

КЛИНИЧЕСКАЯ ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА CLINICAL LABORATORY DIAGNOSTICS

ГЕНОТИПИЧЕСКАЯ И ФЕНОТИПИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА УСТОЙЧИВОСТИ К ПРОТИВОТУБЕРКУЛЁЗНЫМ ПРЕПАРАТАМ ШТАММОВ *Mycobacterium tuberculosis*, ВЫДЕЛЕННЫХ ОТ ДЕТЕЙ

РЕЗЮМЕ

Хромова П.А.¹,
Жданова С.Н.¹,
Соловьёва Н.С.²,
Синьков В.В.¹,
Машарский А.Э.³,
Вязовая А.А.⁴,
Мокроусов И.В.⁴,
Рычкова Л.В.¹,
Колесникова Л.И.¹,
Журавлев В.Ю.²,
Огарков О.Б.¹

¹ ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16, Россия)

² ФГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии» Минздрава России (191036, г. Санкт-Петербург, Лиговский пр., 2-4, Россия)

³ Ресурсный центр «Центр Биобанк», Научный парк, ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет» (199034, г. Санкт-Петербург, Университетская наб., 7/9, Россия)

⁴ ФБУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера» (197101, г. Санкт-Петербург, ул. Мира, 14, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Хромова Полина Андреевна,
e-mail: polina.and38@gmail.com

Обоснование. По данным Всемирной организации здравоохранения, Российская Федерация остаётся в списке 30 стран с наиболее высоким бременем туберкулёза, включая его формы с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ). Важнейшей частью этой проблемы является первичный туберкулёз с множественной и широкой лекарственной устойчивостью (ШЛУ), распространяющийся среди детского населения.

Цель исследования: сравнительный анализ фенотипического и генотипического профиля лекарственной устойчивости к противотуберкулёзным препаратам (ППП) по данным полногеномного секвенирования штаммов *M. tuberculosis*, полученных от детей.

Материалы и методы. Было осуществлено полногеномное секвенирование (WGS) 61 изолята *M. tuberculosis* с поиском мутаций в генах лекарственной устойчивости, выделенного от больных туберкулёзом детей в 2006–2020 гг. из разных регионов РФ, и дальнейшим сопоставлением профиля генетической и фенотипической чувствительности.

Результаты. Доминирующее число штаммов принадлежало генотипу Beijing – 82 % (50/61), в частности субтипу Central Asian Russian, B0/W148 и Asian Ancestral. Остальные штаммы были отнесены в группу non-Beijing (Ural, S, LAM) и составили 18 % (11/61) выборки. Из 61 изолята только 14,7 % (9/61) были чувствительными к ППП, 49,2 % (30/61) – обладали МЛУ и 14,7 % (9/61) – пре-ШЛУ. При сравнении профиля устойчивости (МЛУ/пре-ШЛУ) с соответствующим генотипом было установлено, что изоляты, принадлежащие генотипу Beijing, значимо чаще несли МЛУ/пре-ШЛУ мутации. Расхождения между гено- и фенотипическими профилями лекарственной устойчивости были выявлены в 11,5 % (7/61) случаев.

Заключение. Результаты анализа полученных данных свидетельствуют о доминировании эпидемически значимых субтипов Beijing (B0/W148 и Central Asian Russian) в случаях МЛУ и пре-ШЛУ-ТБ. Сделан вывод, что молекулярные механизмы адаптации *M. tuberculosis* к лечению ППП не являются уникальными для детской популяции, а отражают общие процессы распространения ЛУ среди штаммов *M. tuberculosis* в целом по России.

Ключевые слова: *Mycobacterium tuberculosis*, полногеномное секвенирование, дети, множественная лекарственная устойчивость, спектр мутаций, генотип

Для цитирования: Хромова П.А., Жданова С.Н., Соловьёва Н.С., Синьков В.В., Машарский А.Э., Вязовая А.А., Мокроусов И.В., Рычкова Л.В., Колесникова Л.И., Журавлев В.Ю., Огарков О.Б. Генотипическая и фенотипическая характеристика устойчивости к противотуберкулёзным препаратам штаммов *Mycobacterium tuberculosis*, выделенных от детей. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(6): 82-91. doi: 10.29413/ABS.2022-7.6.8

Статья получена: 27.06.2022

Статья принята: 16.11.2022

Статья опубликована: 29.12.2022

GENOTYPIC AND PHENOTYPIC CHARACTERISTICS OF MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS DRUG RESISTANCE IN TB CHILDREN

Khromova P.A.¹,
Zhdanova S.N.¹,
Solovieva N.S.²,
Sinkov V.V.¹,
Masharsky A.E.³,
Vyazovaya A.A.⁴,
Mokrousov I.V.⁴,
Rychkova L.V.¹,
Kolesnikova L.I.¹,
Zhuravlev V.Yu.²,
Ogarkov O.B.¹

¹ Scientific Centre of the Family Health and Human Reproduction Problems (Timiryazeva str. 16, Irkutsk 664003, Russian Federation)

² Saint Petersburg Research Institute of Phthisiopulmonology (Ligovsky proezd 2-4, Saint Petersburg 191036, Russian Federation)

³ The Bio-Bank Research Center, Research Park, Saint Petersburg State University (Universitetskaya emb. 7/9, Saint Petersburg 199034, Russian Federation)

⁴ Saint Petersburg Pasteur Institute (Mira str. 14, Saint Petersburg 197101, Russian Federation)

Corresponding author:

Polina A. Khromova,

e-mail: polina.and38@gmail.com

ABSTRACT

Background. Russian Federation is included in the list of 30 countries with the highest burden of tuberculosis, including MDR tuberculosis. The most important part of this problem is the primary MDR/XDR TB in children.

The aim: a comparative analysis of the phenotypic and genotypic profile of drug resistance to anti-tuberculosis drugs (ATP) according to whole genome sequencing of *M. tuberculosis* strains from children.

Materials and methods. Whole genome sequencing (WGS) results of 61 *M. tuberculosis* isolates from children with tuberculosis in 2006–2020 in the Russian Federation were analyzed for anti-TB drug resistance mutations, according to the WHO catalog and were compared with the results of phenotypic drug sensitivity.

