

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2016

УДК 616-002.5-055.5/7

DOI 10.21292/2075-1230-2016-94-8-60-65

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ВОЗБУДИТЕЛЯ ТУБЕРКУЛЕЗА В УРАЛЬСКОМ ФЕДЕРАЛЬНОМ ОКРУГЕ РОССИИ

Т. В. УМПЕЛЕВА¹, А. А. ВЯЗОВАЯ², Н. И. ЕРЕМЕЕВА¹, М. А. КРАВЧЕНКО¹, О. В. НАРВСКАЯ², С. Н. СКОРНЯКОВ¹¹Уральский НИИ фтизиопульмонологии, г. Екатеринбург²Санкт-Петербургский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера, Санкт-Петербург

Представлена молекулярно-генетическая характеристика изолятов *Mycobacterium tuberculosis*, полученных в 2009-2011 гг. на территории Урала от 178 ранее не леченных и 78 ранее леченных больных туберкулезом. ПЦР в режиме реального времени и MIRU-VNTR-типирование по 15 локусам выявили доминирование *M. tuberculosis* генотипа Beijing в обеих группах пациентов, однако доля изолятов Beijing у ранее леченных больных существенно превышала таковую в группе ранее не леченных больных: 80,8% против 55,1% ($p = 0,0002$). IS6110-RFLP-типирование доказало принадлежность большинства изолятов Beijing к эпидемиологически и клинически значимому в России клону B0. Установлено, что *M. tuberculosis* Beijing, несущие мутации *rpoB* Ser531→Leu и *katG* Ser315→Thr, играют ключевую роль в распространении туберкулеза с МЛУ возбудителя на Урале. Группа non-Beijing была представлена изолятами различных сполиготипов и MIRU-VNTR-типов, среди которых преобладали представители нескольких глобально-распространенных генетических групп LAM (LAM9, T5_RUS), URAL (H3), Haarlem (H1, X), T (T1).

Ключевые слова: *Mycobacterium tuberculosis*, генотипирование, MIRU-VNTR, сполиготипирование, IS6110-RFLP, Beijing, non-Beijing.

SPECIFIC GENETIC FEATURES OF TUBERCULOUS MYCOBACTERIA IN URAL FEDERAL DISTRICT OF RUSSIA

T. V. UMPELEVA¹, A. A. VYAZOVAYA², N. I. EREMEEVA¹, M. A. KRAVCHENKO¹, O. V. NARVSKAYA², S. N. SKORNYAKOV¹¹Ural Phthisiopulmonology Research Institute, Yekaterinburg, Russia²Paster St. Petersburg Research Institute of Epidemiology and Microbiology, St. Petersburg, Russia

The article presents molecular genetic description of isolates of *Mycobacterium tuberculosis* of 178 new patients and 78 patients who had been previously treated obtained in 2009-2011 on the territory of Urals. PCR in real time and MIRU-VNTR typing of 15 loci detected prevalence of *M. tuberculosis* of Beijing genotype in the both groups of patients, however the part of Beijing isolates was significantly higher in the group of patients who had been previously treated compared to new patients: 80.8% versus 55.1% ($p = 0.0002$). IS6110-RFLP-typing showed that the majority of Beijing isolates belonged to B0 clone, clinically and epidemiologically significant in Russia. It was found out that *M. tuberculosis* Beijing carrying mutations *rpoB* Ser531→Leu and *katG* Ser315→Thr played the major role in MDR tuberculosis transmission in Urals. Non-Beijing group was represented by isolates of various spoligotypes and MIRU-VNTR types among which the representatives of the following globally common genetic groups prevailed: LAM (LAM9, T5_RUS), URAL (H3), Haarlem (H1, X), T (T1).

Key words: *Mycobacterium tuberculosis*, genotyping, MIRU-VNTR, spoligotyping, IS6110-RFLP, Beijing, non-Beijing.

Генетический мониторинг возбудителя туберкулеза основан на анализе специфических нуклеотидных последовательностей хромосомной ДНК *M. tuberculosis* с использованием сполиготипирования, MIRU-VNTR-, IS6110-RFLP-типирования и других методов исследования геномного полиморфизма микобактерий [15, 17, 24]. Показано, что соотношение генотипов в популяциях *M. tuberculosis* может существенно различаться в разных странах и географических регионах мира [12, 16, 17, 19]. Особый интерес представляет генотипическая характеристика штаммов, обладающих множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ) к противотуберкулезным препаратам (ПТП).

В настоящее время популяция возбудителя туберкулеза в России насчитывает около 200 сполиготипов, представляющих более 20 генетических семейств/линий, среди которых доминирует эпидемиологически и клинически значимый генотип Beijing [1-3, 6, 9, 18, 22]. Однако сведения о структуре субпопуляций возбудителя туберку-

леза на территориях России неполны. В научной литературе имеются единичные публикации, посвященные генотипической характеристике возбудителя туберкулеза на Урале. Так, проведенное в 2001-2002 гг. с использованием MIRU-VNTR-типирования (12 локусов MIRU) исследование выявило доминирование генетической группы Beijing (54,3%), у 15,2% изолятов впервые был идентифицирован новый генотип, получивший наименование URAL [18].

