клинические культуры МБТ, полученные от больных ТБ, проживающих в Кемеровской области — Кузбассе и госпитализированных в Кузбасский клинический фтизиопульмонологический медицинский центр. Исследуемая кол-

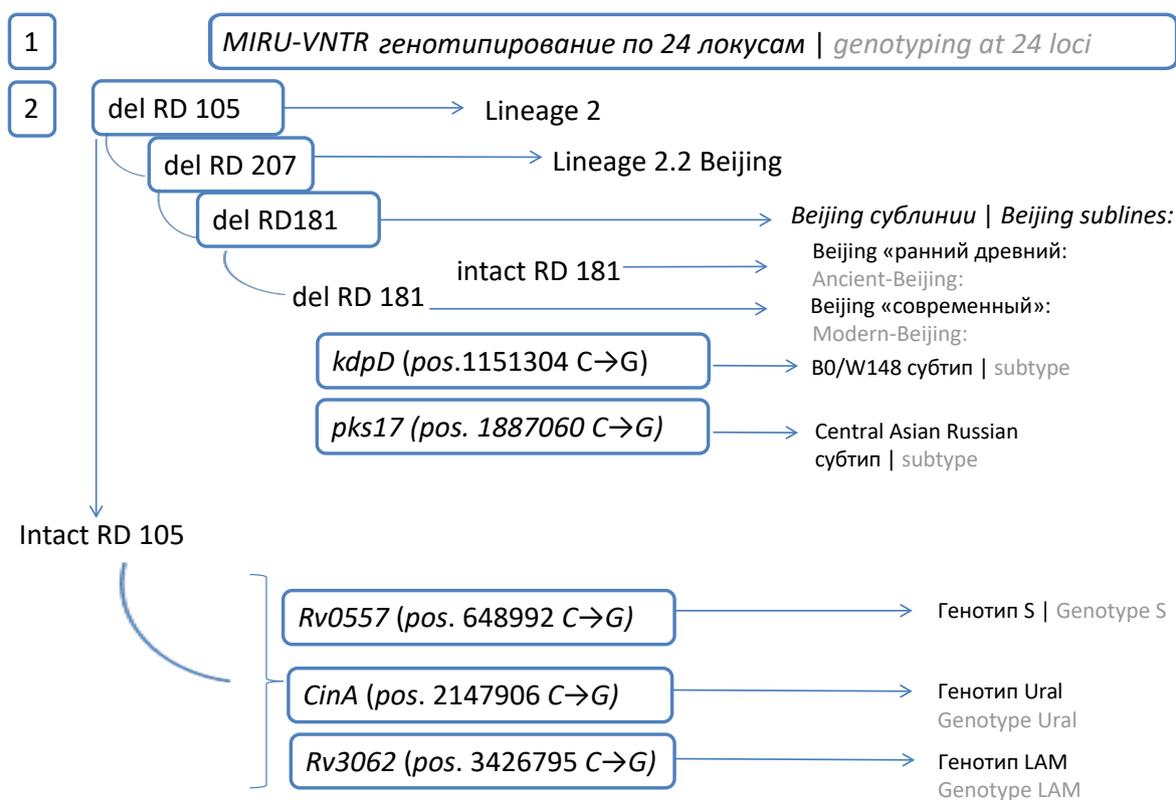


Рис. 1. Схема генотипирования МБТ.

Fig. 1. *M. tuberculosis* genotyping scheme.

лекция включала сплошную выборку образцов (по одному от пациента) клинических культур МБТ со среды Левенштейна–Йенсена, собранных в марте–октябре 2022 г.

Определение лекарственной чувствительности изолятов МБТ к ПТП проводили методом абсолютных концентраций на плотной питательной среде Левенштейна–Йенсена (в концентрациях для стрептомицина — 10 мкг/мл; изониазида — 1 мкг/мл; рифампицина — 40 мкг/мл; этамбутола — 2 мкг/мл; офлоксацина — 2 мкг/мл; канамицина — 30 мкг/мл; капреомицина — 30 мкг/мл; протионамида — 30 мкг/мл) и модифицированным методом пропорций на жидкой питательной среде Мидделбрука 7Н9 с применением бактериологического анализатора с автоматизированной детекцией роста «Bactec MGIT 960» («Becton Dickinson») (в концентрациях для стрептомицина — 1,0 мкг/мл; изониазида — 0,1 мкг/мл; рифампицина — 0,5 мкг/мл; этамбутола — 5,0 мкг/мл; пиразинамида — 100 мкг/мл; амикацина — 1,0 мкг/мл; капреомицина — 2,5 мкг/мл; бедаквилина — 1,0 мкг/мл; протионамида — 2,5 мкг/мл; левофлоксацина — 1 мкг/мл; моксифлоксацина — 0,25 и 1 мкг/мл; линезолида — 1,0 мкг/мл) согласно Приказу МЗ РФ № 951 от 29.12.2014 и Клиническим рекомендациям «Туберкулез у взрослых, 2022».

Экстракцию ДНК штаммов МБТ проводили из инактивированных кипячением культур МБТ. Перед выделением образцы центрифугировали, ДНК выделяли из осадка набором ДНК-сорб В («Интерлабсервис»). Генотипирование осуществляли по 24 локусам MIRU-VNTR (Mycobacterial Interspersed Repetitive Units — Variable Number of Tandem Repeats)¹. Идентификацию и классификацию по MLVA MtbC 15-9 полученных по MIRU-VNTR-24-профилей проводили с помощью онлайн-инструментов MIRU-VNTRplus².

Последовательность тестов включала делеционный анализ по RD в реакциях полимеразной цепной реакции с электрофоретической детекцией и анализ однонуклеотидных полиморфизмов (SNP) в ПЦР в реальном времени (ПЦР-РВ) (рис. 1): RD 105 и RD 207 с на выявление Линии 2, Линии 2.2 (Beijing) и группы non-Beijing согласно Reed [11]; дифференциацию генотипа Beijing на современную и раннедревнюю сублинии путём определения делеции RD181 согласно M.V. Reed [11]; осуществление двух ПЦР-РВ для всех представителей Beijing на выявление специфической динуклеотидной делеции в гене *kdpD*³ и специфического SNP в гене

pks17 [12] для идентификации российского эпидемического субтипа Beijing B0/W148 и Beijing Central Asian Russian субтипа; выполнение трех ПЦР-РВ для всей группы non-Beijing штаммов с целью установления принадлежности к генотипам евро-американской линии (для генотипа S — в *Rv0557* [13, 14]; генотипа LAM в — *Rv3062* [15]; Ural — в гене *CinA* [13]). Праймеры и зонды представлены в табл. 1.

Условия для проведения ПЦР: в течение 45 циклов с реактивами AmpliTaq Gold 360 Master Mix («Applied Biosystems») в присутствии 1× раствора энансера из того же набора на амплификаторе «CFX-96 Touch» («BioRad»). Режимы ПЦР-РВ: 95°C — 10 мин, активация полимеразы; 95°C — 15 с; отжиг 60–64°C (в зависимости от теста) — 10 с; 72°C — 20 с. При отсутствии маркеров, использованных в SNP-анализе, штаммы считали как «Beijing другие» и «non-Beijing другие». Для сопоставления результатов типирования (MIRU-VNTR-24 и SNP-анализ) профили соотносили по базам данных генотипов Beijing [16], LAM [17], Ural [18], S [19], Lineage 4 [20].

Критерии соответствия

Критериями включения в коллекцию штаммов были деперсонализированные данные о больных ТБ: проживание в Кемеровской области, лечение в противотуберкулезных диспансерах, возраст старше 18 лет.

Критерии исключения: возраст менее 18 лет, отсутствие бактериовыделения.

Этическая экспертиза

Исследование одобрено Этическим комитетом Кемеровского государственного медицинского университета (протокол № 255/к от 11.11.2020) и Этическим комитетом Научного центра здоровья семьи и репродукции человека (протокол № 4 от 12.04.2023). Вся информация об образцах МБТ, использованных в этом ретроспективном исследовании, исключала личную информацию о пациентах.