Results. The *M. tuberculosis* belonged to two genetic groups: Beijing genotype – 82 % (50/61) dominant Central Asian Russian (31/50) and B0/W148 (16/50) subtypes, and non-Beijing (Ural, S, LAM) – 18 % (11/61). Three isolates belonged to Asian Ancestral subtype (3/50). Of the 61 isolates, only 14.7 % (9/61) were sensitive to anti-TB drugs, 49.2 % (30/61) were MDR and 14.7 % (9/61) were pre-XDR. Comparison of the resistance profile (MDR/pre-XDR) with genotype revealed an upward shift for Beijing isolates, in particular Beijing B0/W148 (15/16) subline compared to other Beijing (19/34) (Chi-square with Yates correction = 5.535; $p < 0.05$) and nonBeijing (5/12) (Chi-square with Yates correction = 6.741; $p < 0.05$) subtypes. Discrepancies between genotypic and phenotypic drug resistance profiles were found in 11.5 % (7/61) of cases.

Conclusions. Based on the analysis of WGS data, the genotypic characteristics of *M. tuberculosis* and the most complete set of drug resistance mutations were obtained, indicating a significant prevalence in MDR and pre-XDR TB of cases caused by epidemic subtypes of Beijing (B0/W148 and Central Asian Russian). The molecular mechanisms of adaptation of *M. tuberculosis* to the treatment of anti-TB drugs are not unique for the child population but reflect the general processes of the spread of MDR/XDR in Russia.

Key words: *Mycobacterium tuberculosis*, whole genome sequencing, children, multidrug resistance, mutation spectrum, genotype

Received: 27.06.2022

Accepted: 16.11.2022

Published: 29.12.2022

For citation: Khromova P.A., Zhdanova S.N., Solovieva N.S., Sinkov V.V., Masharsky A.E., Vyazovaya A.A., Mokrousov I.V., Rychkova L.V., Kolesnikova L.I., Zhuravlev V.Yu., Ogarkov O.B. Genotypic and phenotypic characteristics of *Mycobacterium tuberculosis* drug resistance in TB children. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(6): 82-91. doi: 10.29413/ABS.2022-7.6.8

ОБОСНОВАНИЕ

Одной из серьёзных проблем мирового здравоохранения является формирование и глобальное распространение туберкулёзной инфекции, устойчивой к противотуберкулёзным препаратам первого и второго ряда, т. е. развитие множественной и широкой лекарственной устойчивости (МЛУ и ШЛУ). По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), среди 10 млн человек, больных туберкулёзом (ТБ), около 500 тыс. имеют штаммы *M. tuberculosis*, устойчивые к рифампицину, из которых 78 % также устойчивы к изониазиду, т. е. являются МЛУ [1]. В 2021 г. ВОЗ изменила определение ШЛУ туберкулёза [1], а также впервые дала определение пре-ШЛУ, подчеркнув серьёзность данных форм заболевания. В соответствии с последними изменениями, пре-ШЛУ описывают как МЛУ туберкулёз с дополнительной устойчивостью к одному из фторхинолонов. ШЛУ охарактеризован как МЛУ туберкулёз, устойчивый к любому фторхинолону и как минимум к одному дополнительному препарату группы А: бедаквилину и/или линезолиду [1]. Первичным механизмом приобретения резистентности у *M. tuberculosis* является накопление однонуклеотидных замен (single nucleotide polymorphism, SNP) в генах, кодирующих белки, являющиеся мишенями противотуберкулёзных препаратов, или в ферментах, утилизирующих эти ксенобиотики.

Одной из причин развития лекарственной устойчивости (ЛУ) является селективный отбор носителей мутации при неадекватном лечении туберкулёза [2], а также передача мутировавшего штамма возбудителя туберкулёза от человека к человеку [3]. Математическая модель передачи возбудителя [3] свидетельствует о том, что передача ЛУ штаммов, от больных людей здоровым, может играть ключевую роль в процессе глобального возникновения устойчивых форм ТБ, поскольку такие случаи передачи встречаются в разных странах, и их частота колеблется от 40 до 90 %. На территории стран бывшего СССР высокая встречаемость МЛУ/ШЛУ туберкулёза [4, 5] указывает на важную роль передачи МЛУ/ШЛУ штаммов от больных к здоровым и в первую очередь от взрослых к детям. Известно, что на территории стран бывшего Советского Союза большая часть изолятов *M. tuberculosis*, ассоциированных с МЛУ/ШЛУ, принадлежит генотипам Beijing [6, 7] и Евро-Американскому семейству [5, 8].

Молекулярная диагностика считается наиболее многообещающим путём к быстрому универсальному тестированию лекарственной чувствительности возбудителя туберкулёза. В 2021 г. под эгидой ВОЗ был опубликован наиболее полный каталог SNP [9], ассоциированных с устойчивостью к ПТП, на основе результатов фенотипического анализа и полногеномного секвенирования 41 137 изолятов возбудителя *M. tuberculosis* из 45 стран. Использование этого каталога предоставляет доступ к наиболее полной и стандартизированной генотипической характеристике ЛУ, которая и была применена в настоящем исследовании для уникальной коллекции данных полногеномного секвенирования штаммов *M. tuberculosis* от детей из различных регионов России.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Провести сравнительный анализ фенотипического и генотипического профилей лекарственной устойчивости штаммов *M. tuberculosis*, полученных от детей.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проведено исследование коллекции 61 клинического изолята микобактерий туберкулёза из отдела лабораторных исследований ФГБУ «СПБ НИИ Фтизиопульмонологии» МЗ РФ. Штаммы были получены от детей 1–15 лет, больных туберкулёзом, получивших хирургическое лечение в 2006–2020 гг.; 41 (66,1 %) из них были мальчиками; средний возраст пациентов – $5,44 \pm 0,97$ года. Критические концентрации противотуберкулёзных препаратов: изониазид – 0,1 и 1 мг/л; рифампицин – 1 и 40 мг/л; стрептомицин – 10 и 50 мг/л; этамбутол – 2 и 5 мг/л; этионамид – 5 и 30 мг/л; офлоксацин – 2 мг/л; канамицин, амикацин и капреомицин – 30 мг/л и пиразинамид – 100 мг/л определяли при помощи автоматизированной системы Bactec MGIT 960.

