

ДИСКУССИОННЫЕ СТАТЬИ, ЛЕКЦИИ, НОВЫЕ ТРЕНДЫ МЕДИЦИНСКОЙ НАУКИ

DISCUSSION PAPERS, LECTURES, NEW TRENDS IN MEDICAL SCIENCE

ВЫДЕЛЕНИЕ И ПОЛНОГЕНОМНОЕ СЕКВЕНИРОВАНИЕ ЛИПОФИЛЬНОЙ АНАЭРОБНОЙ БАКТЕРИИ, ПРЕДСТАВИТЕЛЯ ВИДОВОГО КОМПЛЕКСА *CORYNEBACTERIUM TUBERCULOSTEARICUM*, ИЗ ТУБЕРКУЛЁЗНОГО ОЧАГА

РЕЗЮМЕ

Огарков О.Б.¹,
Суздальницкий А.Е.^{2,3},
Кондратов И.Г.¹,
Букин Ю.С.⁴,
Орлова Е.А.¹,
Синьков В.В.¹,
Жданова С.Н.¹,
Белькова Н.Л.¹,
Рычкова Л.В.¹,
Колесникова Л.И.¹

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

² ОГБУЗ «Иркутская областная клиническая туберкулёзная больница» (664039, г. Иркутск, ул. Терешковой, 39, Россия)

³ ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России (664003, г. Иркутск, ул. Красного Восстания, 1, Россия)

⁴ ФГБУН Лимнологический институт Сибирского отделения Российской академии наук (664033, г. Иркутск, ул. Улан-Баторская, 3, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Огарков Олег Борисович,
e-mail: obogarkov@mail.ru

Обоснование. Исследование микробиома нижних дыхательных путей активно развивается последние несколько лет за счёт применения методов полногеномного секвенирования (WGS, whole genome sequencing). Благодаря этому стало понятно, что природа микробиоты лёгких сильно отличается от других микробных сообществ, населяющих тело человека. Одним из важных направлений исследования патологических биоценозов в лёгких является изучение роли сателлитной микробиоты туберкулёзного очага.

Цель работы. Выделение и характеристика толерантных к кислороду анаэробов из некротического содержимого туберкулом.

Материалы и методы. Биопсийный материал от 5 больных туберкулёзом лёгких был получен в процессе плановой операции по иссечению туберкулом. Из одного образца при анаэробном культивировании была выделена чистая культура. Липазную активность штамма определяли посевом на сердечно-мозговой агар (HIMEDIA, Индия) с добавлением 0,1 % Tween-80 и 10 мМ CaCl₂. Чувствительность к антибиотикам определялась в RAPMYCO и SLOWMYCO TREK Diagnostic Systems (Thermo Fisher Scientific, США). ДНК из осадка бульонной культуры выделяли СТАВ-хлороформным методом. Полногеномное секвенирование осуществлено на NGS-секвенаторе DNBSeg-G400 компанией «Геномед» (Россия).

Результаты. По результатам WGS и по данным филогенетического анализа штамм был идентифицирован как *Corynebacterium kefirresidentii*. Штамм характеризовался высокой липазной активностью и устойчивостью только к изониазиду, этионамиду и триметоприму/сульфаметоксазолу.

Заключение. Выделение из туберкулёзного очага липофильного анаэробного представителя видового комплекса *Corynebacterium tuberculostearicum* свидетельствует о возможной роли нетуберкулёзной микробиоты в процессах разжижения казеозного некроза. Нами выдвигается гипотеза о том, что внутри туберкулёзного очага в некоторых случаях создаются благоприятные условия для развития вторичной анаэробной липофильной микробиоты.

Ключевые слова: микробиом туберкулёзного очага, туберкулома, WGS, *Corynebacterium kefirresidentii*

Для цитирования: Огарков О.Б., Суздальницкий А.Е., Кондратов И.Г., Букин Ю.С., Орлова Е.А., Синьков В.В., Жданова С.Н., Белькова Н.Л., Рычкова Л.В., Колесникова Л.И. Выделение и полногеномное секвенирование липофильной анаэробной бактерии, представителя видового комплекса *Corynebacterium tuberculostearicum*, из туберкулёзного очага. *Acta biomedica scientifica*. 2023; 8(4): 12-19. doi: 10.29413/ABS.2023-8.4.2

Статья поступила: 31.05.2023

Статья принята: 08.08.2023

Статья опубликована: 28.09.2023

ISOLATION AND WHOLE GENOME SEQUENCING OF A LIPOPHILIC ANAEROBIC BACTERIUM, A REPRESENTATIVE OF THE SPECIES COMPLEX *CORYNEBACTERIUM TUBERCULOSTEARICUM*, FROM A TUBERCULOSIS FOCUS