Статистический анализ

Статистическую обработку данных проводили в редакторе электронных таблиц «MS Excel 14.0» и в программе «GraphPad Prism 7». После проведения теста на нормальность с помощью теста Шапиро–Уилка количественные показатели представляли в виде медианы (Me) и интерквартильного диапазона [IQR]. Номинальные данные описывали с указанием абсолютных значений и процентных долей. Критерий χ^2 был использован для обнаружения значимых

¹ URL: <http://www.miru-vntrplus.org/MIRU/miruinfo.faces;jsessionid=89112F274226E781C7B0B0D9118FDD70>

² URL: <http://www.miru-vntrplus.org>

³ Eurasian Patent № 032489. Oligonucleotide primers, fluorescent DNA probes and a method for detecting *Mycobacterium tuberculosis* clonal complex 2 — W148 of the Beijing genotype

Таблица 1. Структуры праймеров и зондов, разработанные для индикации субтипов генотипа Beijing и генотипов евро-американской линии (LAM, S, Ural)**Table 1.** Primers and probes designed to identify Beijing genotype subtypes and Euro-American line genotypes (LAM, S, Ural)

Генотип, субтип (ген), позиция Genotype, subtype (gene) position	Праймеры Primers	ДНК-зонды DNA-probes	Температура отжига, °C Annealing temperature, °C	Источник структуры праймеров и зондов Source of primer and probe sequences
Beijing, B0/W148 (<i>kdpD</i>) 1151304	F 5'-GGCGGCACGATTTTCG GCTAC-3' R 5'-TCGTCGTCGAATCACCAAGACGA-3'	5'-FAM-GGCGGGCTCA[LNA-C]AG[LNA-T]GGTGATC-3'-RTQ1) 5'-R6G-GGCGGG CTCA[LNA-G]TGGTGATCG[LNA-A]T-3'-BHQ2	64	Eurasian Patent N 032489
Beijing, Central Asian Russian (<i>pkS17</i>) 1887060	F 5'-AGGTTCGATGGGGCCTGGAATT-3', R 5'-GAAAACAACACAAACGCTGACAC-3'	5'-FAM-ATGAGCTCAC(G-LNA)CGGC(A-LNA)CCTG-3'-RTQ1; 5'-R6G-ATGAGCTCAC(C-LNA)CGGC(A-LNA)CCTG-3'-BHQ2)	62	[23]
S (<i>Rv0557</i>) 648992	F 5'-GCATTCCGATGACAGCAGC R 5'- GATTCCATTGTCGCTGTGGA	5'-FAM-GGTTCCGCCACTTGCATCG (G-LNA)CT -BHQ1; 5'-R6G-GGTTCCGCCACTTGCATCG (C-LNA)CT -BHQ1	60	Настоящее исследование This study
Ural (<i>CinA</i>) 2147906	F 5'-GACCTGATCGTCACCAGCG R 5'-CGTCCAGCACCAGCTCGC	5'-FAM-GACCGCCGACGATATGA [T-LNA]CG-BHQ1; 5'-R6G-GACCGCCGACGATATGA [C-LNA]CG-BHQ1	62	Настоящее исследование This study
LAM (<i>Rv3062</i>) 3426795	F 5'-TGGTGCTCGCGGTGGAATGG R 5'-CATCACGAATCCACCGGTAG	5'-FAM-CGCGGCAAGCTCTC [C-LNA]AATAT- BHQ1; 5'-R6G -CGCGGCAAGCTCTC [G-LNA]AATAT- BHQ1	62	Настоящее исследование This study

различий между двумя группами. Скорректированные поправкой Йейтса значения χ^2 и p были рассчитаны с 95% доверительным интервалом. Различия считали статистически значимыми при $p \leq 0,05$.

Результаты

Участники исследования

В исследование были включены 163 клинических изолята, взятых от больных (126 мужчин и 47 женщин) ТБ, преимущественно впервые выявленных (83,9%). От пациентов с ВИЧ-инфекцией получены 84 (52,8%) образца. Клиническими формами ТБ были инфильтративный (38,5%), диссеминированный (41,6%), фиброзно-кавернозный (5,0%), казеозная пневмония (6,8%), туберкулёмы (4,3%) лёгких, 4 (2,5%) случая внелёгочных форм ТБ. Основная клиническая информация о пациентах, от которых получены исследуемые изоляты, представлена в **табл. 2**.

Для определения генотипической структуры популяции МБТ использовали комбинацию молекулярных методов развёрнутой схемы генотипирования и экспресс-методы SNP-анализа — выявление маркеров генотипов по специфическим для них SNP. Первым этапом был проведён делеционный анализ по регионам различия RD 105 и 207 всех образцов, который разделил выборку на 2 группы,

из них 110 (67,5%) из 163 изолятов принадлежали к Beijing-генотипу, остальные 52 определены как non-Beijing и 1 смешанный образец (Beijing/non-Beijing — mix). Все Beijing-штаммы имели делецию в регионе различий RD 181, они отнесены к современной подлинии этого генотипа.

Результаты MIRU-VNTR-типирования

MIRU-VNTR-24-локусное типирование 163 штаммов выявило 75 профилей, классифицированных по MLVA MtbC15-9 схеме (**рис. 2**), 29 из которых принадлежали Beijing и 46 — non-Beijing. По результатам генотипирования, кроме Beijing, были идентифицированы генотипы евро-американской генетической линии (L4): LAM (6,7%; 11/163), Ural (7,4%; 12/163), Haarlem (4,9%; 8/163) и группа штаммов, относящихся к L4, но не дающих однозначной принадлежности к определённому генотипу по 24-локусному профилю и условно называемая L4-unclassified (12,9%; 21/163) [20]. Смешанный образец нёс профили генотипов Beijing и Ural. К генотипу Beijing принадлежали 85 кластеризованных изолятов: типы 100-32 (29 изолятов) и 94-32 (50 изолятов), а также по 3 штамма с профилями 1065-32 и 1068-32. Группа non-Beijing имела 5 кластеров, каждый из которых содержал 2–3 изолята (LAM-генотипа — 121-496 и 1119-52; Ural — 163-15; и 4 профиля, принадлежащих L4 unclassified).

Таблица 2. Общая характеристика исследуемой выборки штаммов *M. tuberculosis*

Table 2. General characteristics of the studied sample of *M. tuberculosis* strains

Показатели Characteristics	Впервые выявленные случаи ТБ ^a Newly identified cases of TB ^a	Ранее леченные случаи ТБ ^b Previously treated TB cases ^b
Мужчины, %; <i>n</i> (ДИ) Men, %; <i>n</i> (CI)	97; 71,9 (63,7–78,8)	18; 69,2 (44,0–77,4)
Позитивный ВИЧ-статус ^c , %; <i>n</i> (ДИ) Positive HIV status ^c , %; <i>n</i> (CI)	75; 56,4 (47,9–64,5)	9; 40,9 (23,2–61,3)
Средний возраст на момент выявления ТБ, Ме [IQR]: Mean age at TB detection, Me [IQR]:		
мужчины men	41,3 (29,4–53,2)	38,5 (28,1–48,9)
женщины women	44,5 (31,1–57,9)	40,0 (28,2–51,8)
Клинические формы ТБ лёгких, %; <i>n</i> (ДИ): TB clinical forms, %; <i>n</i> (CI):		
инфильтративный infiltrative	58; 43,0 (34,9–51,4)	4; 15,4 (5,5–31,1)
диссеминированный disseminate	58; 43,0 (34,9–51,4)	9; 34,6 (19,3–53,9)
фиброзно-кавернозный fibrous-cavernous	5; 3,7 (1,4–8,6)	3; 11,5 (3,2–29,8)
очаговый focal	2; 1,5 (0,7–5,6)	0
туберкулемы tuberculoma	2; 1,5 (0,7–5,6)	5; 19,2 (8,1–38,3)
казеозная пневмония caseosis pneumonia	6; 4,4 (1,9–9,6)	5; 19,2 (8,1–38,3)
Другие локализации ТБ, %; <i>n</i> (ДИ): Other TB locations, %; <i>n</i> (CI):		
ТБ внутригрудных лимфоузлов TB of intrathoracic lymph nodes	3; 2,2 (0,5–6,6)	0
ТБ менингит TB meningitis	1; 0,7 (0,1–4,5)	0
Лекарственная устойчивость ^c , %; <i>n</i> (ДИ): Drug resistance ^c , %; <i>n</i> (CI):		
чувствительные sensitive	54; 40,0 (32,6–49,1)	4; 15,4 (5,5–34,1)
монорезистентные monoresistant	10; 7,4 (4,0–13,4)	1; 3,8 (0–20,5)
полирезистентные polyresistant	19; 14,1 (9,3–21,3)	0
МЛУ multidrug-resistant TB:	52; 38,5 (31,2–47,6)	21; 80,8 (61,7–92,0)
из них пре-ШЛУ ^d of them pre-extensively drug-resistant ^d	9; 17,3 (9,1–30,0)	4; 19,0 (7,0–40,6)

Примечание. ^aИнформация о группе диспансерного учёта, сведения о клинических формах ТБ была доступна для 161 пациента (135 впервые выявленных и 26 ранее леченных больных); данные ВИЧ-статуса — для 155 пациентов (соответственно для 133 и 22 больных); данные о лекарственной устойчивости изолятов МБТ — для 159 пациентов (соответственно 133 и 26 больных).