Полногеномное секвенирование выполнено на приборе Illumina HiSeq 2500 в Санкт-Петербургском государственном университете. Полученные полногеномные последовательности были депонированы в архив коротких прочтений NCBI SRA, биопроект [10]. Короткие прочтения выравнивались относительно референсной нуклеотидной последовательности (геном *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv – NC_000962.3) при помощи Burrows – Wheeler алгоритма с использованием программы BWA [11]. Поиск однонуклеотидных полиморфных локусов (SNP calling) производили с применением программы Vcftools [12]. Создание конкатентной последовательности, на основе 3612 переменных признаков, выполняли с использованием программы bsatool [13]. Филогенетическое дерево построено с использованием программы Beast 2 [14] с применением общей реверсивной модели эволюции. Оценку лог-файлов Beast проводили с помощью Tracer v. 1.7.1 [15]. Все параметры, полученные методом Монте-Карло по схеме марковских цепей, демонстрировали достаточные значения эффективного размера выборки больше 200 [16]. Тестирование нуклеотидных последовательностей на соответствие определённой модели накопления замен выполняли с помощью программы IQ-TREE [17]. Реконструкция филогенетических деревьев Байесовским методом с молекулярными часами выполнена по модели GTR с частотной коррекцией встречаемости аминокислотных остатков в последовательности и четырьмя гамма категориями (GTR+F+4G). Генотипирование образцов осуществляли в соответствии с классификациями по S. Homolka и соавт. [18], E. Shitikov и соавт. [19] и G. Napier и соавт. [20]. Генетический профиль лекарственной устойчивости – набор мутаций, придающих резистентность к ПТП, проводили по каталогу мутаций ВОЗ всех категорий [9].

Генотип Beijing, преобладающий в России [6, 7, 19], представлен 50 штаммами, со значимым доминированием двух эпидемических субтипов – Central Asian Russian (31/50), B0/W148 (16/50), и Asian Ancestral (3/50) [7, 19]. В группу non-Beijing входили 11 геномов: пять штаммов – Latin-American Mediterranean (LAM), четыре штамма – Ural, и два – S.

Установлено, что из 61 изолята 14,7 % (9/61) были чувствительными к ПТП, 49,2 % (30/61) – обладали МЛУ и 14,7 % (9/61) – пре-ШЛУ. При сравнении профиля устойчивости (МЛУ/пре-ШЛУ) с соответствующим генотипом было выявлено, что изоляты, принадлежащие генотипу Beijing, значимо чаще несли мутации МЛУ/пре-ШЛУ, в частности изоляты сублинии B0/W148 (15/16) по сравнению с другими Beijing (19/34) (χ^2 с поправкой Йейтса = 5,535; $p < 0,05$) и non-Beijing (5/12) ($\chi^2 = 6,741$; $p < 0,05$). У семи штаммов были обнаружены различия по генотипу и фенотипу. Четыре образца, по микробиологическому тесту отнесённые к МЛУ и пре-ШЛУ, не являлись таковыми при выявлении мутаций, ответственных за формирование МЛУ/пре-ШЛУ устойчивости. Три штамма представляли иные различия между моно-/полирезистентностью и МЛУ/пре-ШЛУ (см. рис. 1).

Мутации к препаратам основного ряда

Спектр основных мутаций, полученных по WGS данным *M. tuberculosis* всей выборки, представлен на рисунке 2.

Из 38 штаммов с резистентностью к рифампицину у 35 присутствовали мутации, обнаруженные в *rpoB* гене. Каноническая аминокислотная замена *rpoB* S450L, связанная с высоким уровнем устойчивости к рифампицину при несущественном снижении жизнеспособности штаммов [21], была идентифицирована у 85 % изолятов. Другие клинически значимые мутации в *rpoB* (L430P, D435G, H445N и L452P) обнаружены в единичных случаях и только у представителей Central Asian Russian субтипа. Мутации третьей категории (по классификации ВОЗ – «Uncertain significance»), не имеющие высокой клинической значимости, были обнаружены только в сочетании со «строго ассоциированными» («Association with resistance») позициями у фенотипически резистентных изолятов генотипа Beijing: субтипа Central Asian Russian – в виде четырёх вариантов замен *rpoB* (T399I, I480V и E761D, R827C) и B0/W148 – *rpoB*_L42V. Не было обнаружено ни одной из компенсаторных мутаций в *rpoC* и *rpoA* генах, связанных с устойчивостью к рифампицину.

Каноническая одиночная аминокислотная замена *katG* S315T была обнаружена у 74 % изолятов. С учётом двойных замен (*katG* S315T + *inhA* c-777t_ (fabG1 c-15t), *katG* S315T + *ahpC* g-48a), её встречаемость увеличивается до 90 %. В целом это совпадает с описываемыми частотами клинических изолятов от взрослых больных МЛУ-ТБ и ранее полученными данными от детей и подростков из России [22, 23]. При этом B0/W148 штаммы имели только одиночную мутацию *katG* S315T. Комбинация мутаций была у одного штамма группы non-Beijing и двух Central Asian Russian. Выявлен устойчивый к изо-

ниазиду мутантный ген *katG* и компенсаторная мутация в гене алкилгидропероксидазы *ahpC*. В дополнение к этому найден штамм с одиночной мутацией в гене *ahpC* c-52t с фенотипической устойчивостью в концентрации 1 мг/л. Из 51 устойчивых к изониазиду изолятов три не показали каких-либо мутаций в генах, связанных с резистентностью.

МЛУ штаммы имели устойчивость к этамбутолу в 69 %. Замены в кодоне 306 гена *embB* обнаружены у 45,8 % (11/24). Также было обнаружено семь мутантных генов с сохранённой чувствительностью к этамбутолу в концентрации 2 мкг/мл. Особенностью коллекции было наличие двойных и тройных мутантных генов у субтипа Central Asian Russian, несущих мутации *embB* и *embA*, и заменами в *embC* (c-1188t и c-1753t), отдельно не имеющих клинической значимости. Такое сочетание мутаций у субтипа Central Asian Russian может, некоторым образом, отражать связи между фенотипической устойчивостью к этамбутолу и генотипом. Наличие мутаций в *ubiA*, по-видимому, не имеет самостоятельного клинического значения для исследуемых нами изолятов, поскольку обнаруженные два случая с заменами в этом гене сохраняли чувствительность к этамбутолу.