Ogarkov O.B.¹,
 Suzdalnitsky A.E.^{2,3},
 Kondratov I.G.¹,
 Bukin Yu.S.⁴,
 Orlova E.A.¹,
 Sinkov V.V.¹,
 Zhdanova S.N.¹,
 Belkova N.L.¹,
 Rychkova L.V.¹,
 Kolesnikova L.I.¹

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

² Irkutsk Regional Clinical Tuberculosis Hospital (Tereshkovoy str. 59, Irkutsk 664039, Russian Federation)

³ Irkutsk State Medical University (Krasnogo Vosstaniya str. 1, Irkutsk 664003, Russian Federation)

⁴ Limnological Institute of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences (Ulan-Batorskaya str. 3, Irkutsk 664033, Russian Federation)

Corresponding author:
Oleg B. Ogarkov,
 e-mail: obogarkov@mail.ru

ABSTRACT

Background. The study of the lower respiratory tract microbiome has been actively developed in recent years with the help of whole genome sequencing (WGS) methods. Due to this, it became clear that the nature of the lungs microbiota is very different from other microbial communities inhabiting the human body. One of the important directions in the study of pathological lungs biocenosis is the study of the role of the satellite microbiota of the tuberculosis focus.

The aim of the work. To isolate and characterize oxygen-tolerant anaerobes from the necrotic contents of tuberculomas.

Materials and methods. Biopsy material from 5 patients with pulmonary tuberculosis was obtained during a planned surgical treatment of tuberculoma. A pure culture was isolated from one sample during anaerobic cultivation. Lipase activity of strain was determined by plating on brain heart infusion agar (HIMEDIA, India) supplemented with 0.1 % Tween-80 and 10 mM of CaCl₂. Antibiotic susceptibility was determined by RAPMYCO u SLOWMYCO of TREK Diagnostic Systems (Thermo Fisher Scientific, USA). DNA from the sediment of the broth culture was isolated by the CTAB chloroform method. Whole genome sequencing was performed on a DNBSeg-G400 NGS sequencer by Genomed (Russia).

Results. Based on WGS results and phylogenetic analysis, the strain was identified as *Corynebacterium kefirresidentii*. The strain was characterized by high lipase activity and resistance only to Isoniazid, Ethionamide and Trimethoprim/Sulfamethoxazolin.

Conclusion. The isolation of a lipophilic anaerobic representative of the *Corynebacterium tuberculostearicum* species complex from a tuberculous focus indicates a possible role of the non-tuberculous microbiota in the liquefaction of caseous necrosis. We assumed that in some cases, favorable conditions are created inside the tuberculous focus for the development of satellite anaerobic lipophilic microbiota.

Key words: microbiome of tuberculosis focus, tuberculoma, WGS, *Corynebacterium kefirresidentii*

For citation: Ogarkov O.B., Suzdalnitsky A.E., Kondratov I.G., Bukin Yu.S., Orlova E.A., Sinkov V.V., Zhdanova S.N., Belkova N.L., Rychkova L.V., Kolesnikova L.I. Isolation and whole genome sequencing of a lipophilic anaerobic bacterium, a representative of the species complex *Corynebacterium tuberculostearicum*, from a tuberculosis focus. *Acta biomedica scientifica*. 2023; 8(4): 12-19. doi: 10.29413/ABS.2023-8.4.2