^bРанее леченные случаи включали рецидив ТБ, лечение после неэффективного курса химиотерапии, лечение после прерывания курса химиотерапии, переведённый для продолжения лечения.

^cРаспределение изолятов по лекарственной устойчивости имело значимые отличия среди впервые выявленных и ранее леченных случаев ТБ (χ^2 ; *df* = 3; *p* = 0,002).

^dРасчет произведён к общему количеству штаммов в МЛУ и пре-ШЛУ.

Note. ^aInformation on the dispensary group, data on clinical forms of TB was available for 161 patients (135 newly identified and 26 previously treated patients); HIV status data — for 155 patients (respectively for 133 and 22 patients); data on drug resistance of MBT isolates — for 159 patients (133 and 26 patients, respectively).

^bPreviously treated cases included: relapse of tuberculosis, treatment after an ineffective course of chemotherapy, treatment after interruption of the course of chemotherapy, transferred to continue treatment.

^cThe distribution of isolates by drug resistance had significant differences among newly identified and previously treated TB cases (χ^2 ; *df* = 3; *p* = 0.002).

^dCalculation was made for the total number of strains in MDR and pre-XDR.

Результаты SNP-анализа и сопоставление с данными MIRU-VNTR-типирования

Штаммы Beijing были протестированы на наличие маркеров основных российских субтипов. Beijing Central Asian Russian выявлен в 39,9% (65/163) случаев общей выборки, Beijing B0/W148 — в 20,9% (34/163). Остальные 11 штаммов не имели SNP, специфических для вышеперечисленных субтипов. Beijing B0/W148, определяемый по наличию делеции в гене *kdpD*, состоял в боль-

шинстве случаев из штаммов 100-32 (85,3% — 29/34), а также разнообразной группы с профилями 100-387, 1048-499, 1075-32, 99-32, 9370-32. Субтип Central Asian Russian наиболее часто был представлен профилем 94-32 (76,9% 50/65), а также разнообразной группой индивидуальных профилей и 2 кластеризованных (1065-32 и 1068-32). Среди 52 non-Beijing-изолятов и 1 mix в тестировании на генотипы евро-американской линии были обнаружены представители LAM (6,7%; 11/163), Ural

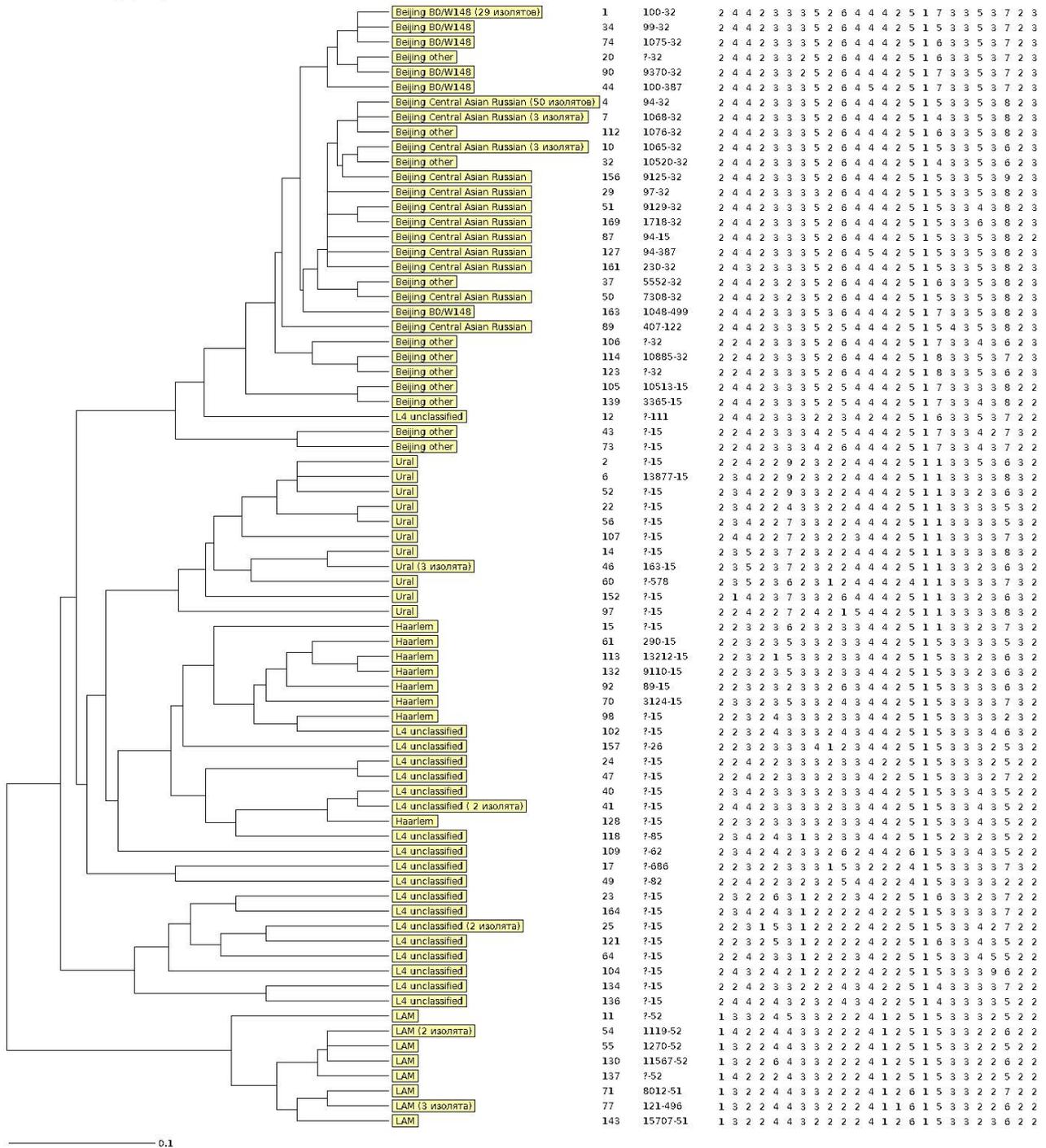


Рис. 2. UPGMA-дендрограмма MIRU-VNTR-профилей 163 штаммов *M. tuberculosis* из Кемеровской области.

Каждая строка содержит данные изолята с идентифицированным генотипом в жёлтом блоке с указанием количества в случае выявления идентичных профилей; идентификационного номера изолята; MLVA MtbC15-9 типа; числа повторов в каждом из 24 локусов.

Fig. 2. UPGMA dendrogram of MIRU-VNTR profiles of 163 *M. tuberculosis* strains from the Kemerovo Region.

Each line contains isolate data with an identified genotype in a yellow block indicating the number of isolates if identical profiles are detected; isolate identification number; MLVA type MtbC15-9; number of repeats at each of the 24 loci.

(7,4%; 12/163) и группа из 29 штаммов без специфических маркеров. В смешанном образце выявлен только маркер генотипа Ural.