Цель исследования: изучить региональные особенности структуры популяции *M. tuberculosis* с использованием комплекса молекулярно-генетических маркеров.

Материалы и методы

Изучено 256 изолятов *M. tuberculosis*, полученных в 2009-2011 гг. от 178 ранее не леченных и 78 ранее леченных (получивших как минимум один курс противотуберкулезной терапии) больных,

госпитализированных по поводу туберкулеза легких в ФГБУ «УНИИФ» и ГБУЗ «СО ПТД», г. Екатеринбург. Культивирование микроорганизмов и определение лекарственной чувствительности к ПТП первого ряда (рифампицин, изониазид, этамбутол, стрептомицин) проводили на среде Левенштейна – Йенсена общепринятым методом [10]. Колонии *M. tuberculosis* суспендировали в растворе, содержащем 0,9% NaCl и 20% глицерина. Часть суспензии сохраняли в пробирках для последующего IS6110-RFLP-типирования и микробиологических исследований, другую инкубировали при 95°C 30 мин для лизирования клеток, затем осаждали при 3000 g 1 мин. Супернатант использовали в качестве препарата ДНК для постановки ПЦР.

Для первоначальной дифференциации изолятов на группы Beijing и non-Beijing методом ПЦР в режиме реального времени использовали тест-систему «Амплитуб-Beijing», ООО «Синтол», г. Москва. Аллельный полиморфизм изолятов *M. tuberculosis* оценивали, определяя число нуклеотидных повторов в 15 локусах (Mtub04, ETRC, MIRU04, MIRU40, MIRU10, MIRU16, Mtub21, QUB11b, ETRA, Mtub30, MIRU26, MIRU31, Mtub39, QUB26, QUB4156) MIRU-VNTR [24].

Сполиготикирование и IS6110-RFLP-типирование изолятов *M. tuberculosis* проводили согласно [15, 17]. Принадлежность к генетической группе/линии (lineage, clade) определяли путем сравнения профилей изолятов с имеющимися в компьютерных базах данных: «MIRU-VNTRplus» (URL: <http://www.miru-vntrplus.org>), международной базе данных SITVITWEB (URL: http://www.pasteur-guadeloupe.fr:8081/SITVIT_ONLINE/) и ее обновленной версии SITVIT2.

Мутации в генах *rpoB*, *katG* и *inhA*, обуславливающие лекарственную устойчивость к основным ПТП (рифампицину и изониазиду), определяли с использованием тест-систем ТБ-Биочип (MDR), ООО «Биочип-ИМБ», г. Москва. Статистическую обработку результатов проводили с использованием программного пакета Statistica 10 (Statsoft Inc.). Связи между группами анализировали с использованием таблиц сопряженности и критерия хи-квадрат (χ^2) с поправкой Йетса; статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$.

Результаты

К генетическим группам Beijing и non-Beijing принадлежали 161 и 95 клинических изолятов *M. tuberculosis* соответственно. При этом доля изолятов Beijing, выделенных от ранее леченных больных (63 из 78), была существенно выше таковой в группе ранее не леченных больных (98 из 178) и составляла 80,8% против 55,1% ($p = 0,0002$).

Анализ результатов MIRU-VNTR-типирования (15 локусов) выявил 127 типов MIRU-VNTR-про-

филей у 256 изолятов *M. tuberculosis*, причем 49 (38,5%) из них принадлежали группе Beijing.

Изоляты группы non-Beijing ($n = 95$) представляли пять генетических групп: LAM (30), URAL (25), Haarlem (16), Tur (1) S (1), остальные 22 изолята не были классифицированы (Unknown). Тридцать два изолята (33,7%) non-Beijing формировали 13 кластеров численностью от 2 до 5 изолятов с идентичными числовыми профилями MIRU-VNTR (табл. 1).

Анализ структуры DR-области хромосомы 80 изолятов non-Beijing от ранее не леченных больных позволил выделить 43 сполиготипа (SIT), представленных 1-9 изолятами. Самыми многочисленными по числу изолятов оказались генетические группы H3 (22), T1 (12), LAM9 и T5_Rus1 (по 7) и T2 (4). Шесть изолятов имели сполигографы (orphan), не идентифицированные в базе данных SITVITWEB. По результатам сполиготикирования большинство (17 из 20) неклассифицированных (Unknown) согласно MIRU-VNTRplus изолятов были отнесены к группам T (T1, T2, T1_RUS2, T4, T5), которые, наряду с группами LAM и Haarlem (H), доминируют в структуре популяций *M. tuberculosis* стран Западной Европы и ряда территорий европейской части России [13, 14].