Received: 31.05.2023
 Accepted: 08.08.2023
 Published: 28.09.2023

Природа микробиоты глубоких отделов лёгких сильно отличается от других микробных сообществ человеческого тела, например, кишечной микробиоты и даже микробиоты верхних дыхательных путей (ВДП), которые значительно более колонизированы бактериями по сравнению с нижними дыхательными путями (НДП). В целом микробиота здоровых лёгких характеризуется низкой биомассой и динамическим разнообразием [1]. В дыхательных путях для микроорганизмов создаются олиготрофные условия обитания по сравнению с богатой средой желудочно-кишечного тракта. ВДП колонизированы бактериальными, вирусными и грибковыми сообществами, являющимися основным источником микробиоты для нижних отделов лёгких. У здоровых людей микробиота лёгких, по-видимому, в основном состоит из транзитных микроорганизмов, и её состав определяется балансом между микробной иммиграцией и элиминацией [2]. Несмотря на транзитность микробиоты ВДП, не исключено, что её состав оказывает протективное воздействие на патогены, предотвращая их проникновение в нижние отделы лёгких [2]. Целесообразность поддержания низкого бактериального обсеменения в глубоких отделах лёгких определяется необходимостью обеспечить эффективный газообмен в альвеолах [1]. Поэтому глубокие отделы лёгких имеют в сотни и тысячи раз более низкую бактериальную нагрузку, чем ВДП. Микробная биомасса составляет всего 10^3 – 10^5 колониеобразующих единиц на 1 г лёгочной ткани (КОЕ/г) млекопитающих [3] или примерно $2,2 \times 10^3$ бактериальных генома на 1 см² поверхности лёгких человека [4]. Для сравнения: нижние отделы желудочно-кишечного тракта человека населены 10^{11} – 10^{12} КОЕ/г ткани [5]. В микробиоте ВДП взрослого человека преобладают разнообразные представители родов *Prevotella*, *Veillonella*, *Streptococcus*, *Leptotrichia*, *Rothia*, *Neisseria*, *Haemophilus*, *Moraxella*, *Staphylococcus*, *Corynebacterium*, *Fusobacterium* и др. [6]. Ранее проведённые нами исследования [7] свидетельствуют о том, что микробиота туберкулёзного очага делится как минимум на 2 типа сообществ: 1) микобактериальная казеома (туберкулома), в которой более 70 % геномов относятся к микобактериям туберкулёза; 2) полибактериальное сообщество, в котором концентрация микобактерий туберкулёза варьирует от 0 до 30 %. По нашим данным, клинические

штаммы *Mycobacterium tuberculosis* в большинстве своём не способны образовывать биоплёнки [8], в то же время в эксперименте *in vitro* возбудитель туберкулёза значительно увеличивал свою численность в составе полимикробного биофильма [9]. Другими словами, исследование полимикробных сообществ казеозного содержимого может пролить свет на микробную составляющую патологических процессов, протекающих в центре туберкулёзного очага.

Гранулёма (туберкулома) была признана ведущей патологией при туберкулёзе лёгких уже более 100 лет назад [10]. Современное определение туберкуломы (казеомы) лёгкого – объёмное казеозно-некротическое образование, ограниченное от прилегающей ткани капсулой [11]. В рамках настоящего исследования нами постулируется гипотеза о том, что формирование микробиоты туберкулёзного очага происходит по причине неустойчивости, компартментализации и транзитного характера микробных сообществ в лёгких. При этом следует учитывать, что условия, создаваемые иммунной системой больного в туберкулёзном очаге, образование капсулы и творожистая некротизация содержимого с преобладанием липидов [12] должны избирательно стимулировать развитие анаэробных микроорганизмов, способных размножаться за счёт утилизации липидов. Возбудитель туберкулёза при этих условиях размножаться не способен и выживает в большинстве случаев в покоящемся состоянии [10].

Исходя из вышесказанного, **цель настоящего исследования** заключалась в выделении и характеристике толерантных к кислороду анаэробов из некротического содержимого туберкулома.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование одобрено Этическим комитетом ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (протокол № 4 от 16.11.2020).

Биопсийный материал от 5 больных туберкулёзом лёгких был получен в процессе плановой операции по иссечению туберкулома в ОГБУЗ «Иркутская областная клиническая туберкулёзная больница» (ИОКТБ) в 2022 г (табл. 1).

ТАБЛИЦА 1
ХАРАКТЕРИСТИКА ИССЛЕДОВАННЫХ ОБРАЗЦОВ

№ образца	Пол	Год рождения	Диагноз КТ	Доля, размер очага КТ (мм)	Кальцинация
2201	Ж	1995	Туберкулома нижней доли левого лёгкого с распадом	S6; до 18	Есть
2202	Ж	1979	Туберкулома верхней доли левого лёгкого в фазе обсеменения	S1; до 21	Есть
2203	М	1993	Туберкулома верхней доли правого лёгкого в фазе обсеменения	S1,2; до 30	Есть
2204	Ж	1986	Туберкулома нижней доли правого лёгкого в фазе обсеменения	S6; до 19	Нет
2208	Ж	1984	Туберкулома нижней доли правого лёгкого в фазе обсеменения	S6; до 43	Нет

Примечание. КТ – компьютерная томография.