Генотипы МБТ и их субтипы, классифицированные по MIRU-VNTR-24-профилям, полностью

совпадали с результатами SNP-анализа (табл. 3). Beijing Central Asian Russian и Beijing B0/W148 включали изоляты с профилями, принадлежащими только к этим субтипам, согласно наиболее полному каталогу [16]. Группа «Beijing другие» не имела

Таблица 3. Сопоставление результатов MIRU-VNTR- и SNP-типирования

Table 3. Comparison of MIRU-VNTR results and SNP typing

Генотип, субтип (выявленные штаммы в SNP-анализе) Genotype, Subtype (strains identified in SNP analysis)	MIRU-VNTR-24-генотипирование MIRU-VNTR 24 genotyping	
	число выявленных штаммов identified strains	MLVA MtbC15-9 тип* (n) MLVA MtbC15-9 type * (n)
Beijing Central Asian Russian (65)	65	94-32 (50); 94-15 (1); 94-387 (1); 97-32 (1); 230-32 (1); 407-32 (1); 1065-32 (3); 1068-32 (3); 1718-32 (1); 7308-32 (1); 9125-32 (1); 9129-32 (1)
Beijing B0/W148 (34)	34	100-32 (29); 100-387 (1); 99-32 (1); 1048-439 (1); 1075-32 (1); 9370-32 (1)
Beijing, другие other Beijing (11)	11	1076-32 (1); 3365-15 (1); 5552-32 (1); 10520-32 (1); 10885-32 (1); 10513-32 (1); ?-15 (2); ?-32 (3)
LAM (11)	11	121-496 (3); 1119-52 (1); 1270-52 (1); 8012-51 (1); 11567-52 (1); 15707-51 (1); ?-52 (2)
Ural (12)	12	163-15 (3); 13877-15 (1); ?-15 (7); ?-578 (1)
S (0)	0	Отсутствовали Absent
non-Beijing другие (29) other non-Beijing	29, в том числе including Haarlem (8)	89-15 (1); 290-15 (1); 3124-15 (1); 9110-15 (1); 13212-15 (1); ?-15 (18); ?-26 (1); ?-62 (1); ?-82 (1); ?-85 (1); ?-111 (1); ?-686 (1)

Примечание. «?» — неклассифицированные по MLVA MtbC типы.
Note. «?» indicates the types unclassified by MLVA MtbC.

маркеров вышеперечисленных субтипов и характерных для них профилей.

Изолятам с наличием маркеров LAM и Ural соответствовали профили этих же генотипов, охарактеризованных ранее [17, 18]. Ни один штамм из группы non-Beijing не имел профилей генотипа S [19] и его специфического маркера. У оставшихся 29 изолятов «non-Beijing другие» не было тестируемых замен, они относились к генотипу Haarlem и L4 unclassified по MIRU-VNTR-24.

Лекарственная устойчивость *M. tuberculosis*

Тестирование МБТ показало, что только 55 (34,6%) сохранили лекарственную чувствительность, в большей степени за счёт впервые выявленных случаев (40,0% против 15,4% ранее леченных). Остальные были устойчивы к препаратам 1-го ряда в различных комбинациях, таким как изониазид (59,1%), рифампицин (46,5%), стрептомицин (58,5%) и этамбутол (43,4%), и к препаратам 2-го ряда, включая этионамид (6,9%), офлоксацин (8,2%), канамицин (5,0%), капреомицин (3,1%), парааминосалициловую кислоту (1,9%). Учитывая недавние изменения в определении широкой лекарственной устойчивости (ШЛУ) и пре-ШЛУ, структура лекарственно-устойчивых штаммов представлена в табл. 1 и табл. 4. МЛУ, определяемая как одновременная устойчивость к рифампицину и изониазиду, выявлена у 74 (46,5%) изолятов (в том числе у 46 из 84 штаммов, выделенных от ВИЧ-инфицированных пациентов), из них 13 — пре-ШЛУ (МЛУ с дополнительной устойчивостью к одному из фторхинолонов⁴). ШЛУ — МЛУ с резистентностью к любому

фторхинолону и как минимум к одному дополнительному препарату 2-го ряда (бедаквилину и/или линезолиду) — не была выявлена ни в одном случае. В целом устойчивость к бедаквилину была определена у 3,1% (5/161) штаммов: 2 монорезистентных, 2 полирезистентных и 1 МЛУ-штамма. Присутствие фенотипической устойчивости к бедаквилину может быть связано с естественной резистентностью [21, 22], нельзя исключить и возможность технических ошибок. Ожидается, что в спектре лекарственной устойчивости *M. tuberculosis* от больных, ранее получавших ПТП, значимо чаще встречались случаи МЛУ ($p = 0,004$). Вместе с тем частоты выявления пре-ШЛУ-штаммов не имели значимых различий у пациентов с историей лечения и новых случаев ТБ ($p = 0,283$). Штаммы от ВИЧ-инфицированных с большей частотой показывали МЛУ-профиль (54,8%), чем МБТ от больных с ТБ без ВИЧ-инфекции (35,2%; $p = 0,005$).

Основные клинико-диагностические характеристики ТБ, вызванного различными генотипами и субтипамми *M. tuberculosis*

Стратификация основных характеристик ТБ в соответствии с генотипом МБТ показала ряд закономерностей (табл. 5). Сходное распределение изолятов отмечается при различных клинических формах ТБ, которое отвечает общей генотипической структуре изучаемой выборки. Однако среди ранее леченных случаев ТБ частота генотипа Beijing вы-

⁴ WHO. World Health Organization (2021). Meeting report of

the WHO expert consultation on the definition of extensively drug-resistant tuberculosis, 27–29 October 2020. World Health Organization. 02.05.2023.
URL: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/338776>

Таблица 4. Лекарственная устойчивость штаммов *M. tuberculosis* от больных ТБ с различным ВИЧ-статусом**Table 4.** Drug resistance of *M. tuberculosis* strains from TB patients with different HIV status

Показатели лекарственной устойчивости Drug resistance	ВИЧ-положительные пациенты HIV positive patients (n = 84)		ВИЧ-негативные пациенты HIV negative patients (n = 71)		Общая выборка Total sample (n = 159)	
	абс. abs.	% (ДИ CI)	абс. abs.	% (ДИ CI)	абс. abs.	% (ДИ CI)
Чувствительные Sensitive	23	27,4 (18,9–37,8)	31	43,7 (32,7–55,2)	55	34,6 (27,6–42,3)
Монорезистентные Monoresistant	6	7,1 (3,0–15,1)	5	7,0 (2,7–15,8)	11	6,9 (3,8–12,1)
Полирезистентные Polyresistant	9	10,7 (5,5–19,3)	10	14,1 (7,6–24,2)	19	11,9 (7,7–18,0)
МЛУ MDR	46	54,8 (44,1–65,0)	25	35,2 (25,1–46,8)	73	46,5 (38,4–53,7)
из них, пре-ШЛУ of them pre-XDR	9	10,7 (5,5–19,3)	4	5,6 (1,8–14,0)	13	8,2 (4,7–13,6)

Примечание. Данные ВИЧ-статуса были доступны для 155 случаев; данные о лекарственной устойчивости — для 159.

Note. HIV status data were available for 155 cases; data on drug resistance — for 159.