В соответствии с новым каталогом мутаций [9], нами были изучены и описаны все возможные варианты нуклеотидных замен гена *pncA*, ассоциированные с ЛУ. У одного из пяти штаммов, с известной фенотипической устойчивостью к пипразинамиду, присутствовала мутация T114P в *pncA*. В остальных изолятах обнаружен широкий спектр мутаций в каждом отдельном положении гена *pncA* (включая вышестоящую промоторную область) и единичные случаи в PPE 35 и *Rv3236*. Замен в редко встречающихся генах, связанных с устойчивостью к пипразинамиду (*panD*, *clpC*) [24], обнаружено не было.

Мутации к препаратам второго ряда и группы С

Согласно новым рекомендациям ВОЗ, к препаратам второго ряда отнесены фторхинолоны, бедаквилин и линезолид, а к группе С – деламаид, амикацин, стрептомицин и этионамид [1, 9]. Резистентными к фторхинолонам были 12 изолятов. Замены в 94-м кодоне *gyrA* были наиболее распространены среди фенотипически устойчивых штаммов (58 %). Три устойчивых изолята содержали мутации только в гене *gyrB*, шесть резистентных изолятов были без мутаций в *gyrA* и в *gyrB*. Такое распределение мутаций несколько отличается от данных выборки взрослого населения, где одиночные замены в гене *gyrA* достигают 95 % [23, 25].

Мутаций в ключевых генах устойчивости к бедаквилину – *atpE* и *mmpR* – не было обнаружено ни в одном геноме, как и в гене *rplC* (линезолид), и в *ddn* (деламаид) [26], что закономерно при крайне низкой вероятности применения этих антибиотиков для лечения детей исследуемой выборки. Другие замены, описанные для этих препаратов, обнаружены в единичных штаммах: у двух пре-ШЛУ штаммов к бедаквилину (*Rv1979c_D286G* и *mmpL5_M655T*), у двух монорезистентных (*ddn_R30S* и *fbiA_I208V*) и пре-ШЛУ штаммов (*fgd1_K270M* и *fbiC_a-32g*) к деламаиду.

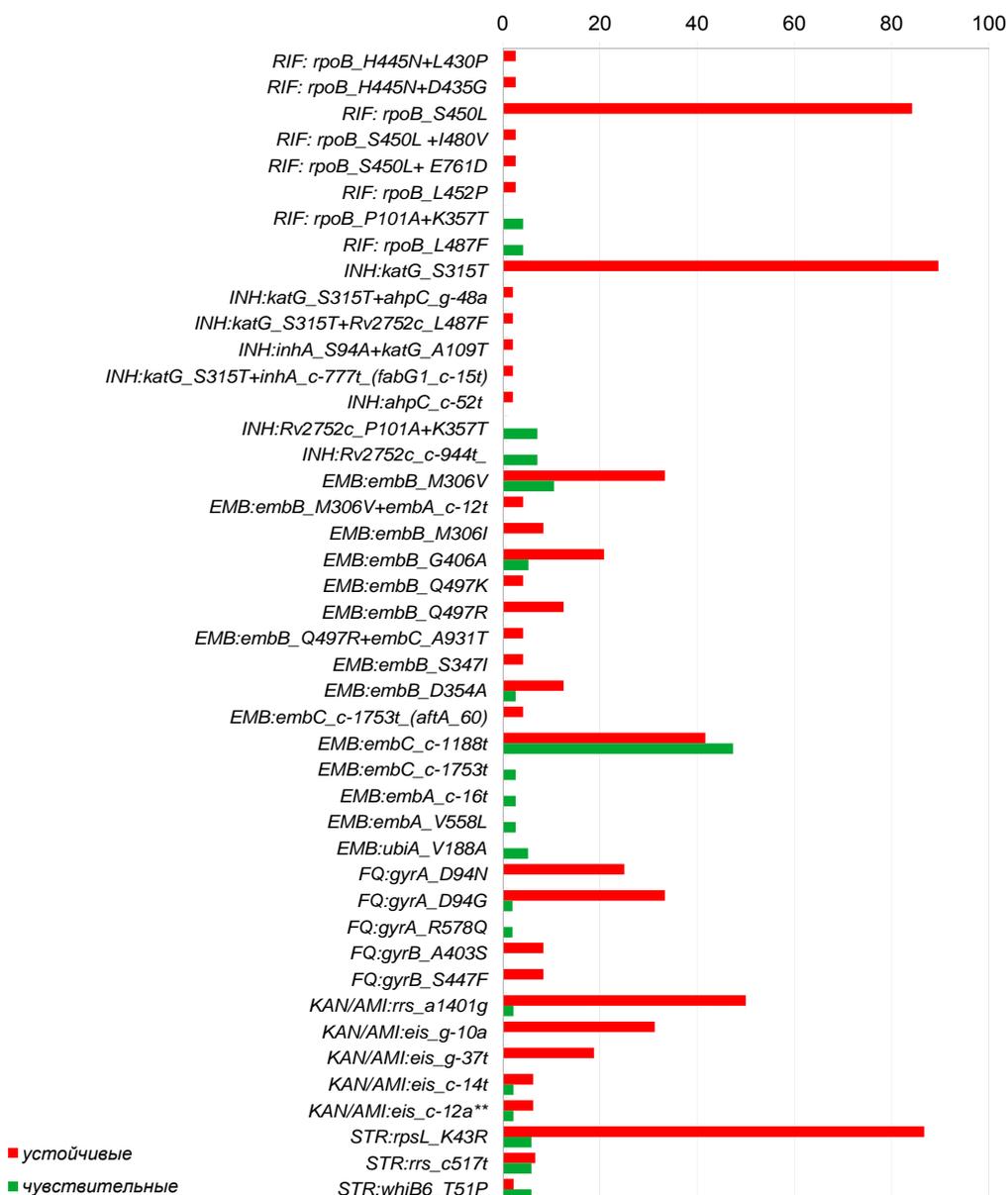


РИС. 2.

Спектр мутаций, выраженный в процентах, ассоциированных с лекарственной устойчивостью. Столбцы представляют конкретную относительную частоту каждой мутации среди восприимчивых (зелёные) и устойчивых (красные) изолятов. Сокращённое название противотуберкулёзных препаратов: RIF – рифампицин, INH – изониазид, EMB – этамбутол, FQ – фторхинолоны, KAN – канамицин, AMI – амикацин, STR – стрептомицин

FIG. 2.