TABLE 1
CHARACTERISTICS OF THE EXAMINED SAMPLES

Казеозное содержимое очагов вырезалось из операционного биоптата стерильным одноразовым скальпелем в условиях бактериологической лаборатории туберкулёзного стационара и засеивалось в 5 мл бульона LB под стерильное вазелиновое масло в объёме 1–2 г на пробирку. Через 2 недели произведён рассев 0,1 мл LB-бульона на LB-агар. Инкубацию чашек проводили в анаэроостате с газогенерирующими пакетами «Анаэрогаз» (ИНКО, Россия). Изолированные колонии высевали в 5 мл бульона LB под стерильное вазелиновое масло для накопления биомассы. Чувствительность к антибиотикам определялась с помощью тест-систем TREK Diagnostic Systems (Thermo Fisher Scientific, США): RAPMYCO для быстрорастущих микобактерий и SLOWMYCO для медленно растущих микобактерий, – по протоколу производителя. Оценку устойчивости или чувствительности в зависимости от минимальных ингибирующих концентраций (МИК) проводили в соответствии с международными рекомендациями [13]. В качестве бульона для разведения культуры использовали сердечно-мозговой бульон (HIMEDIA, Индия), инкубацию производили при 37 °C в течение трёх дней в анаэроостате с газогенерирующими пакетами «Анаэрогаз» (ИНКО, Россия).

Липазную активность определяли посевом на сердечно-мозговой агар (HIMEDIA, Индия) с добавлением 0,1 % Tween-80 и 10 мМ CaCl₂ (конечные концентрации). После инкубации при 37 °C в течение трёх суток в анаэроостате с газогенерирующими пакетами «Анаэрогаз» (ИНКО, Россия) чашки инкубировали в течение суток при 4 °C. О наличии экзогенной липазной активности судили по образованию «гало» нерастворимых кальциевых солей свободных жирных кислот в толще агара вокруг колоний. ДНК из осадка бульонной культуры выделяли СТАВ-хлороформным методом, как описано ранее [14]. Полногеномное секвенирование осуществлено на NGS-секвенаторе DNBSec-G400 компанией «Геномед» (Россия). Первичные последовательности генома размещены в Национальном центре биотехнологической информации США (NCBI, National Center for Biotechnology Information), проект PRJNA971334.

Сборку геномных прочтений в скаффолды проводили с помощью программы Spades v. 3.11.1 [15]. Геномная аннотация и идентификация генов, кодирующих 16S рРНК и 23S рРНК исследуемого штамма 2204 в сборке, проводилась с помощью программного пакета SqueezeMeta [16]. Поиск ближайших штаммов и видов бактерий с расшифрованными полными геномами проводился с помощью Type (Strain) Genome Server¹ по алгоритму «полногеномной гибридизации» штаммов *in silico* [17]. Из полных геномов идентифицированных близкородственных штаммов (*Corynebacterium kefirresidentii* SB, *Corynebacterium tuberculostearicum* DSM, *Corynebacterium curieae* c8Ua, *Corynebacterium yonathiae* c21Ua, *Corynebacterium marquesiae* c19Ua) по информации из аннотации NCBI выделялись кассеты генов 16S рРНК и 23S рРНК. Последовательности генов 16S рРНК и 23S рРНК выравнивались в программе MAFFT v. 7 [18] и использовались для расчётов генетических дистанций и определения видовой принадлежности штамма 2204 филогенетическим мето-

дом (ML-метод; программа IQTREE v. 2 [19] с оценкой поддержек топологии дерева методом «ultrafast bootstrap» – 1000 реплик). Порогом видовой идентичности по полному гену 16S рРНК считали 99 % [20].

РЕЗУЛЬТАТЫ

Выделение и микробиологическая характеристика культуры

Поиск литературных источников, позволяющих помочь в разработке методов культивирования сателлитной микробиоты туберкулёзного очага, как в русскоязычной, так и в англоязычной литературе не привёл к каким-либо существенным результатам. Например, нулевой результат имел поиск по ключевым словам в PubMed «caseum + tuberculosis + cultivation + microbiota». Поиск в варианте «caseum + tuberculosis + cultivation» нашёл 20 публикаций, однако ни одна из них не относилась к данной теме. Исходя из этого было принято решение произвести анаэробное культивирование в максимально стандартизованных условиях – LB-бульон под вазелиновым маслом.

В результате инкубации в течение 2 недель, в одной из пяти пробирок был обнаружен выраженный рост в жидкой LB-среде в виде помутнения всей толщи и осадка на поверхности биоптата. Рассев 0,1 мл всех пяти бульонных культур на LB-агар с последующей инкубацией в анаэроостате только в одном случае дал видимый рост на чашках Петри.