Таблица 5. Клинические характеристики, вызванные разными генотипами**Table 5.** Clinical characteristics depending on different genotypes

Клинические характеристики/генотипы Clinical characteristics/genotypes	n	Beijing B0/W148 (n = 32)		Beijing Central Asian Russian (n = 65)		Beijing, общее total (n = 110)		Non-Beijing, общее total (n = 52)	
		абс. abs.	% (ДИ CI)	абс. abs.	% (ДИ CI)	абс. abs.	% (ДИ CI)	абс. abs.	% (ДИ CI)
Основные клинические формы ТБ лёгких: Major clinical forms of pulmonary TB:									
инфильтративный infiltrative	62	12	19,4 (11,3–31,0)	25	40,3 (29,0–52,8)	42	67,7 (55,3–78,1)	20	32,3 (21,9–44,7)
диссеминированный disseminate	67	11	16,4 (9,3–27,2)	29	43,3 (32,1–55,2)	44	65,7 (53,7–75,9)	22	32,8 (22,8–44,8)
фиброзно-кавернозный fibrous-cavernous	8	2	25,0 (6,3–59,9)	2	25,0 (6,3–59,9)	4	50,0 (21,5–78,5)	4	50,0 (21,5–78,5)
КП caseosis pneumonia	11	2	18,2 (4,0–48,9)	3	27,3 (9,2–57,1)	6	54,5 (28,0–78,8)	5	45,5 (21,3–72,0)
Группа диспансерного учёта: Dispensary group:									
впервые выявленные newly identified TB cases	135	24	17,8 (12,2–25,2)	55	40,7 (32,8–49,2)	87	64,4 (56,1–72,0)	47	34,8 (27,3–43,3)
ранее леченные previously treated TB cases	26	10	38,5 (22,4–57,5)	10	38,5 (22,4–57,5)	23	88,5 (70,2–96,8)	5	19,2 (8,1–38,3)
ВИЧ-статус: HIV status:									
положительный positive	84	22	26,4 (16,9–35,6)	36	42,9 (32,8–53,5)	63	75,0 (64,7–83,1)	20	23,8 (15,9–34,0)
негативный negative	71	10	14,1 (7,6–24,2)	26	36,6 (26,4–48,3)	41	57,7 (46,1–68,6)	30	42,3 (31,5–53,9)

Примечание. % рассчитан на n штаммов в строке характеристики.

Note. % is calculated for n strains in the characteristic line.

ше, чем среди впервые выявленных (23/26 против 87/135; $p = 0,029$). Такое же значимое превышение обнаружено в случаях ТБ, вызванного Beijing B0/W148 (38,5% против 17,8%; $p = 0,035$) на фоне сравнимых уровней других субтипов Beijing (для Beijing Central Asian Russian: 38,5% против 40,7%; $p = 0,828$; Beijing другие: 11,5% против 5,9%; $p = 0,539$). ВИЧ-положительные случаи ТБ чаще были

вызваны штаммами генотипа Beijing (75,0% против 57,7%; $p = 0,026$), чем ТБ у ВИЧ-негативных больных, без значимой ассоциации с Beijing эпидемическими субтипами (для B0/W148: 26,2% против 14,1%; $p = 0,063$; для Beijing Central Asian Russian: 42,9% против 36,6%; $p = 0,429$).

Распределение генотипов с зависимости от статуса лекарственной устойчивости также имело

Обсуждение

свои особенности (табл. 6). Из 74 МЛУ-изолятов 68 принадлежали к Beijing-генотипу и 7 — к генетической евро-американской линии (L4), в том числе в смешанном образце. Уровень МЛУ среди генотипов Beijing (61,8%; 68/110) и non-Beijing (11,5%; 6/52) отличался ($p < 0,001$). Эпидемический субтип Beijing B0/W148 был в 85,3% случаев с МЛУ + пре-ШЛУ, при этом изоляты с профилем 100-32 типа, как и остальные варианты B0/W148, имели близкие частоты (82,8 и 100% соответственно; $p = 0,748$). В штаммах субтипов Beijing Central Asian Russian МЛУ + пре-ШЛУ определена в 50,8% (33/65) случаев. Наиболее распространённый вариант этого субтипа — Beijing 94-32 типа — значимо чаще нёс МЛУ + пре-ШЛУ (62,0%), чем остальные его варианты (13,3%; $p = 0,003$). Изоляты non-Beijing были в основном лекарственно-чувствительными (59,6%; 31/52). Выявленные 6 случаев МЛУ среди non-Beijing включали представителей Haarlem, Ural и LAM. В разнообразной группе L4 unclassified присутствовали только чувствительные, моно- и полирезистентные штаммы.

В условиях ограниченных ресурсов наиболее перспективно направление приоритетного мониторинга штаммов МБТ высокого риска передачи в целевой популяции. Обязательным этапом такого динамического наблюдения является первичный скрининг циркулирующей популяции МБТ в конкретных условиях, что и было выполнено нами в настоящем исследовании на ранее малоизученной территории Кемеровской области. Совершенствование методологии мониторинга возбудителя ТБ путём комплексного использования классических методов типирования и легко воспроизводимых молекулярных тестов SNP-анализа обеспечивает преимущество результатов первичного и динамического наблюдения конкретных штаммов МБТ, ответственных за наиболее актуальные проблемы передачи возбудителя ТБ. Именно такой подход был реализован в настоящем исследовании, где, кроме развёрнутой схемы MIRU-VNTR-типирования, были применены уже ранее успешно используемые тесты на Beijing B0/W148 и Beijing Central Asian

Таблица 6. Генотипы и лекарственная устойчивость изолятов *M. tuberculosis* из Кемеровской области, % (ДИ)
Table 6. Genotypes and drug resistance of *M. tuberculosis* isolates from the Kemerovo Region, % (CI)

Генотип/субтип Genotype/Subtype	Чувствительные Sensitive	Монорезистентные Monoresistant	Полирезистентные Polyresistant	МЛУ MDR	Пре-ШЛУ Pre-XDR	Общая выборка General sample
<i>n</i>	58	11	19	60	13	163
Beijing общее Beijing total	44,8 (32,8–57,6)	36,4 (15,0–64,8)	57,9 (36,2–76,9)	91,7 (81,5–96,8)	92,3 (64,6–100,0)	67,5 (60,0–74,2)
Beijing B0/W148*	44,8 (0–10,3)	9,1 (0–40,0)	5,3 (0–26,5)	40,0 (28,6–52,7)	40,0 (28,6–52,7)	20,9 (15,3–27,8)
Beijing Central Asian Russian	39,7 (28,1–52,5)	18,2 (4,0–48,9)	36,8 (19,1–59,1)	43,3 (31,6–55,9)	53,9 (29,1–76,8)	39,9 (32,7–47,6)
Beijing другие Beijing other	3,5 (0,2–12,4)	9,1 (0–40,0)	15,8 (4,7–38,4)	8,3 (3,2–18,5)	0	6,8 (3,7–11,8)
Non-Beijing общее Non-Beijing total	53,5 (40,8–65,7)	63,6 (35,2–85,0)	42,1 (23,1–63,8)	8,3 (3,2–18,5)	7,7 (0–35,4)	31,9 (25,2–39,4)
LAM	6,9 (2,2–16,9)	27,3 (9,2–57,1)	15,8 (4,7–38,4)	0	7,7 (0–35,4)	6,8 (3,7–11,8)
Ural	8,6 (3,3–19,1)	9,1 (0–40,0)	15,8 (4,7–38,4)	5,0 (1,2–14,3)	0	7,4 (4,2–12,5)
Haarlem	6,9 (2,2–16,9)	9,1 (0–40,0)	5,3 (0–26,5)	3,3 (1,2–14,3)	0	4,9 (2,4–9,5)
L4 inclassified	31,0 (20,6–43,9)	18,2 (4,0–48,9)	5,3 (0–26,5)	0	0	12,9 (8,5–19,0)
Mix (Beijing/Ural)	1,8 (0–10,3)	0	0	0	0	0,6 (0–3,7)

Примечание. Чувствительные — лекарственная чувствительность сохранена ко всем ПТП; монорезистентные — к 1 ПТП; полирезистентные — к 2 и более ПТП, но не к рифампицину и изониазиду; МЛУ (не ШЛУ) — к рифампицину и изониазиду и другим ПТП, но не к фторхинолонам и бедаквилину и линезолиду. Beijing другие — изоляты генотипа Beijing, не имеющие маркеров B0/W148 и Central Asian Russian кластеров.

*Данные о лекарственной устойчивости доступны для 32 из 34 идентифицированных Beijing B0/W148.

Note. Sensitive — drug sensitivity is maintained to all anti-tuberculosis drugs; mono-resistant — drug sensitivity to one anti-tuberculosis drug; polyresistant — drug sensitivity to 2 or more anti-tuberculosis drugs, but not to rifampicin and isoniazid; MDR (not XDR) — drug sensitivity to rifampicin and isoniazid and other anti-tuberculosis drug, but not to fluoroquinolones and bedaquiline and linezolid. Beijing, other — isolates of the Beijing genotype that do not have markers of B0/W148 and Central Asian Russian clusters.

*Drug resistance data are available for 32 of the 34 identified Beijing B0/W148 strains.

Russian [23–25] и апробированные впервые способы детекции генотипов S, LAM и Ural в формате ПЦР-РВ.