Mutation spectrum expressed as a percentage associated with drug resistance. Bars represent the specific relative frequency of each mutation among susceptible (green) and resistant (red) isolates. Abbreviated anti-tuberculosis drugs: RIF – rifampicin, INH – isoniazid, EMB – ethambutol, FQ – fluoroquinolones, KAN – kanamycin, AMI – amikacin, STR – streptomycin

К этионамиду выявлены мутации ЛУ у 28 штаммов, однако соответствие с результатами теста лекарственной чувствительности было не полным. Это объяснимо наличием частичной перекрёстной устойчивости с изониазидом из-за мутаций гена *inhA*, которые влияют на активность редуктазы *InhA* и её связывающие свойства с токсическими аддуктами. Мутации, которые являются маркером устойчивости к этионамиду, обнаруже-

ны нами в двух штаммах с сохранённой чувствительностью с *inhA* c-777 (*fabG1* c-15t), одним устойчивым штамме с *inhA* g-154a (*fabG1* L203L), и одним устойчивым изоляте с *inhA* t-770c_ (*fabG1* t-8c). Такие противоположные фенотипы могут быть отражением опосредованного действия мутаций в промоторе *inhA*, приводящих к усилению экспрессии гена, что сказывается на уменьшении токсического действия изониазида и этионамида [27].

Большинство выявленных мутантных генов имели изменения в локусе *ethA*, характеризующиеся потерей рамки считывания и наличием нонсенс мутаций, которые только в трети случаев (3/9) приводили к обнаружению устойчивого фенотипа.

Устойчивость к стрептомицину в любой комбинации имели 76 % (45/59) детских изолятов, а среди МЛУ штаммов все несли фенотипическую устойчивость. При этом наиболее частыми мутациями были *rpsL* K43R и *rrs* c517t, которые в сумме составили 93 % резистентных штаммов, сопоставимые с данными взрослого населения с туберкулезной инфекцией в России [23].

Резистентные к аминогликозидам и капреомицину изоляты преимущественно имели замены в *rrs* a1401g. Следует отметить, что «мутанты» с *rrs* a1401g присутствовали и в двух чувствительных изолятах. Среди устойчивых к трём этим ПТП характерна была только единичная мутация в *rrs* a1401g в 7 из 9 штаммов. Этот факт подтверждает ранее полученные наблюдения выборки российских штаммов взрослого населения, что такая мутация в рибосомальном гене приводит к перекрёстной устойчивости ко всем трём вышеуказанным препаратам [24]. Строго ассоциированные мутации *eis* g-10a, *eis* c-14t, *eis* g-37t были также выявлены в штаммах с устойчивостью только к канамицину. Это также согласуется с ранее полученными данными о том, что мутации в промоторе гена *eis*, усиливающие его транскрипцию, приводят к низкоуровневой монорезистентности к канамицину [28]. Дополнительный анализ устойчивых к аминогликозидам двух изолятов без мутаций в локусах *rrs* и *eis* не выявил каких-либо мутаций в гене *tlyA* – строго связанному с резистентностью – у двух капреомицин-устойчивых изолятов, но один имел две мутации в *whiB6* – не имеющих клинической значимости. Мутации в области *whiB7*, которые обнаруживались при устойчивости к инъекционными ПТП в российских штаммах взрослой выборки, в нашем анализе не выявлены [23].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, настоящее исследование даёт информацию о генотипическом разнообразии современных клинических изолятов *M. tuberculosis* у больных туберкулезом российских детей, которое принципиально не отличается от структуры, полученной в выборках от взрослых пациентов. Превалирование генотипа Beijing и эпидемических для России вариантов B0/W148 и Central Asian Russian у детей свидетельствует о стабильной популяционной структуре возбудителя туберкулеза и сохранении тенденций высоких уровней распространения лекарственно-устойчивых форм инфекции на территории страны.

Объединение фенотипических и молекулярно-генетических данных позволило нам дать более полную оценку ЛУ изолятам. Большая часть МЛУ была обусловлена мутациями, не оказывающими негативного влияния на жизнеспособность и трансмиссивность возбудителя (*rpoB*_S450L + *katG*_S315T) [25], что также сви-

детельствует о большом эпидемическом резервуаре штаммов *M. tuberculosis* с МЛУ/пре-ШЛУ, которые способны активно передаваться в популяции. Выявленные отличия в наборе мутаций, связанных с устойчивостью, в большей степени проявлены к препаратам первого ряда, в первую очередь к рифампицину и изониазиду. Высоко трансмиссивные штаммы Beijing B0/W148 несут наиболее часто одиночные некомбинированные мутации к рифампицину и изониазиду, связанные с высоким уровнем резистентности. Это качественно отличает данные эпидемически успешные клоны от других представителей Beijing и non-Beijing, несущих более широкий спектр как клинически значимых мутаций, так и мало связанных с ЛУ. Удивительно, но накопление известных компенсаторных мутаций в МЛУ штаммах, предполагаемых при таких высоких уровнях МЛУ-ТБ в России, не имели широкого проявления. Это может свидетельствовать о глубоко зашедших эволюционных процессах, вызванных неадекватной химиотерапией, вероятно, сформировавших неизвестные компенсаторные механизмы в российской популяции штаммов возбудителя туберкулеза. Вполне очевидно, что описанные молекулярные механизмы адаптации *M. tuberculosis* к лечению ПТП не уникальны для детской популяции, а отражают общие процессы распространения туберкулеза с ЛУ среди жителей России.

Финансирование

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (19-515-55009 Китай_a).

Конфликт интересов

Авторы данной статьи заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. WHO. Meeting report of the WHO expert consultation on the definition of extensively drug-resistant tuberculosis, 27–29 October 2020. URL: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/338776> [date of access: 20.06.2022].
2. Zhang Y, Yew WW. Mechanisms of drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*: Update 2015. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2015; 19(11): 1276-1289. doi: 10.5588/ijtld.15.0389
3. Kendall EA, Fofana MO, Dowdy DW. Burden of transmitted multidrug resistance in epidemics of tuberculosis: A transmission modelling analysis. *Lancet Respir Med*. 2015; 3(12): 963-972. doi: 10.1016/S2213-2600(15)00458-0
4. Zhdanova S, Heysell SK, Ogarkov O, Boyarinova G, Alexeeva G, Pholwat S, et al. Primary multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* in 2 regions, Eastern Siberia, Russian Federation. *Emerg Infect Dis*. 2013; 19(10): 1649-1652. doi: 10.3201/eid1910.121108
5. Sinkov V, Ogarkov O, Mokrousov I, Bukin Y, Zhdanova S, Heysell SK. New epidemic cluster of pre-extensively drug resistant isolates of *Mycobacterium tuberculosis* Ural family emerging in Eastern Europe. *BMC Genomics*. 2018; 19(1): 1-9. doi: 10.1186/s12864-018-5162-3