РИС. 1. Липазная активность штамма 2204. Вокруг бактериального роста наблюдается ореол, свидетельствующий о высокой липазной активности выделенного штамма

FIG. 1. Lipase activity of strain 2204. A halo is observed around the bacterial growth, indicating a high lipase activity of the isolated strain

¹ <https://tygs.dsmz.de>

ТАБЛИЦА 2
ТЕСТИРОВАНИЕ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ
ШТАММА 2204 К ПРОТИВОТУБЕРКУЛЁЗНЫМ
И ПРОТИВОМИКОБАКТЕРИАЛЬНЫМ ПРЕПАРАТАМ
С ОПРЕДЕЛЕНИЕМ МИК

TABLE 2
TESTING OF THE SUSCEPTIBILITY OF STRAIN 2204
TO ANTITUBERCULOSIS AND ANTIMYCOBACTERIAL
DRUGS WITH DETERMINATION OF MINIMUM INHIBITORY
CONCENTRATIONS

№	Антибиотики	МИК (мкг/мл)	Результат
1	Clarithromycin	0,06	Susceptibility
2	Rifabutin	0,25	Susceptibility
3	Ethambutol	4,0	Susceptibility
4	Isoniazid	> 8	Resistance
5	Moxyfloxacin	0,12	Susceptibility
6	Rifampin	0,12	Susceptibility
7	Trimethoprim/Sulfamethoxazolin	4/76	Resistance
8	Amikacin	1,0	Susceptibility
9	Linezolid	1,0	Susceptibility
10	Ciprofloxacin	0,12	Susceptibility
11	Streptomycin	4	Susceptibility
12	Doxycycline	0,25	Susceptibility
13	Ethionamide	> 20	Resistance
14	Cefoxitin	4,0	Susceptibility
15	Tigecyclin	0,25	Susceptibility*
16	Imipenem	2,0	Susceptibility
17	Cefepime	1,0	Susceptibility
18	Amoxicillin/Clavulanic acid	2,0/1,0	Susceptibility
19	Ceftriaxon	4,0	Susceptibility
20	Minociclin	1,0	Susceptibility
21	Tobramicin	1,0	Susceptibility

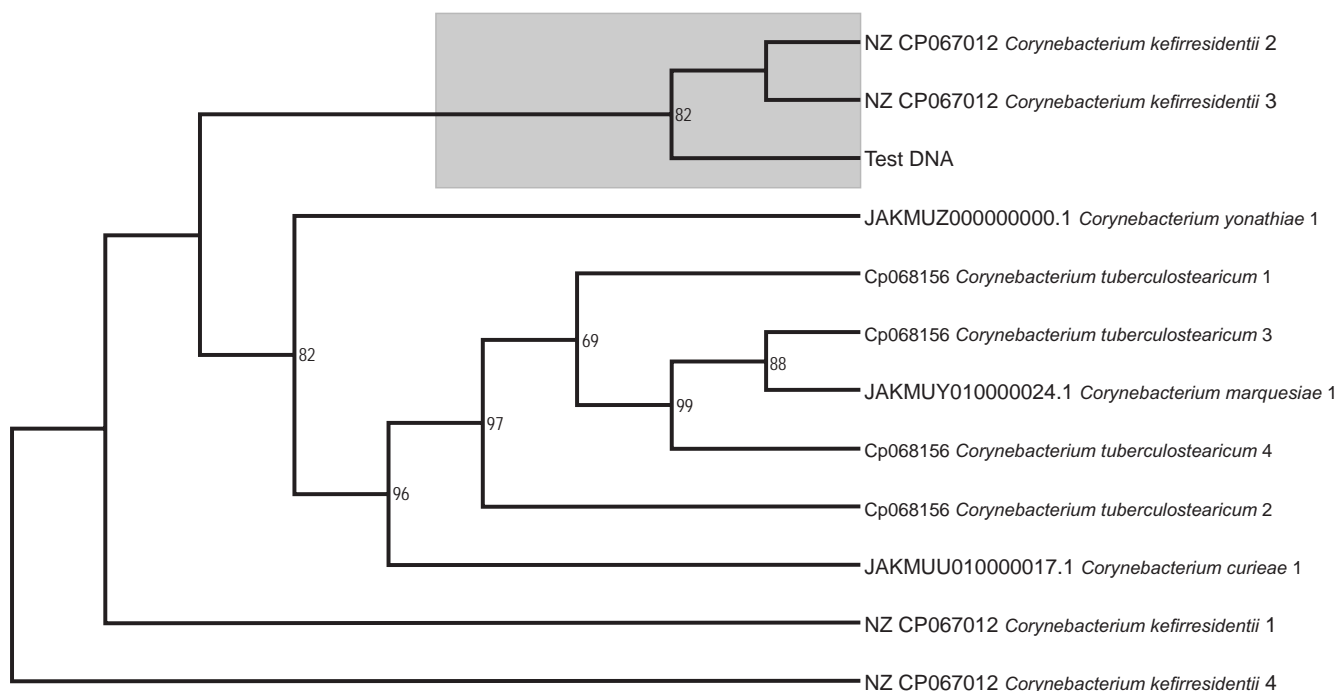
Примечание. * – ожидаемый результат (международные стандарты по необходимой и достаточной МИК отсутствуют).