По результатам MIRU-VNTR-типирования установлено, что 77,6% (125 из 161) изолятов Beijing входили в состав 13 кластеров. Самый многочисленный кластер (числовой профиль 442333564475372) включал 66 (40,9%) изолятов Beijing: 32 (32,6%) получены от ранее не леченных больных, остальные – от ранее леченных больных (табл. 1). Представленные данные свидетельствуют о широкой циркуляции представителей данного генотипа на территории Урала.

IS6110-RFLP-типирование 45 изолятов *M. tuberculosis* Beijing, вошедших в состав MIRU-VNTR-кластеров, выявило 17 близкородственных (коэффициент сходства 83%) типов IS6110-RFLP-профилей, которые различались как по количеству (15-19), так и по молекулярной массе фрагментов рестрикции хромосомной ДНК, содержащих участок последовательности инсерционного элемента IS6110. Пятнадцать (88,0%) из 17 вариантов профилей рестрикции IS6110 были индивидуальными (т.е. обнаружены у одного изолята), остальные представляли два крупных кластера A0 и B0, включавших 5 и 25 изолятов с идентичными профилями рестрикции соответственно. Ранее было описано доминирование генотипов A0 и B0(W148) в популяции *M. tuberculosis* Beijing на территории России [7, 8, 23]. Особый интерес представляет самый многочисленный (55,6%) IS6110-RFLP-кластер B0, поскольку показано, что штаммы данного генотипа отличаются повышенной вирулентностью, которая проявляется высокой способностью к распространению (трансмиссивностью), в том числе в стационарах, ассоциацией

Таблица 1. Генотипическая характеристика изолятов, образующих кластеры**Table 1.** Genotyping characteristics of isolates forming clusters

Генетическая группа	MIRU-VNTR профиль*	Число изолятов ВВ /РЛ больные	IS6110-RFLP кластер	SIT
Unknown	242431233243752	2		156
	242233233223252	4/1		256
	231531233254352	2		3152
LAM	322523322162262	1/1		252
	322542322152252	2		254, 42
	322523322152262	3/1		252(2),496(1)
	322443322152262	3		252(1), 254(2)
URAL	352462324412352	2		262
	352371324412342	2		262,762
	352372324412363	2		262
	352581324412572	2		262
	4423,10,2324412280	2		35
Haarlem	222742453452372	2		46
Beijing	442333564455352	2		
	442333564455362	2/6		
	442333564475362	4/1	B0(2)	
	442333564465362	1/1		
	442333564475322	1/1		
	442333564455372	5/2	B28, C11, A12	
	442333564465372	5/4	B0(4)	
	442333364465372	1/4		
	442333564475372	32/34	B0(17)B32, B31, M9, M10, L19, L4	
	442333554455382	2	B30(1)	
	442333464455382	3	A0(1)	
	442333564455382	8/7	A0(3)C3(1)C7(1)	
	442333564452382	2		

Примечание: * – указано число повторов в следующих локусах: Mtub04, ETRC, MIRU04, MIRU40, MIRU10, MIRU16, Mtub21, QUB11b, ETRA, Mtub30, MIRU26, MIRU31, Mtub39, QUB26, QUB4156

с МЛУ и тяжелым течением туберкулеза [8, 11, 20, 21].

При сопоставлении результатов IS6110 RFLP-типирования и MIRU-VNTR установлено, что у изолятов кластера B0 в локусах MIRU26 и QUB26 содержится 6-7 тандемных повторов, что, согласно данным литературы [7, 23], служит маркером принадлежности изолятов к IS6110 RFLP-кластеру B0. Интересно отметить, что в группе ранее леченных больных доля таких изолятов была выше (69,8%), чем в группе ранее не леченных больных (53,1%) ($p = 0,05$), что еще раз подчеркивает клиническую значимость изолятов этого генетического кластера.

Определение лекарственной чувствительности исследуемых культур методом абсолютных концентраций показало, что среди 178 изолятов от ранее не леченных больных 42,7% были лекарственно-чувствительными (ЛЧ), устойчивостью одновременно к рифампицину и изониазиду (МЛУ) обладали 34,3% изолятов, в то время как в группе ранее ле-

ченных больных ЛЧ были всего лишь 3,8%, МЛУ – 78,2% изолятов. Остальные изоляты обеих групп больных проявляли моно- или полирезистентность к препаратам первого ряда. Частота МЛУ среди изолятов Beijing, выделенных от ранее не леченных больных (46,9%), превышала данный показатель (18,8%) для изолятов группы non-Beijing ($p < 0,05$). Среди ранее леченных больных статистически значимых различий по доле ЛЧ и МЛУ изолятов между группами Beijing и non-Beijing не выявлено ($p > 0,05$) (табл. 2). При этом 78,3% МЛУ изолятов Beijing ранее не леченных больных принадлежали к IS6110-RFLP-кластеру B0 ($p > 0,05$), у 56,5% изолятов МЛУ сопровождалась устойчивостью и к остальным ПТП первого ряда.