6. Синьков В.В., Савилов Е.Д., Огарков О.Б. Реконструкция эпидемической истории «Пекинского» генотипа *Mycobacterium tuberculosis* в России и странах бывшего СССР по результатам сполитипирования. *Молекулярная генетика, микробиология и вирусология*. 2011; 26(3): 25-29. doi: 10.3103/S0891416811030050
7. Mokrousov I, Narvskaya O, Vyazovaya A, Millet J, Otten T, Vishnevsky B, et al. *Mycobacterium tuberculosis* Beijing genotype in Russia: In search of informative variable-number tandem-repeat loci. *J Clin Microbiol*. 2008; 46(11): 3576-3584. doi: 10.1128/jcm.00414-08
8. Mokrousov I, Vyazovaya A, Iwamoto T, Skiba Y, Pole I, Zhdanova S, et al. Latin-American-Mediterranean lineage of *Mycobacterium tuberculosis*: Human traces across pathogen's phylogeography. *Mol Phylogenet Evol*. 2016; 99: 133-143. doi: 10.1016/j.ympev.2016.03.020
9. WHO. *Catalogue of mutations in Mycobacterium tuberculosis complex and their association with drug resistance: supplementary document*. URL: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/341906> [date of access: 20.06.2022].
10. PRJNA786957. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/bioproject/?term=PRJNA786957> [date of access: 23.06.2022].
11. Li H, Durbin R. Fast and accurate short read alignment with Burrows – Wheeler transform. *Bioinformatics*. 2009; 25(14): 1754-1760. doi: 10.1093/bioinformatics/btp324
12. Danecsek P, Bonfield JK, Liddle J, Marshall J, Ohan V, Pollard MO, et al. Twelve years of SAMtools and BCFtools. *Gigascience*. 2021; 16; 10(2): giab008. doi: 10.1093/gigascience/giab008
13. Sinkov V. V. sink/bsatool: First beta pre-release (Version 0.1). *Zenodo*. 2019. doi: 10.5281/zenodo.3352204
14. Bouckaert R, Heled J, Kühnert D, Vaughan T, Wu CH, Xie D, et al. BEAST 2: A software platform for Bayesian evolutionary analysis. *PLoS Comput Biol*. 2014; 10(4): e1003537. doi: 10.1371/journal.pcbi.1003537
15. Rambaut A, Drummond AJ, Xie D, Baele G, Suchard MA. Posterior summarization in Bayesian phylogenetics using tracer 1.7. *Syst Biol*. 2018; 67(5): 901-904. doi: 10.1093/sysbio/syy032
16. Drummond AJ, Bouckaert RR. *Bayesian evolutionary analysis with BEAST*. Cambridge University Press; 2015.
17. Nguyen LT, Schmidt HA, von Haeseler A, Minh BQ. IQ-TREE: A fast and effective stochastic algorithm for estimating maximum-likelihood phylogenies. *Mol Biol Evol*. 2015; 32(1): 268-274. doi: 10.1093/molbev/msu300
18. Homolka S, Projahn M, Feuerriegel S, Ubben T, Diel R, Nübel U, et al. High resolution discrimination of clinical *Mycobacterium tuberculosis* complex strains based on single nucleotide polymorphisms. *PLoS One*. 2012; 7(7): e39855. doi: 10.1371/journal.pone.0039855
19. Shitikov E, Kolchenko S, Mokrousov I, Bespyatykh J, Ischenko D, Ilina E, et al. Evolutionary pathway analysis and unified classification of East Asian lineage of *Mycobacterium tuberculosis*. *Sci Rep*. 2017; 7(1): 9227. doi: 10.1038/s41598-017-10018-5
20. Napier G, Campino S, Merid Y, Abebe M, Woldeamanuel Y, Aseffa A, et al. Robust barcoding and identification of *Mycobacterium tuberculosis* lineages for epidemiological and clinical studies. *Genome Med*. 2020; 12(1): 114. doi: 10.1186/s13073-020-00817-3
21. Fenner L, Egger M, Bodmer T, Altpeter E, Zwahlen M, Jatou K, et al. Effect of mutation and genetic background on drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2012; 56(6): 3047-3053. doi: 10.1128/AAC.06460-11
22. Андреевская С.Н., Смирнова Т.Г., Андриевская И.Ю., Киселева Е.А., Ларионова Е.Е., Севастьянова Э.В. и др. Сравнительный анализ фенотипической и генотипической лекарственной чувствительности *Mycobacterium tuberculosis*, выделенных от детей и подростков из стационара. *Вестник Центрального научно-исследовательского института туберкулеза*. 2018; 3: 30-41. doi: 10.7868/S2587667818030056
23. Jou R, Lee WT, Kulagina EV, Weng JY, Isakova AI, Lin WH, et al. Redefining MDR-TB: Comparison of *Mycobacterium tuberculosis* clinical isolates from Russia and Taiwan. *Infect Genet Evol*. 2019; 72: 141-146. doi: 10.1016/j.meegid.2018.12.031
24. Gopal P, Sarathy JP, Yee M, Ragunathan P, Shin J, Bhushan S, et al. Pyrazinamide triggers degradation of its target aspartate decarboxylase. *Nat Commun*. 2020; 11(1): 1661. doi: 10.1038/s41467-020-15516-1
25. Эргешов А.Э., Андреевская С.Н., Ларионова Е.Е., Смирнова Т.Г., Черноусова Л.Н. Спектр мутаций в генах, ассоциированных с устойчивостью к рифампицину изониазиду и фторхинолонам, у клинических штаммов *M. tuberculosis* отражает трансмиссивность мутантных клонов. *Молекулярная биология*. 2017; 51(4): 595-602. doi: 10.1134/S0026893317030049
26. Gómez-González PJ, Perdigo J, Gomes P, Puyen ZM, Santos-Lazaro D, Napier G, et al. Genetic diversity of candidate loci linked to *Mycobacterium tuberculosis* resistance to bedaquiline, delamanid and pretomanid. *Sci Rep*. 2021; 11(1): 19431. doi: 10.1038/s41598-021-98862-4
27. Ushtanit A, Kulagina E, Mikhailova Y, Makarova M, Safonova S, Zimenkov D. Molecular determinants of ethionamide resistance in clinical isolates of *Mycobacterium tuberculosis*. *Antibiotics*. 2022; 11(2): 133. doi: 10.3390/antibiotics11020133
28. Zaunbrecher MA, Sikes RD Jr, Metchock B, Shinnick TM, Posey JE. Overexpression of the chromosomally encoded aminoglycoside acetyltransferase eis confers kanamycin resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2009; 106(47): 20004-20009. doi: 10.1073/pnas.0907925106