Как видно из рисунка 1 и таблицы 2, выделенный штамм 2204 характеризовался высокой липазной активностью и относительно небольшим спектром устойчивости к противотуберкулёзным и противомикобактериальным препаратам первого ряда.

Полногеномное секвенирование и определение видовой принадлежности штамма 2204

Первичные короткие прочтения были реорганизованы в 6 скаффолдов с общей длиной 2 428 638 пар нуклеотидов, среди которых было обнаружено 4 касеты генов рибосомального оперона 16S рРНК – ITS – 23S рРНК. Анализ по алгоритму «полногеномной гибридизации» штаммов *in silico* для штамма 2204 выделил 5 наиболее близких референсных геномов базы данных NCBI: *Corynebacterium kefirresidentii* SB; *Corynebacterium tuberculostearicum* DSM; *Corynebacterium curieae* c8Ua; *Corynebacterium yonathiae* c21Ua; *Corynebacterium*

marquesiae c19Ua. Длина генома штамма 2204 соответствовала длинам геномов близкородственных штаммов (длины от 2 348 605 до 2 830 499 пар нуклеотидов). Полнота расшифровки генома штамма 2204 по наличию всех необходимых однокопийных генов составила 99,49 %. Последовательности генов 16S рРНК и 23S рРНК всех вышеуказанных геномов были использованы для филогенетической идентификации штамма 2204. На рисунке 2 приведено полученное филогенетическое древо с вышеуказанными нуклеотидными последовательностями. Затенённый куст содержит тестируемую нуклеотидную последовательность штамма 2204. Расчёт количества нуклеотидных замен относительно ближайших таксонов показал более чем 99%-ю идентичность штаммов (0,004 % замен). В соответствии с наиболее строгими на сегодняшний день критериями, порогом видовой идентичности по полному гену 16S рРНК следует считать 99 % [20]. Таким образом, выделенный штамм

**РИС. 2.**

Филогенетические взаимоотношения штамма 2204 с референсными видами. В основании узлов приведены bootstrap-значения поддержки ветвления. Затенённый куст содержит тестируемую нуклеотидную последовательность штамма 2204

Fig. 2.

Phylogenetic relationships of strain 2204 with reference species. At the bottom of the nodes there are the bootstrap support values for branching. The shaded bush contains the tested nucleotide sequence of strain 2204

может быть однозначно идентифицирован как вид *Corynebacterium kefirresidentii*.

ОБСУЖДЕНИЕ

Род *Corynebacterium* грамположительных палочковидных бактерий принадлежит к большому семейству Corynebacteriaceae, впервые был предложен Lehmann и Neumann в 1896 г. и в настоящее время насчитывает 177 видов, некоторые из которых представляют медицинский, ветеринарный или биотехнологический интерес [21]. Виды этого рода широко распространены и являются потенциально патогенными – в первую очередь *C. diphtheria*. Коринабактерии являются доминирующим членом микробиоты кожи человека. Бактерии рода *Corynebacterium* составляют 30 % от общего числа бактериальных обитателей кожи человека [22]. Наиболее распространённые виды, обитающие на коже, представлены липофильными *Corynebacterium tuberculostearicum*, *Corynebacterium kefirresidentii* и *Corynebacterium aurimucosum* тип E, которые образуют узкий видовой комплекс [23]. Интересно, что впервые *C. tuberculostearicum* были выделены из очаговых поражений кожи при лепре [23]. Важной особенностью этой группы видов является отсутствие способности к биосинтезу жирных кислот *de novo* [24], при этом наблюдается способность к продукции специ-

фических миколовых кислот, отчасти сходных с таковыми, продуцируемыми микобактериями. Особенности липидного обмена может объясняться лекарственная устойчивость к изониазиду и этионамиду (табл. 2), поскольку у этой группы коринебактерий отсутствует ген *InhA* [24, 25]. Другими словами, устойчивость к двум противотуберкулёзным препаратам – изониазиду и этионамиду – у этой группы коринебактерий носит конститутивный характер.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Выделение из туберкулёзного очага липофильного анаэробного представителя узкого видового комплекса *C. tuberculostearicum* вместе с результатами ранее проведённых нами исследований [7] свидетельствует о возможной роли нетуберкулёзной микробиоты в процессах разжижения казеозного некроза. Это имеет важное значение для понимания патологических механизмов формирования туберкулёзных очагов на поздних стадиях инфекции. Нами выдвигается гипотеза о том, что формирование микробиоты туберкулёзного очага происходит по причине неустойчивости, компартментализации и транзитного характера микробных сообществ в лёгких. Однако условия внутри туберкулёзного очага создают благоприятные условия для развития вторичной анаэробной липофильной

микробиоты. По всей видимости, представители видо-вого комплекса *C. tuberculostearicum* могут играть нега-тивную роль в патологических процессах внутри анаэ-робной туберкуломы, возможно, провоцируя процес-сы в разжижении казеозных масс.