Согласно нашим исследованиям по оценке контаминации среды противотуберкулезного стационара микобактериями туберкулеза, проводимых в УНИИФ с 2011 г., МБТ с МЛУ генотипа Beijing (B0) регулярно присутствуют в смывах с поверх-

Таблица 2. Характеристика лекарственной чувствительности клинических изолятов *M. tuberculosis* ранее не леченных и ранее леченных больных (метод абсолютных концентраций)**Table 2.** Characteristics of drug resistance of clinical isolates of *M. tuberculosis* of new and previously treated patients (absolute concentrations technique)

Генотип <i>M. tuberculosis</i>	Число изолятов (%)					
	Ранее не леченные больные			Ранее леченные больные		
	ЛЧ	МЛУ	Всего	ЛЧ	МЛУ	Всего
Beijing	30 (30,6%)	46 (46,9%)	98	1 (1,1%)	53 (84,1%)	63
non-Beijing	46 (57,5%)	15 (18,8%)	80	2 (13,3%)	8 (53,3%)	15
Всего	76 (42,7%)	61 (34,3%)	178	3 (3,8%)	61 (78,2%)	78

ностей, что указывает на недостаточную эффективность проводимых мер инфекционного контроля и риск внутрибольничного инфицирования эпидемиологически и клинически значимым вариантом возбудителя туберкулеза [4, 5].

Определение наличия мутаций устойчивости к рифампицину и изониазиду проведено у 174 из 178 изолятов от ранее не леченных больных. Мутации в генах *rpoB*, *katG* и/или *inhA*, обуславливающие МЛУ, выявлены у 72 (41,4%) изолятов *M. tuberculosis*. Из них 57 (79,2%) принадлежали к группе Beijing, причем у подавляющего большинства ($n = 53$) устойчивость к рифампицину и изониазиду была обусловлена заменами Ser531→Leu и Ser315→Thr в генах *rpoB* и *katG* соответственно. Ранее показано, что эти хромосомные мутации, формирующие МЛУ у *M. tuberculosis*, обеспечивают устойчивость к высоким концентрациям данных препаратов *in vitro*, не снижая жизнеспособности и вирулентности микроорганизма [8].

Семь из 15 МЛУ изолятов *M. tuberculosis* группы non-Beijing принадлежали к генетической группе LAM (согласно базе MIRU-VNTRplus). При этом замечено, что у изолятов SIT252 ($n = 5$) МЛУ сочеталась с заменой *rpoB* Asp516→Val (устойчивость к рифампицину) и мутациями в генах, обеспечивающих устойчивость к изониазиду: *katG* Ser315→Thr и *inhA*_T15 ($p = 0,006$), что согласуется с ранее опубликованными данными [3].

Для других генотипов группы non-Beijing ассоциации с МЛУ не установлено.

Заключение

Генотипирование 256 клинических изолятов возбудителя туберкулеза выявило неоднородность современной популяции *M. tuberculosis* в Уральском регионе по всем исследованным генетическим маркерам (MIRU-VNTR-локусы, DR-область хромосомы, IS6110, гены устойчивости к ПТП: *rpoB*, *katG*, *inhA*).

Ведущую роль в распространении на Урале туберкулеза с МЛУ возбудителя в течение 10-летнего периода (срок наблюдения) играют *M. tuberculosis* ге-

нотипа Beijing (B0), для которых характерно сочетание мутаций *rpoB* Ser531→Leu и *katG* Ser315→Thr, ассоциированных с МЛУ.

Таким образом, молекулярно-генетические методы, позволяющие изучать гетерогенность популяции *M. tuberculosis*, должны являться основой современного мониторинга туберкулезной инфекции. Полученные данные необходимо учитывать при разработке стратегий борьбы с распространением МЛУ-штаммов возбудителя.

Авторы благодарят Nalin Rastogi и David Couvin за обработку данных, присвоение обозначений SIT и генетических линий согласно базе данных Института Пастера Гваделупы (Institut Pasteur de la Guadeloupe) – SITVIT2.