REFERENCES

1. WHO. *Meeting report of the WHO expert consultation on the definition of extensively drug-resistant tuberculosis, 27–29 October 2020*. URL: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/338776> [date of access: 20.06.2022].
2. Zhang Y, Yew WW. Mechanisms of drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*: Update 2015. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2015; 19(11): 1276-1289. doi: 10.5588/ijtld.15.0389
3. Kendall EA, Fofana MO, Dowdy DW. Burden of transmitted multidrug resistance in epidemics of tuberculosis: A transmission modelling analysis. *Lancet Respir Med*. 2015; 3(12): 963-972. doi: 10.1016/S2213-2600(15)00458-0
4. Zhdanova S, Heysell SK, Ogarkov O, Boyarinova G, Alexeeva G, Pholwat S, et al. Primary multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* in 2 regions, Eastern Siberia, Russian Federation. *Emerg Infect Dis*. 2013; 19(10): 1649-1652. doi: 10.3201/eid1910.121108
5. Sinkov V, Ogarkov O, Mokrousov I, Bukin Y, Zhdanova S, Heysell SK. New epidemic cluster of pre-extensively drug resistant isolates of *Mycobacterium tuberculosis* Ural family emerging

in Eastern Europe. *BMC Genomics*. 2018; 19(1): 1-9. doi: 10.1186/s12864-018-5162-3

6. Sinkov VV, Savilov ED, Ogarkov OB. Reconstruction of the epidemic history of the Beijing genotype of *Mycobacterium tuberculosis* in Russia and former Soviet countries using spoligotyping. *Molecular Genetics Microbiology and Virology*. 2011; 26(3): 25-29. (In Russ.). doi: 10.3103/S0891416811030050

7. Mokrousov I, Narvskaya O, Vyazovaya A, Millet J, Otten T, Vishnevsky B, et al. *Mycobacterium tuberculosis* Beijing genotype in Russia: In search of informative variable-number tandem-repeat loci. *J Clin Microbiol*. 2008; 46(11): 3576-3584. doi: 10.1128/jcm.00414-08

8. Mokrousov I, Vyazovaya A, Iwamoto T, Skiba Y, Pole I, Zhdanova S, et al. Latin-American-Mediterranean lineage of *Mycobacterium tuberculosis*: Human traces across pathogen's phylogeography. *Mol Phylogenet Evol*. 2016; 99: 133-143. doi: 10.1016/j.ympev.2016.03.020

9. WHO. *Catalogue of mutations in Mycobacterium tuberculosis complex and their association with drug resistance: supplementary document*. URL: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/341906> [date of access: 20.06.2022].

10. PRJNA786957. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/bioproject/?term=PRJNA786957> [date of access: 23.06.2022].

11. Li H, Durbin R. Fast and accurate short read alignment with Burrows – Wheeler transform. *Bioinformatics*. 2009; 25(14): 1754-1760. doi: 10.1093/bioinformatics/btp324

12. Danecek P, Bonfield JK, Liddle J, Marshall J, Ohan V, Polard MO, et al. Twelve years of SAMtools and BCFtools. *Gigascience*. 2021; 16; 10(2): giab008. doi: 10.1093/gigascience/giab008

13. Sinkov V. Vsink/bsatool: First beta pre-release (Version 0.1). *Zenodo*. 2019. doi: 10.5281/zenodo.3352204

14. Bouckaert R, Heled J, Kühnert D, Vaughan T, Wu CH, Xie D, et al. BEAST 2: A software platform for Bayesian evolutionary analysis. *PLoS Comput Biol*. 2014; 10(4): e1003537. doi: 10.1371/journal.pcbi.1003537

15. Rambaut A, Drummond AJ, Xie D, Baele G, Suchard MA. Posterior summarization in Bayesian phylogenetics using tracer 1.7. *Syst Biol*. 2018; 67(5): 901-904. doi: 10.1093/sysbio/syy032

16. Drummond AJ, Bouckaert RR. *Bayesian evolutionary analysis with BEAST*. Cambridge University Press; 2015.

17. Nguyen LT, Schmidt HA, von Haeseler A, Minh BQ. IQ-TREE: A fast and effective stochastic algorithm for estimating maximum-likelihood phylogenies. *Mol Biol Evol*. 2015; 32(1): 268-274. doi: 10.1093/molbev/msu300

18. Homolka S, Projahn M, Feuerriegel S, Ubben T, Diel R, Nübel U, et al. High resolution discrimination of clinical *Mycobacterium tuberculosis* complex strains based on single nucleotide polymorphisms. *PLoS One*. 2012; 7(7): e39855. doi: 10.1371/journal.pone.0039855

19. Shitikov E, Kolchenko S, Mokrousov I, Bespyatykh J, Ischenko D, Iliina E, et al. Evolutionary pathway analysis and unified classification of East Asian lineage of *Mycobacterium tuberculosis*. *Sci Rep*. 2017; 7(1): 9227. doi: 10.1038/s41598-017-10018-5

20. Napier G, Campino S, Merid Y, Abebe M, Woldeamanuel Y, Aseffa A, et al. Robust barcoding and identification of *Mycobacterium tuberculosis* lineages for epidemiological and clinical studies. *Genome Med*. 2020; 12(1): 114. doi: 10.1186/s13073-020-00817-3

21. Fenner L, Egger M, Bodmer T, Altpeter E, Zwahlen M, Jaton K, et al. Effect of mutation and genetic background on drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2012; 56(6): 3047-3053. doi: 10.1128/AAC.06460-11