Источник финансирования

Исследование выполнено за счёт гранта Российско-го научного фонда (проект № 23-15-00280).

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии кон-фликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Natalini JG, Singh S, Segal LN. The dynamic lung microbiome in health and disease. *Nat Rev Microbiol.* 2023; 21: 222-235. doi: 10.1038/s41579-022-00821-x
- Man W, de Steenhuijsen Piters W, Bogaert D. The microbiota of the respiratory tract: Gatekeeper to respiratory health. *Nat Rev Microbiol.* 2017; 15: 259-270. doi: 10.1038/nrmicro.2017.14
- Remot A, Descamps D, Noordine ML, Boukadiri A, Mathieu E, Robert V, et al. Bacteria isolated from lung modulate asthma susceptibility in mice. *ISME J.* 2017; 11(5): 1061-1074. doi: 10.1038/ismej.2016.181
- Hilty M, Burke C, Pedro H, Cardenas P, Bush A, Bossley C, et al. Disordered microbial communities in asthmatic airways. *PLoS One.* 2010; 5(1): e8578. doi: 10.1371/journal.pone.0008578
- Guarner F, Malagelada JR. Gut flora in health and disease. *Lancet.* 2003; 361(9356): 512-519. doi: 10.1016/S0140-6736(03)12489-0
- de Steenhuijsen Piters WAA, Binkowska J, Bogaert D. Early life microbiota and respiratory tract infections. *Cell Host Microbe.* 2020; 12: 28(2): 223-232. doi: 10.1016/j.chom.2020.07.004
- Orlova EA, Ogarkov OB, Suzdalnitskiy AE, Khromova PA, Sinkov VV, Plotnikov AO, et al. Analysis of microbial diversity in caseous necrosis of tuberculosis foci. *Mol Genet Microbiol Virol.* 2021; (36): 132-138. doi: 10.3103/S0891416821030058
- Огарков О.Б., Суздальницкий А.Е., Хромова П.А., Цыренова Т.А., Сокольникова Н.А., Жданова С.Н., и др. Продукция биофильмов клиническими штаммами возбудителя туберкулеза. Инфекция и иммунитет. 2018; 8(4): 435-440. [Ogarkov OB, Suzdalnitskiy AE, Khromova PA, Tsyrenova TA, Sokolnikova NA, Zhdanova SN, et al. Biofilm formation induced by clinical isolates of mycobacterium tuberculosis. *Russian Journal of Infection and Immunity.* 2018; 8(4): 435-440. (In Russ.)]. doi: 10.15789/2220-7619-2018-4-435-440
- Ogarkov OB, Badleeva V, Belkova NL, Adelshin RV, Tsyrenova TA, Khromova PA, et al. The phenomenon of the formation of biofilms by *Brevibacillus* spp. and *Bacillus* spp. in the presence of clinical strains of *Mycobacterium tuberculosis*. *Mol Genet Microbiol Virol.* 2017; (32): 148-154. doi: 10.3103/S0891416817030065
- Cronan MR. In the thick of it: Formation of the tuberculous granuloma and its effects on host and therapeutic responses. *Front Immunol.* 2022; 7(13): 820134. doi: 10.3389/fimmu.2022.820134
- Холодок О.А., Григоренко А.А., Черемкин М.И. Туберкулема легкого как форма туберкулезного процесса. Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2014; (53): 126-131. [Kholodok OA, Grigorenko AA, Cheryemkin MI. Pulmonary tuberculoma as a form of tuberculous process. *Bulletin Physiology and Pathology of Respiration.* 2014; (53): 126-131. (In Russ.)].
- Russell DG, Cardona PJ, Kim MJ, Allain S, Altare F. Foamy macrophages and the progression of the human tuberculosis granuloma. *Nat Immunol.* 2009; 10(9): 943-948. doi: 10.1038/ni.1781
- Brown-Elliott BA, Woods GL. Antimycobacterial susceptibility testing of nontuberculous mycobacteria. *J Clin Microbiol.* 2019; 57(10): e00834-19. doi: 10.1128/JCM.00834-19
- Медведева Т.В., Огарков О.Б., Некипелов О.М., Ушаков И.В., Козьякова Е.С., Скворцова Р.Г. MIRU-VNTR-генотипирование штаммов *Mycobacterium tuberculosis* в Восточной Сибири: семейство Beijing против Kilimanjaro. Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. 2004; (4): 33-38. [Medvedeva TV, Ogarkov OB, Nekipelova OM, Ushakov IV, Kozyakova ES, Skvortsova RG. MIRU-VNTR genotyping of *Mycobacterium tuberculosis* strains from East Siberia: Beijing family versus Kilimanjaro family. *Molecular Genetics, Microbiology and Virology.* 2004; (4): 33-38. (In Russ.)].
- Prjibelski A, Antipov D, Meleshko D, Lapidus A, Korobeynikov A. Using SPAdes de novo assembler. *Curr Prot Bioinform.* 2020; 70(1): e102. doi: 10.1002/cpbi.102
- Tamames J, Puente-Sánchez F. SqueezeMeta, a highly portable, fully automatic metagenomic analysis pipeline. *Front Microbiol.* 2019; 9: 3349. doi: 10.3389/fmicb.2018.03349
- Meier-Kolthoff JP, Auch AF, Klenk HP, Göker M. Genome sequence-based species delimitation with confidence intervals and improved distance functions. *BMC Bioinformatics.* 2013; 14: 1-14. doi: 10.1186/1471-2105-14-60
- Katoh K, Standley DM. MAFFT multiple sequence alignment software version 7: Improvements in performance and usability. *Mol Biol Evol.* 2013; 30(4): 772-780. doi: 10.1093/molbev/mst010
- Minh BQ, Schmidt HA, Chernomor O, Schrempf D, Woodhams MD, von Haeseler A, et al. IQ-TREE 2: New models and efficient methods for phylogenetic inference in the genomic era. *Mol Biol Evol.* 2020; 37(5): 1530-1534. doi: 10.1093/molbev/msaa015
- Edgar RC. Updating the 97% identity threshold for 16S ribosomal RNA OTUs. *Bioinformatics.* 2018; 34(14): 2371-2375. doi: 10.1093/bioinformatics/bty113
- Boxberger M, Antezack A, Magnien S, Cassir N, La Scala B. Complete genome and description of *Corynebacterium incognita* sp. nov.: A new bacterium within the *Corynebacterium* genus. *New Microbes New Infect.* 2021; 42: 100893. doi: 10.1016/j.nmni.2021.100893
- Council SE, Savage AM, Urban JM, Ehlers ME, Skene JH, Platt ML, et al. Diversity and evolution of the primate skin microbiome. *Proc Biol Sci.* 2016; 283(1822): 20152586. doi: 10.1098/rspb.2015.2586
- Salamzade R, Swaney MH, Kalan LR. Comparative genomic and metagenomic investigations of the *Corynebacterium tuberculostearicum* species complex reveals potential mechanisms underlying associations to skin health and disease. *Microbiol Spectr.* 2023; 11(1): e0357822. doi: 10.1128/spectrum.03578-22