ЛИТЕРАТУРА

1. Балабанова Я. М., Николаевский В. В., Ради М. и др. Преобладание штаммов *Mycobacterium tuberculosis* семейства Beijing и факторы риска их трансмиссии в Самарской области // Пробл. туб. – 2006. – № 2. – С. 31-36.
2. Баранов А. А., Марьяндышев А. О. Взаимосвязь генотипов и лекарственной устойчивости микобактерий туберкулеза в Баренц-регионе Российской Федерации // Рос. мед. журнал. – 2009. – № 1. – С. 24-26.
3. Вязовая А. А., Мокроусов И. В., Оттен Т. Ф. и др. Молекулярно-генетическая характеристика штаммов *Mycobacterium tuberculosis*, циркулирующих в Псковской области // Туб. и болезни легких. – 2012. – № 6. – С. 35-39.
4. Еремеева Н. И., Кравченко М. А., Вахрушева Д. В. и др. Оценка контаминации внешней среды противотуберкулезного стационара как компонент системы инфекционного контроля // Мед. альянс. – 2013. – № 4. – С. 41-52.
5. Еремеева Н. И., Кравченко М. А., Канищев В. В. и др. Молекулярно-генетические и фенотипические свойства госпитальных штаммов микобактерий туберкулеза // Инфекция и иммунитет. – 2014. – Специальный выпуск. – С. 79.
6. Лац А. А., Жданова С. Н., Огарков О. Б. и др. Лекарственная устойчивость различных генотипов *Mycobacterium tuberculosis* у больных туберкулезом в Иркутской области // Известия Иркутского государственного университета. – 2011. – Т. 4, № 4. – С. 58–62.
7. Мокроусов И. В., Нарвская О. В., Вязовая А. А. и др. Генотипирование эпидемиологически и клинически значимого варианта *M. tuberculosis* Beijing B0/W148 // Туб. и болезни легких. – 2012. – № 10. – С. 33-36.
8. Нарвская О. В. Геномный полиморфизм *Mycobacterium tuberculosis* и его роль в эпидемическом процессе: Дис. ... д-ра мед. наук. – СПб., 2003.
9. Огарков О. Б., Медведева Т. В., Zozio T. Молекулярное типирование штаммов микобактерий туберкулеза в Иркутской области (Восточная Сибирь) в 2000-2005 гг. // Молекулярная медицина. – 2007. – № 2. – С. 33-38.