Результаты молекулярно-генетического скрининга популяции МБТ в Кемеровской области, показали, что, как и на многих территориях азиатской части России, преобладают штаммы генотипов Beijing (67,5%) и его эпидемически значимые кластеры Central Asian Russian (39,9%) и B0/W148 (20,9%) [3, 6, 7, 26]. Частоты обнаружения основных субтипов Beijing близки ранее опубликованным данным по Западной Сибири (Новосибирская, Томская и Омская области) [10, 20], однако значительно отличаются от представленных в недавнем исследовании [9], где доля Beijing составила 95% выборки, а доля B0/W148 превышала обнаруживаемые в Сибири частоты в 2 раза (46,4%). При этом количество включённых штаммов из Кемеровской области в этом исследовании не приведено и предполагать о каких-либо изменениях в динамике структуры пока не представляется возможным.

В настоящем исследовании группа non-Beijing также состояла из наиболее часто встречаемых генотипов LAM (6,7%), Ural (7,4%), Haarlem (4,9%) и L4-unclassified (12,9%). По частоте встречаемости LAM занимает 2-е место в большинстве азиатских регионов России (от 12,0 до 19,5%) [6–10]. Распространённость LAM в европейской части России и ряде стран бывшего СССР варьирует от 13,3% в Калининграде до 29,4% в Карелии [17]. Немаловажную роль среди non-Beijing-генотипов играет Ural, ранее считавшийся маловирулентным и лекарственно-чувствительным [18, 26], однако получившие недавно распространение новые его эпидемические кластеры с МЛУ [27] определяют актуальность его отслеживания в современной популяции МБТ. Штаммы Haarlem, обнаруженные в 4,9% случаев в сибирских регионах, являются минорными и по отношению к другим представителям евро-американской линии и часто являются лекарственно-чувствительными, в то время как в Южной Америке этот генотип сопровождается МЛУ в половине случаев (43,6%) [28]. Изоляты генотипа S не встречались в изучаемой выборке, что может быть естественным в ограниченных условиях проведения скрининга и при незначительной циркуляции этого генотипа в Сибири и на Дальнем Востоке (2–7% случаев), за исключением его эндемического распространения в Республике Саха (Якутии) [6, 10, 25, 26, 29].

Кемеровская область — Кузбасс имеет один из самых высоких уровней первичной МЛУ (35,0%) в Сибирском федеральном округе после Республики Тывы и Новосибирской области [30]. Поэтому важным результатом этого исследования является обнаружение факта, что стабильно высокий уровень МЛУ в популяционной структуре (46,5%) обеспечивается преимущественно штаммами geno-

типа Beijing (61,8%). Его эпидемический субтип — Beijing B0/W148 — был в 85,3% случаев с МЛУ и представлял пятую часть проанализированной нами выборки (20,9%). При этом штаммы Beijing B0/W148 с разными профилями MIRU-VNTR имели МЛУ со сходной частотой. Предыдущие исследования в Западной Сибири показали, что генотип Beijing также чаще встречался в образцах МЛУ-ТБ (71%) по сравнению с общими данными по ТБ (47%) [7, 10]. Сохранение стабильно высокого уровня МЛУ у гетерогенной группы Beijing B0/W148 также показано на других территориях, в частности в Восточной Сибири [6].

Напротив, в неоднородной группе Central Asian Russian кластера общий показатель МЛУ был ниже, чем у B0/W148 (50,8 и 85,3% соответственно), но штаммы одного профиля — 94-32 — имели значимо большую долю МЛУ (62,0%) по сравнению с остальными профилями (13,3%). Это может быть связано с присутствием среди группы 94-32 штаммов Central Asia Outbreak, которые характеризуются тем же профилем, но несут значимо чаще МЛУ [31]. Учитывая близость к Кемеровской области Казахстана, где наблюдается градиент распространённости Central Asia Outbreak в Центральной Азии, а также обнаружение штаммов этого субтипа в соседних областях (Новосибирской, Томской), высока вероятность связи МЛУ именно с этим вариантом возбудителя ТБ. Однако на данном этапе скрининга выявленный факт только нацеливает на более углублённое исследование Central Asian Russian кластера в дальнейшем мониторинге Кемеровской области.

Высокий уровень коинфекции ВИЧ-ТБ в Кемеровской области [30] нашёл отражение в скрининговой выборке. Более половины образцов составили штаммы МБТ, полученные от больных ВИЧ-ТБ (56,4%). При этом ВИЧ-позитивные случаи ТБ чаще были вызваны штаммами генотипа Beijing (75,0% против 57,7%) и МЛУ (54,8% против 35,2%), чем ТБ у ВИЧ-негативных больных, без значимой ассоциации с Beijing эпидемическими кластерами. По данным других российских исследователей азиатской части России, ассоциация сочетанной ВИЧ-ТБ-инфекции с МЛУ является устойчивой, однако связь с отдельными генотипами и субтипами Beijing носит неоднозначный характер [10, 32, 33]. Для выяснения роли основных кластеров в развитии сочетанной ВИЧ-ТБ-инфекции на территории Кемеровской области необходимы динамические и более масштабные исследования репрезентативной выборки этой группы пациентов.

Результаты использования в настоящем исследовании комплексного подхода молекулярного анализа циркулирующих в Кемеровской области МБТ также показали, что расширенное генотипирование MIRU-VNTR-24 с набором разработанных нами ПЦР-РВ-тестов имеет полную идентификационную

совместимость. Такой набор следует дополнить тестами на ещё один значимый кластер генотипа Beijing — Central Asia Outbreak — и ряд минорных генотипов евро-американской линии (Haarlem, T) и эндемичных субтипов генотипа Beijing (в частности, 1071-32 и 14717-15), чтобы охватить более 95% популяции МБТ, характерной для азиатских территорий России. В представленном наборе тесты могут быть уже рекомендованы для быстрого скрининга ретроспективных коллекций и для проспективного мониторинга штаммов МБТ.

Ограничения исследования. Настоящее исследование было ограничено выборкой штаммов МБТ, выявленных у больных, получавших преимущественно стационарное лечение в противотуберкулёзных диспансерах Кемеровской области, что отразилось в более высокой доле лекарственно-устойчивых изолятов МБТ по сравнению с популяционными исследованиями. Кроме того, мы не смогли использовать типирование MIRU-VNTR по 24 локусам для определения генотипа 21 изолятов, отнесённых к non-Beijing и сгруппированных в группу L4 unclassified.

Заключение

Выявлено доминирование изолятов группы Beijing (67,5%) и его эпидемических кластеров Beijing Central Asian Russian и B0/W148 (39,9 и 20,9% соответственно), которые значимо отличались по уровням МЛУ (50,8 и 85,3% соответственно; $p = 0,005$). Вторыми по распространённости были штаммы евро-американской линии (31,9%): LAM (6,7%), Ural (7,4%), Haarlem (4,9%) и L4-unclassified (12,9%). МЛУ среди этих минорных генотипов была значительно ниже, чем среди Beijing, и составляла 11,5% ($p < 0,001$). Штаммы от больных ВИЧ-ТБ (56,4% общей выборки) несли чаще МЛУ-профиль (54,8%), чем в случаях ТБ без ВИЧ-инфекции (35,2%; $p = 0,005$), что может быть связано с более высокими уровнями Beijing в группе больных ВИЧ-ТБ (75,0% против 57,7%; $p = 0,026$). Показана полная сопоставимость разработанных нами тестов SNP-анализа для выявления основных генотипов и эпидемически значимых субтипов Beijing, позволивших охарактеризовать 75,5% выборки экспресс-методом.