22. Andreevskaya SN, Smirnova TG, Andrievskaya IYu, Kiseleva EA, Larionova EE, Sevastyanova EV, et al. The comparative analysis of phenotypic and genotypic drug resistance of *Mycobacterium tuberculosis* isolated from children and adolescents at the hospital of the central TB research institute in 2011-2018. *Vestnik Tsentral'nogo nauchno-issledovatel'skogo instituta tuberkuleza*. 2018; 3: 30-41. (In Russ.). doi: 10.7868/S2587667818030056

23. Jou R, Lee WT, Kulagina EV, Weng JY, Isakova AI, Lin WH, et al. Redefining MDR-TB: Comparison of *Mycobacterium tuberculosis* clinical isolates from Russia and Taiwan. *Infect Genet Evol*. 2019; 72: 141-146. doi: 10.1016/j.meegid.2018.12.031

24. Gopal P, Sarathy JP, Yee M, Ragunathan P, Shin J, Bhushan S, et al. Pyrazinamide triggers degradation of its target aspartate decarboxylase. *Nat Commun*. 2020; 11(1): 1661. doi: 10.1038/s41467-020-15516-1

25. Ergeshov A, Andreevskaya SN, Larionova EE, Smirnova TG, Chernousova LN. The spectrum of mutations in genes associated with resistance to rifampicin, isoniazid, and fluoroquinolones in the clinical strains of *M. tuberculosis* reflects the transmissibility of mutant clones. *Molecular Biology*. 2017; 51(4): 595-602. (In Russ.). doi: 10.1134/S0026893317030049

26. Gómez-González PJ, Perdigo J, Gomes P, Puyen ZM, Santos-Lazaro D, Napier G, et al. Genetic diversity of candidate loci linked to *Mycobacterium tuberculosis* resistance to bedaquiline, delamanid and pretomanid. *Sci Rep*. 2021; 11(1): 19431. doi: 10.1038/s41598-021-98862-4

27. Ushtanit A, Kulagina E, Mikhailova Y, Makarova M, Safonova S, Zimenkov D. Molecular determinants of ethionamide resistance in clinical isolates of *Mycobacterium tuberculosis*. *Antibiotics*. 2022; 11(2): 133. doi: 10.3390/antibiotics11020133

28. Zaunbrecher MA, Sikes RD Jr, Metchock B, Shinnick TM, Posey JE. Overexpression of the chromosomally encoded aminoglycoside acetyltransferase eis confers kanamycin resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2009; 106(47): 20004-20009. doi: 10.1073/pnas.0907925106

Сведения об авторах

Хромова Полина Андреевна – младший научный сотрудник лаборатории эпидемиологически и социально значимых инфекций, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: polina.and38@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-6449-5060>

Жданова Светлана Николаевна – доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории эпидемиологически и социально значимых инфекций, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: svetnii73@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-7160-9700>

Соловьёва Наталья Сергеевна – кандидат медицинских наук, заведующая бактериологической лабораторией, ФГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии» Минздрава России, e-mail: baclab@spbniif.ru

Синьков Вячеслав Владимирович – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории эпидемиологически и социально значимых инфекций, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: vsinkov@yandex.com, <https://orcid.org/0000-0003-3396-9590>

Машарский Алексей Эльвинович – кандидат биологических наук, ведущий специалист, Ресурсный центр «Центр Биобанк», Научный парк, ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», e-mail: alexey.masharsky@spbu.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7647-1034>

Вязовая Анна Александровна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории молекулярной эпидемиологии и эволюционной генетики, ФБУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера», e-mail: annavyazovaya@pasteurorg.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9140-8957>

Мокроусов Игорь Владиславович – доктор биологических наук, заведующий лабораторией молекулярной эпидемиологии и эволюционной генетики, ФБУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера», e-mail: imokrousov@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5924-0576>

Рычкова Любовь Владимировна – доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, директор, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2910-0737>

Колесникова Любовь Ильинична – доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, научный руководитель, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3354-2992>

Журавлев Вячеслав Юрьевич – кандидат медицинских наук, руководитель отдела лабораторных исследований, ФГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии» Минздрава России, e-mail: jouravlev-slava@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6906-6225>

Огарков Олег Борисович – доктор медицинских наук, заведующий отделом эпидемиологии и микробиологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: obogarkov@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3168-1983>

Information about the authors

Polina A. Khromova – Junior Research Officer at the Laboratory of Epidemiologically and Socially Significant Infections, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: polina.and38@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-6449-5060>

Svetlana N. Zhdanova – Dr. Sc. (Med.), Leading Research Officer at the Laboratory of Epidemiologically and Socially Significant Infections, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: svetnii73@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-7160-9700>

Natalya S. Solovieva – Cand. Sc. (Med.), Head of Bacteriological Laboratory, Saint Petersburg Research Institute of Phthisiopulmonology, e-mail: baclab@spbniif.ru

Vyacheslav V. Sinkov – Cand. Sc. (Med.), Senior Research Officer at the Laboratory of Epidemiologically and Socially Significant Infections, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: vsinkov@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-3396-9590>

Alexey E. Masharsky – Cand. Sc. (Med.), Leading Specialist, The Bio-Bank Resource Center, Research Park, Saint Petersburg State University, e-mail: alexey.masharsky@spbu.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7647-1034>

Anna A. Vyazovaya – Cand. Sc. (Biol.), Senior Research Officer at the Laboratory of Molecular Epidemiology and Evolutionary Genetics, Pasteur Saint Petersburg Research Institute of Epidemiology and Microbiology, e-mail: annavyazovaya@pasteurorg.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9140-8957>

Igor V. Mokrousov – Dr. Sc. (Biol.), Head of Molecular Epidemiology and Evolutionary Genetics Laboratory, Saint Petersburg Pasteur Institute, e-mail: imokrousov@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5924-0576>

Lyubov V. Rychkova – Dr. Sc. (Med.), Professor, Corresponding Member of RAS, Director, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2910-0737>

Lyubov I. Kolesnikova – Dr. Sc. (Med.), Professor, Academician of RAS, Academic Director, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3354-2992>

Vyacheslav Yu. Zhuravlev – Cand. Sc. (Med.), Leading Research Officer, Coordinator of Laboratory Diagnostics Direction, Head of Laboratory for Etiological Diagnostics, Saint Petersburg Research Institute of Phthisiopulmonology, e-mail: jouravlev-slava@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6906-6225>

Oleg B. Ogarkov – Dr. Sc. (Med.), Head of the Laboratory of Epidemiologically and Socially Significant Infections, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: obogarkov@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3168-1983>