10. Приказ Минздрава РФ № 109 от 21.03.2003 г. «О совершенствовании противотуберкулёзных мероприятий в Российской Федерации».
11. Bifani P.J., Plikaytis B. B., Kapur V. et al. Origin and interstate spread of a New York City multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* clone family // *JAMA*. – 1996. – Vol. 275. – P. 452-457.
12. Comas I., Homolka S., Niemann S. et al. Genotyping of genetically monomorphic bacteria: DNA sequencing in *Mycobacterium tuberculosis* highlights the limitations of current methodology // *PLoS One*. – 2009. – Vol. 4, № 11.
13. Demay C., Liens B., Burguiere T. et al. SITVITWEB – A publicly available international multimarker database for studying *Mycobacterium tuberculosis* genetic diversity and molecular epidemiology // *Infect. Genet. Evol.* – 2012. – Vol. 12, № 4. – P. 755-766.
14. Dubiley S., Ignatova A., Mukhina T. et al. Molecular epidemiology of tuberculosis in Tula area, central Russia, before Directly Observed Therapy Strategy // *Clin. Microbiol. Infect.* – 2010. – Vol. 16, № 9. – P. 1421-1426.
15. van Embden J. D., Cave M. D., Crawford J. T. et al. Strain identification of *Mycobacterium tuberculosis* by DNA fingerprinting: recommendations for a standardized methodology // *J. Clin. Microbiol.* – 1993. – № 31. – P. 406-409.
16. Iwamoto T., Yoshida S., Suzuki K. et al. 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 // *FEMS Microbiol. Lett.* – 2007. – Vol. 272. – P. 282-283.
17. Kamerbeek J., Schouls L., Kolk A. et al. Simultaneous detection and strain differentiation of *Mycobacterium tuberculosis* for diagnosis and epidemiology // *J. Clin. Microbiol.* – 1997. – № 35. – P. 907-914.
18. Kovalev S. Y., Kamaev E. Y., Kravchenko M. A. et al. Genetic analysis of *Mycobacterium tuberculosis* strains isolated in Ural region, Russian Federation, by MIRU-VNTR genotyping // *International J. Tub. Lung Disease*. – 2005. – № 9. – P. 746-752.
19. Kremer K., Arnold C., Cataldi A. et al. Discriminatory power and reproducibility of novel DNA typing methods for *Mycobacterium tuberculosis* complex strains // *J. Clin. Microbiol.* – 2005. – № 43. – P. 5628-5638.
20. Kubica T., Rüttsch-Gerdes S., Niemann S. et al. The Beijing genotype is emerging among multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* strains from Germany // *Int. J. Tuberc. Lung Dis.* – 2004. – Vol. 8, № 9. – P. 1107-1113.
21. Kubica T., Agzamova R., Wright A. et al. The Beijing genotype is a major cause of drug-resistant tuberculosis in Kazakhstan // *Int. J. Tuberc. Lung Dis.* – 2005. – Vol. 9, № 6. – P. 646-653.
22. Kurepina N., Ramaswamy S., Shashkina E. et al. The sequence analysis of the *pncA* gene determining the PZA-resistance in the predominant *M. tuberculosis* strains isolated in the Tomsk penitentiary system, Western Siberia, Russia // *Int. J. Tuberc. Lung Dis.* – 2001. – Vol. 5, № 11. – P. 41.
23. Mokrousov I. O., Narvskaya A., Vyazovaya et al. *Mycobacterium tuberculosis* Beijing genotype in Russia: in search of informative VNTR loci // *J. Clin. Microbiol.* – 2008. – № 46. – P. 3576-3584.
24. Supply P., Allix C., Lesjean S. et al. Proposal for Standardization of Optimized Mycobacterial Interspersed Repetitive Unit-Variable-Number Tandem Repeat Typing of *Mycobacterium tuberculosis* // *J. Clin. Microbiol.* – 2006. – № 44. – P. 4498-4510.
5. Ereemeeva N.I., Kravchenko M.A., Kanishhev V.V. et al. Molecular genetic and phenotypic properties of hospital strains of tuberculous mycobacteria. *Infektsiya i Immunitet*, 2014, Special Issue, pp. 79. (In Russ.)
6. Lats A.A., Zhdanova S.N., Ogarkov O.B. et al. Drug resistance of various genotypes of *Mycobacterium tuberculosis* in tuberculosis patients in Irkutsk Region. *Izvestiya Irkutskogo Gosudarstvennogo Universiteta*, 2011, vol. 4, no. 4, pp. 58-62. (In Russ.)
7. Mokrousov I.V., Narvskaya O.V., Vyazovaya A.A. et al. Gene identification of epidemiologically and clinically significant variant of *M. tuberculosis* Beijing B0/W148. *Tub. i Bolezni Legkikh*, 2012, no. 10, pp. 33-36. (In Russ.)
8. Narvskaya O.V. *Genomny polimorfizm Mycobacterium tuberculosis i ego rol v epidemicheskoy protsesse. Diss. dokt. med. nauk.* [Genome polymorphism of *Mycobacterium tuberculosis* and its role for epidemiological process. Doct. Diss.]. St. Petersburg, 2003.
9. Ogarkov O.B., Medvedeva T.V., Zozio T. Molecular typing of tuberculosis mycobacteria strains in Irkutsk Region (Eastern Siberia) in 2000-2005. *Molekulyarnaya Meditsina*, 2007, no. 2, pp. 33-38. (In Russ.)
10. Edict no. 109 by RF MoH as of 21.03.2003 On Improvement of TB Control Measures in the Russian Federation. (In Russ.)
11. Bifani P.J., Plikaytis B.B., Kapur V. et al. Origin and interstate spread of a New York City multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* clone family. *JAMA*, 1996, vol. 275, pp. 452-457.
12. Comas I., Homolka S., Niemann S. et al. Genotyping of genetically monomorphic bacteria: DNA sequencing in *Mycobacterium tuberculosis* highlights the limitations of current methodology. *PLoS One*, 2009, vol. 4, no. 11.
13. Demay C., Liens B., Burguiere T. et al. SITVITWEB – A publicly available international multimarker database for studying *Mycobacterium tuberculosis* genetic diversity and molecular epidemiology. *Infect. Genet. Evol.*, 2012, vol. 12, no. 4, pp. 755-766.
14. Dubiley S., Ignatova A., Mukhina T. et al. Molecular epidemiology of tuberculosis in Tula area, central Russia, before Directly Observed Therapy Strategy. *Clin. Microbiol. Infect.*, 2010, vol. 16, no. 9, pp. 1421-1426.
15. van Embden J.D., Cave M.D., Crawford J.T. et al. Strain identification of *Mycobacterium tuberculosis* by DNA fingerprinting: recommendations for a standardized methodology. *J. Clin. Microbiol.*, 1993, no. 31, pp. 406-409.
16. Iwamoto T., Yoshida S., Suzuki K. et al. 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. *FEMS Microbiol. Lett.*, 2007, vol. 272, pp. 282-283.
17. Kamerbeek J., Schouls L., Kolk A. et al. Simultaneous detection and strain differentiation of *Mycobacterium tuberculosis* for diagnosis and epidemiology. *J. Clin. Microbiol.*, 1997, no. 35, pp. 907-914.
18. Kovalev S.Y., Kamaev E.Y., Kravchenko M.A. et al. Genetic analysis of *Mycobacterium tuberculosis* strains isolated in Ural region, Russian Federation, by MIRU-VNTR genotyping. *International J. Tub. Lung Disease*, 2005, no. 9, pp. 746-752.
19. Kremer K., Arnold C., Cataldi A. et al. Discriminatory power and reproducibility of novel DNA typing methods for *Mycobacterium tuberculosis* complex strains. *J. Clin. Microbiol.*, 2005, no. 43, pp. 5628-5638.
20. Kubica T., Rüttsch-Gerdes S., Niemann S. et al. The Beijing genotype is emerging among multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* strains from Germany. *Int. J. Tuberc. Lung Dis.*, 2004, vol. 8, no. 9, pp. 1107-1113.
21. Kubica T., Agzamova R., Wright A. et al. The Beijing genotype is a major cause of drug-resistant tuberculosis in Kazakhstan. *Int. J. Tuberc. Lung Dis.*, 2005, vol. 9, no. 6, pp. 646-653.
22. Kurepina N., Ramaswamy S., Shashkina E. et al. The sequence analysis of the *pncA* gene determining the PZA-resistance in the predominant *M. tuberculosis* strains isolated in the Tomsk penitentiary system, Western Siberia, Russia. *Int. J. Tuberc. Lung Dis.*, 2001, vol. 5, no. 11, pp. 41.
23. Mokrousov I.O., Narvskaya A., Vyazovaya et al. *Mycobacterium tuberculosis* Beijing genotype in Russia: in search of informative VNTR loci. *J. Clin. Microbiol.*, 2008, no. 46, pp. 3576-3584.
24. Supply P., Allix C., Lesjean S. et al. Proposal for Standardization of Optimized Mycobacterial Interspersed Repetitive Unit-Variable-Number Tandem Repeat Typing of *Mycobacterium tuberculosis*. *J. Clin. Microbiol.*, 2006, no. 44, pp. 4498-4510.