Использование 24-локусного VNTR-типирования и экспресс-методов позволило определить структуру различных генетических линий МБТ, включая доминирующий Beijing и его эпидемически значимые субтипы Central Asian Russian и B0/W148, генотипы LAM, Ural и Haarlem, распространённость которых в основном совпадает с другими регионами Западной и Восточной Сибири. Особенностью популяции МБТ на территории Кемеровской области является значительное распространение штаммов генотипа Beijing, обладающих МЛУ.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ | REFERENCES

1. Васильева И.А., Тестов В.В., Стерликов С.А. Эпидемическая ситуация по туберкулезу в годы пандемии COVID-19 — 2020–2021 гг. *Туберкулёз и болезни лёгких*. 2022;100(3):6–12. Vasilyeva I.A., Testov V.V., Sterlikov S.A. Tuberculosis situation in the years of the COVID-19 pandemic – 2020–2021. *Tuberculosis and Lung Diseases*. 2022;100(3):6–12. DOI: <https://doi.org/10.21292/2075-1230-2022-100-3-6-12> EDN: <https://elibrary.ru/dpmdcf>
2. Ревякина О.В., Филиппова О.П., Фелькер И.Г. и др. *Туберкулёз в Сибирском и Дальневосточном федеральных округах: информационно-аналитический обзор*. Новосибирск;2020. Revyakina O.V., Filippova O.P., Felker I.G., et al. *Tuberculosis in the Siberian and Far Eastern federal Districts: Information and Analytical Review*. Novosibirsk;2020. DOI: <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.36433.56169> EDN: <https://elibrary.ru/cfghih>
3. Mokrousov I., Narvskaya O., Vyazovaya A., et al. Russian 'successful' clone B0/W148 of *Mycobacterium tuberculosis* Beijing genotype: multiplex PCR assay for rapid detection and global screening. *J. Clin. Microbiol.* 2012;50(11):3757–9. DOI: <https://doi.org/10.1128/JCM.02001-12>
4. Mokrousov I., Chernyaeva E., Vyazovaya A., et al. Rapid assay for detection of the epidemiologically important central Asian/Russian strain of the *Mycobacterium tuberculosis* Beijing genotype. *J. Clin. Microbiol.* 2018;56(2):e01551-17. DOI: <https://doi.org/10.1128/JCM.01551-17>
5. Mokrousov I. Insights into the origin, emergence, and current spread of a successful Russian clone of *Mycobacterium tuberculosis*. *Clin. Microbiol. Rev.* 2013;26(2):342–60. DOI: <https://doi.org/10.1128/CMR.00087-12>
6. Zhdanova S., Mokrousov I., Orlova E., et al. Transborder molecular analysis of drug-resistant tuberculosis in Mongolia and Eastern Siberia, Russia. *Transbound. Emerg. Dis.* 2022;69(5):e1800–14. DOI: <https://doi.org/10.1111/tbed.14515>
7. Dymova M.A., Cherednichenko A.G., Alkhovik O.I., et al. Characterization of extensively drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* isolates circulating in Siberia. *BMC Infect. Dis.* 2014;14:478. DOI: <https://doi.org/10.1186/1471-2334-14-478>
8. Umpeleva T., Belousova K., Golubeva L., et al. Molecular characteristics of *Mycobacterium tuberculosis* in the "closed" Russian town with limited population migration. *Infect. Genet. Evol.* 2020;79:104174. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2020.104174>
9. Vyazovaya A., Felker I., Schwartz Y., Mokrousov I. Population structure of *Mycobacterium tuberculosis* from referral clinics in Western Siberia, Russia: Before and during the COVID-19 pandemic. *Infect. Genet. Evol.* 2022;103:105343. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2022.105343>
10. Dymova M.A., Kinsht V.N., Cherednichenko A.G., et al. Highest prevalence of the *Mycobacterium tuberculosis* Beijing genotype isolates in patients newly diagnosed with tuberculosis in the Novosibirsk oblast, Russian Federation. *J. Med. Microbiol.* 2011;60(Pt. 7):1003–9. DOI: <https://doi.org/10.1099/jmm.0.027995-0>
11. Reed M.B., Pichler V.K., McIntosh F., et al. Major *Mycobacterium tuberculosis* lineages associate with patient country of origin. *J. Clin. Microbiol.* 2009;47(4):1119–28. DOI: <https://doi.org/10.1128/JCM.02142-08>
12. Shitikov E., Kolchenko S., Mokrousov I., et al. Evolutionary pathway analysis and unified classification of East Asian lineage

- of *Mycobacterium tuberculosis*. *Sci. Rep.* 2017;7(1):9227.
DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-017-10018-5>
13. Homolka S., Projahn M., Feuerriegel S., et al. High resolution discrimination of clinical *Mycobacterium tuberculosis* complex strains based on single nucleotide polymorphisms. *PLoS One*. 2012;7(7):e39855.
DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0039855>
 14. Mulholland C.V., Shockey A.C., Aung H.L., et al. Dispersal of *Mycobacterium tuberculosis* driven by historical european trade in the South Pacific. *Front. Microbiol.* 2019;10:2778.
DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02778>
 15. Mokrousov I., Vyazovaya A., Narvskaya O. *Mycobacterium tuberculosis* Latin American-Mediterranean family and its sublineages in the light of robust evolutionary markers. *J. Bacteriol.* 2014;196(10):1833–41. DOI: <https://doi.org/10.1128/jb.01485-13>
 16. Merker M., Blin C., Mona S., et al. Evolutionary history and global spread of the *Mycobacterium tuberculosis* Beijing lineage. *Nat. Genet.* 2015;47(3):242–9.
DOI: <https://doi.org/10.1038/ng.3195>
 17. Mokrousov I., Vyazovaya A., Iwamoto T., et al. Latin-American-Mediterranean lineage of *Mycobacterium tuberculosis*: Human traces across pathogen's phylogeography. *Mol. Phylogenet. Evol.* 2016;99:133–43.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2016.03.020>
 18. Mokrousov I. *Mycobacterium tuberculosis* phylogeography in the context of human migration and pathogen's pathobiology: Insights from Beijing and Ural families. *Tuberculosis (Edinb.)*. 2015;95(Suppl. 1):S167–76.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tube.2015.02.031>
 19. Жданова С.Н., Огарков О.Б., Алексеева Г.И. и др. Генетическое разнообразие изолятов микобактерий туберкулеза из Республики Саха (Якутия), Россия. *Молекулярная генетика, микробиология и вирусология*. 2016;34(2):43–8.
DOI: <https://doi.org/10.18821/0208-0613-2016-34-2-43-48>
EDN: <https://elibrary.ru/vzydoh>
Zhdanova S.N., Ogarkov O.B., Sinkov V.V., et al. Genetic diversity of *Mycobacterium tuberculosis* isolates in the republic of Sakha (Yakutia), Russia. *Molecular Genetics, Microbiology and Virology*. 2016;31(2):51–7.
DOI: <https://doi.org/10.3103/S0891416816020105>
EDN: <https://elibrary.ru/xfjfst>
 20. Mokrousov I. Ubiquitous and multifaceted: SIT₅₃ spoligotype does not correlate with any particular family of *Mycobacterium tuberculosis*. *Tuberculosis (Edinb.)*. 2021;126:102024.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tube.2020.102024>
 21. Villellas C., Coeck N., Meehan C.J., et al. Unexpected high prevalence of resistance-associated Rv0678 variants in MDR-TB patients without documented prior use of clofazimine or bedaquiline. *J. Antimicrob. Chemother.* 2017;72(3):684–90.
DOI: <https://doi.org/10.1093/jac/dkw502>
 22. Peretokina I.V., Krylova L.Y., Antonova O.V., et al. Reduced susceptibility and resistance to bedaquiline in clinical *M. tuberculosis* isolates. *J. Infect.* 2020;80(5):527–35.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2020.01.007>
 23. Хромова П.А., Огарков О.Б., Жданова С.Н. и др. Выявление высокотрансмиссивных генотипов возбудителя в клиническом материале для прогноза неблагоприятного течения туберкулеза. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2017;62(10):622–7. Khromova P.A., Ogarkov O.B., Zhdanova S.N., et al. The detection of highly-transmissible genotypes of agent in clinical samples for prognosis of unfavorable course of tuberculosis. *Russian Clinical Laboratory Diagnostics*. 2017;62(10):622–7.
DOI: <https://doi.org/10.18821/0869-2084-2017-62-10-622-627>
EDN: <https://elibrary.ru/zoladv>
 24. Жданова С.Н., Огарков О.Б., Савилов Е.Д., Кондратов И.Г. Применение молекулярно-генетических инструментов для оценки трансграничной передачи туберкулеза в Иркутской области. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2022; 21(2):59–65. Zhdanova S.N., Ogarkov O.B., Savilov E.D., Kondratov I.G. Application of new molecular genetic strategies for transborder transmission analysis of tuberculosis in Irkutsk region. *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2022;21(2):59–65.
DOI: <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2022-21-2-59-65>
EDN: <https://elibrary.ru/yimgdfc>
 25. Pasechnik O., Dymova M.A., Stasenko V.L., et al. Molecular & genetic characteristics of *Mycobacterium tuberculosis* strains circulating in the southern part of West Siberia. *Indian J. Med. Res.* 2017;146(1):49–55.
DOI: https://doi.org/10.4103/ijmr.IJMR_162_16
 26. Умпелева Т.В., Кравченко М.А., Еремеева Н.И. и др. Молекулярно-генетическая характеристика штаммов *Mycobacterium tuberculosis*, циркулирующих на территории уральского региона России. *Инфекция и иммунитет*. 2013;3(1):21–8. Umpeleva T.V., Kravchenko M.A., Eremeeva N.I., et al. Molecular characterization of *Mycobacterium tuberculosis* strains circulating in the Ural region, Russia. *Russian Journal of Infection and Immunity*. 2013;3(1):21–8.
DOI: <https://doi.org/10.15789/2220-7619-2013-1-21-28>
EDN: <https://elibrary.ru/qcubwd>
 27. Sinkov V., Ogarkov O., Mokrousov I., et al. New epidemic cluster of pre-extensively drug resistant isolates of *Mycobacterium tuberculosis* Ural family emerging in Eastern Europe. *BMC Genomics*. 2018;19(1):762.
DOI: <https://doi.org/10.1186/s12864-018-5162-3>
 28. Tarashi S., Fateh A., Jamnani F.R., et al. Prevalence of Beijing and Haarlem genotypes among multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* in Iran: systematic review and meta-analysis. *Tuberculosis (Edinb.)*. 2017;107:31–7.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tube.2017.03.005>
 29. Zhdanova S., Heysell S.K., Ogarkov O., et al. Primary multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* in 2 regions, Eastern Siberia, Russian Federation. *Emerg. Infect. Dis.* 2013;19(10):1649–52.
DOI: <https://doi.org/10.3201/eid1910.121108>
 30. Лебедева И.Б., Осинцева И.Ю., Бондаренко Т.Е. и др. COVID-19 в популяции больных туберкулёзом: эпидемиологическая и клиническая характеристика. *Фундаментальная и клиническая медицина*. 2021;6(3): 71–84. Lebedeva I.B., Osintseva I.Yu., Bondarenko T.E., et al. COVID-19 in patients with tuberculosis: epidemiological and clinical features. *Fundamental and Clinical Medicine*. 2021;6(3):71–84.
DOI: <https://doi.org/10.23946/2500-0764-2021-6-3-71-84>
EDN: <https://elibrary.ru/twfkna>
 31. Филиппова О.П., Павленок И.В., Гордеева Е.И. и др. Основные показатели противотуберкулёзной деятельности в Сибирском и Дальневосточном федеральных округах: статистические материалы. Новосибирск;2021. Filippova O.P., Pavlenok I.V., Gordeeva E.I., et al. *The main indicators of anti-tuberculosis activity in the Siberian and Far Eastern Federal Districts: statistical Materials*. Novosibirsk;2021.
EDN: <https://elibrary.ru/fsxdks>
 32. Микова О.Е., Жданова С.Н., Сергеев В.И. и др. Высокая распространённость генотипа В0/W148 *Mycobacterium tuberculosis* у больных ВИЧ-инфекцией, сочетанной с туберкулёзом, в Пермском крае и Иркутской области. *Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра Сибирского отделения Российской Академии медицинских наук*. 2016;1(5):142–5. Mikova O.E., Zhdanova S.N., Sergeev V.I.,