REFERENCES

1. Balabanova YA.M., Nikolaevskiy V.V., Radi M. et al. Prevalence of *Mycobacterium tuberculosis* strains of Beijing family and risk factors of their transmission in Samara Region. *Probl. Tub.*, 2006, no. 2, pp. 31-36. (In Russ.)
2. Baranov A.A., Mariandyshv A.O. Correlations between genotypes and drug resistance of tuberculosis mycobacteria in the Barents Region of the Russian Federation. *Ross. Med. Journal*, 2009, no. 1, pp. 24-26. (In Russ.)
3. Vyazovaya A.A., Mokrousov I.V., Otten T.F. et al. Molecular and genetic characteristics of *Mycobacterium tuberculosis* strains circulating in Pskov Region. *Tub. i Bolezni Legkikh*, 2012, no. 6, pp. 35-39. (In Russ.)
4. Ereemeeva N.I., Kravchenko M.A., Vakhrusheva D.V. et al. Evaluation of environmental contamination of TB hospital as a component of infection control system. *Med. Alyans*, 2013, no. 4, pp. 41-52. (In Russ.)
5. Ereemeeva N.I., Kravchenko M.A., Kanishhev V.V. et al. Molecular genetic and phenotypic properties of hospital strains of tuberculous mycobacteria. *Infektsiya i Immunitet*, 2014, Special Issue, pp. 79. (In Russ.)
6. Lats A.A., Zhdanova S.N., Ogarkov O.B. et al. Drug resistance of various genotypes of *Mycobacterium tuberculosis* in tuberculosis patients in Irkutsk Region. *Izvestiya Irkutskogo Gosudarstvennogo Universiteta*, 2011, vol. 4, no. 4, pp. 58-62. (In Russ.)
7. Mokrousov I.V., Narvskaya O.V., Vyazovaya A.A. et al. Gene identification of epidemiologically and clinically significant variant of *M. tuberculosis* Beijing B0/W148. *Tub. i Bolezni Legkikh*, 2012, no. 10, pp. 33-36. (In Russ.)
8. Narvskaya O.V. *Genomny polimorfizm Mycobacterium tuberculosis i ego rol v epidemicheskoy protsesse. Diss. dokt. med. nauk.* [Genome polymorphism of *Mycobacterium tuberculosis* and its role for epidemiological process. Doct. Diss.]. St. Petersburg, 2003.
9. Ogarkov O.B., Medvedeva T.V., Zozio T. Molecular typing of tuberculosis mycobacteria strains in Irkutsk Region (Eastern Siberia) in 2000-2005. *Molekulyarnaya Meditsina*, 2007, no. 2, pp. 33-38. (In Russ.)
10. Edict no. 109 by RF MoH as of 21.03.2003 On Improvement of TB Control Measures in the Russian Federation. (In Russ.)
11. Bifani P.J., Plikaytis B.B., Kapur V. et al. Origin and interstate spread of a New York City multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* clone family. *JAMA*, 1996, vol. 275, pp. 452-457.
12. Comas I., Homolka S., Niemann S. et al. Genotyping of genetically monomorphic bacteria: DNA sequencing in *Mycobacterium tuberculosis* highlights the limitations of current methodology. *PLoS One*, 2009, vol. 4, no. 11.
13. Demay C., Liens B., Burguiere T. et al. SITVITWEB – A publicly available international multimarker database for studying *Mycobacterium tuberculosis* genetic diversity and molecular epidemiology. *Infect. Genet. Evol.*, 2012, vol. 12, no. 4, pp. 755-766.
14. Dubiley S., Ignatova A., Mukhina T. et al. Molecular epidemiology of tuberculosis in Tula area, central Russia, before Directly Observed Therapy Strategy. *Clin. Microbiol. Infect.*, 2010, vol. 16, no. 9, pp. 1421-1426.
15. van Embden J.D., Cave M.D., Crawford J.T. et al. Strain identification of *Mycobacterium tuberculosis* by DNA fingerprinting: recommendations for a standardized methodology. *J. Clin. Microbiol.*, 1993, no. 31, pp. 406-409.
16. Iwamoto T., Yoshida S., Suzuki K. et al. 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. *FEMS Microbiol. Lett.*, 2007, vol. 272, pp. 282-283.
17. Kamerbeek J., Schouls L., Kolk A. et al. Simultaneous detection and strain differentiation of *Mycobacterium tuberculosis* for diagnosis and epidemiology. *J. Clin. Microbiol.*, 1997, no. 35, pp. 907-914.
18. Kovalev S.Y., Kamaev E.Y., Kravchenko M.A. et al. Genetic analysis of *Mycobacterium tuberculosis* strains isolated in Ural region, Russian Federation, by MIRU-VNTR genotyping. *International J. Tub. Lung Disease*, 2005, no. 9, pp. 746-752.
19. Kremer K., Arnold C., Cataldi A. et al. Discriminatory power and reproducibility of novel DNA typing methods for *Mycobacterium tuberculosis* complex strains. *J. Clin. Microbiol.*, 2005, no. 43, pp. 5628-5638.
20. Kubica T., Rüttsch-Gerdes S., Niemann S. et al. The Beijing genotype is emerging among multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* strains from Germany. *Int. J. Tuberc. Lung Dis.*, 2004, vol. 8, no. 9, pp. 1107-1113.
21. Kubica T., Agzamova R., Wright A. et al. The Beijing genotype is a major cause of drug-resistant tuberculosis in Kazakhstan. *Int. J. Tuberc. Lung Dis.*, 2005, vol. 9, no. 6, pp. 646-653.
22. Kurepina N., Ramaswamy S., Shashkina E. et al. The sequence analysis of the *pncA* gene determining the PZA-resistance in the predominant *M. tuberculosis* strains isolated in the Tomsk penitentiary system, Western Siberia, Russia. *Int. J. Tuberc. Lung Dis.*, 2001, vol. 5, no. 11, pp. 41.
23. Mokrousov I.O., Narvskaya A., Vyazovaya et al. *Mycobacterium tuberculosis* Beijing genotype in Russia: in search of informative VNTR loci. *J. Clin. Microbiol.*, 2008, no. 46, pp. 3576-3584.
24. Supply P., Allix C., Lesjean S. et al. Proposal for Standardization of Optimized Mycobacterial Interspersed Repetitive Unit-Variable-Number Tandem Repeat Typing of *Mycobacterium tuberculosis*. *J. Clin. Microbiol.*, 2006, no. 44, pp. 4498-4510.