et al. High prevalence of genotype B0/W148 of *Mycobacterium tuberculosis* among HIV-TB patients in Perm Krai and Irkutsk region. *Bulletin of the East Siberian Scientific Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2016;1(5):142–5. DOI: <https://doi.org/10.12737/23412>
EDN: <https://elibrary.ru/wxbrvf>

33. Вязовая А.А., Пасечник О.А., Герасимова А.А., Мокроусов И.В. Структура популяции генетического семейства

Beijing *Mycobacterium tuberculosis* на территории Западной Сибири. *Туберкулез и болезни легких*. 2020;98(5):32–6. Vyazovaya A.A., Pasechnik O.A., Gerasimova A.A., Mokrousov I.V. The population structure of Beijing family of *Mycobacterium tuberculosis* in Western Siberia. *Tuberculosis and Lung Diseases*. 2020;98(5):32–6.

DOI: <https://doi.org/10.21292/2075-1230-2020-98-5-32-36>
EDN: <https://elibrary.ru/mmedwz>

Информация об авторах

Лебедева Ирина Борисовна[✉] — аспирант каф. эпидемиологии, инфекционных болезней и дерматовенерологии Кемеровского государственного медицинского университета, Кемерово, Россия, lib_2008@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3848-9206>

Жданова Светлана Николаевна — д.м.н., в.н.с. Института эпидемиологии и микробиологии Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека, Иркутск, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-7160-9700>

Кондратов Илья Геннадьевич — к.б.н., н.с. Института эпидемиологии и микробиологии Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека, Иркутск, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-2631-4724>

Сибиль Кирилл Валерьевич — к.м.н., главный врач Кузбасского клинического фтизиопульмонологического медицинского центра им. И.Ф. Копыловой, Кемерово, Россия, <https://orcid.org/0009-0003-1993-3249>

Огарков Олег Борисович — д.м.н., г.н.с., директор Института эпидемиологии и микробиологии Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека, Иркутск, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-3168-1983>

Брусина Елена Борисовна — д.м.н., профессор, зав. каф. эпидемиологии, инфекционных болезней и дерматовенерологии Кемеровского государственного медицинского университета, Кемерово, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-8616-3227>

Участие авторов: *Лебедева И.Б.* — валидация результатов и написание статьи; *Жданова С.Н.* — концептуализация, методология и написание статьи; *Кондратов И.Г.* — валидация результатов и написание статьи; *Сибиль К.В.* — администрирование и редакция статьи; *Огарков О.Б.* — концептуализация и редакция статьи; *Брусина Е.Б.* — методология и редакция статьи.

Все авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям ICMJE, внесли существенный вклад в проведение поисково-аналитической работы и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию до публикации.

Статья поступила в редакцию 23.09.2023;
принята к публикации 17.11.2023;
опубликована 06.12.2023

Information about the authors

Irina B. Lebedeva[✉] — postgraduate Student, Department of epidemiology, infectious diseases and dermatovenerology, Kemerovo State Medical University, Kemerovo, Russia, lib_2008@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3848-9206>

Svetlana N. Zhdanova — D. Sci. (Med.), leading researcher, Department of epidemiology and microbiology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, Irkutsk, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-7160-9700>

Ilya G. Kondratov — Cand. Sci. (Biol.), researcher, Department of epidemiology and microbiology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, Irkutsk, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-2631-4724>

Cyril V. Sibil — Cand. Sci. (Med.), Chief doctor, Kuzbass Clinical Phthisiopulmonological Medical Center named after I.F. Kopylova, Kemerovo, Russia, <https://orcid.org/0009-0003-1993-3249>

Oleg B. Ogarkov — D. Sci. (Med.), Head, Department of epidemiology and microbiology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, Irkutsk, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-3168-1983>

Elena B. Brusina — D. Sci. (Med.), Professor, Head, Department of epidemiology, infectious diseases and dermatovenerology, Kemerovo State Medical University, Kemerovo, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-8616-3227>

Author contribution. *Lebedeva I.B.* — validation of results and writing of the article; *Zhdanova S.N.* — conceptualization, methodology and writing of the article; *Kondratov I.G.* — validation of results and writing of the article; *Sibil C.V.* — administration and revision of the article; *Ogarkov O.B.* — conceptualization and revision of the article; *Brusina E.B.* — methodology and revision of the article.

All authors confirm that they meet the International Committee of Medical Journal Editors criteria for authorship, made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published.

The article was submitted 23.09.2023;
accepted for publication 17.11.2023;
published 06.12.2023