ДЛЯ КОРРЕСПОНДЕНЦИИ:

Уральский научно-исследовательский институт
фтизиопульмонологии,
620039, г. Екатеринбург, ул. 22 Партсъезда, д. 50.
Тел.: 8 (343) 333-44-66.

Умпелева Татьяна Валерьевна

кандидат биологических наук, старший научный
сотрудник.
E-mail: tumpeleva@ya.ru

Кравченко Марионелла Анатольевна

кандидат биологических наук, заведующая лабораторией.
E-mail: kravchenko@urniif.ru

Еремеева Наталья Ивановна

кандидат биологических наук, старший научный
сотрудник.
E-mail: eremeevani@ya.ru

Скорняков Сергей Николаевич

доктор медицинских наук, профессор, директор.
E-mail: sns@nm.ru

Санкт-Петербургский научно-исследовательский
институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера,
197101, г. Санкт-Петербург, ул. Мира, д. 14.
Тел.: 8 (812) 233-21-49.

Вязовая Анна Александровна

кандидат биологических наук, старший научный
сотрудник.
E-mail: annavyazovaya@pasteurorg.ru

Нарвская Ольга Викторовна

доктор медицинских наук, профессор, ведущий научный
сотрудник.
E-mail: onarvskaya@gmail.com

FOR CORRESPONDENCE:

Ural Phthiopulmonology Research Institute,
50, XXII Parts'ezda St., Yekaterinburg, 620039.
Phone: +7 (343) 333-44-66.

Tatiana V. Umpeleva

Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher.
E-mail: tumpeleva@ya.ru

Marionella A. Kravchenko

Candidate of Biological Sciences, Head of Laboratory.
E-mail: kravchenko@urniif.ru

Natalya I. Eremeeva

Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher.
E-mail: eremeevani@ya.ru

Sergey N. Skornyakov

Doctor of Medical Sciences, Professor, Director.
E-mail: sns@nm.ru

Pasteur St. Petersburg Research Institute of Epidemiology
and Microbiology,
14, Mira St., St. Petersburg, 197101.
Phone: +7 (812) 233-21-49.

Anna A. Vyazovaya

Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher.
E-mail: annavyazovaya@pasteurorg.ru

Olga V. Narvskaya

Doctor of Medical Sciences, Professor, Senior Researcher.
E-mail: onarvskaya@gmail.com

Submitted on 04.02.2016

Поступила 04.02.2016