24. Dover LG, Thompson AR, Sutcliffe IC, Sangal V. Phylogenetic reappraisal of fatty acid biosynthesis, mycolic acid biosynthesis and clinical relevance among members of the genus *Corynebacterium*. *Front Microbiol.* 2021; 12: 802532. doi: 10.3389/fmicb.2021.802532

25. Morlock GP, Metchock B, Sikes D, Crawford JT, Cooksey RC. *ethA*, *inhA*, and *katG* loci of ethionamide-resistant clinical *Mycobacterium tuberculosis* isolates. *Antimicrob Agents Chemother.* 2003; 47(12): 3799-3805. doi: 10.1128/AAC.47.12.3799-3805.2003

Сведения об авторах

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

Судальницкий Алексей Евгеньевич – торакальный хирург, заведующий хирургическим отделением, ОГБУЗ «Иркутская областная клиническая туберкулезная больница»; ассистент кафедры фтизиопульмонологии, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: irksae@mail.ru

Кондратов Илья Геннадьевич – кандидат биологических наук, научный сотрудник отдела эпидемиологии и микробиологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: kondratovig@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2631-4724>

Букин Юрий Сергеевич – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, ФГБУН Лимнологический институт Сибирского отделения Российской академии наук, e-mail: bukinyura@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4534-3846>

Орлова Елизавета Андреевна – младший научный сотрудник лаборатории эпидемиологически и социально-значимых инфекций, аспирант, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: elizaveta.a.orlova@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-2169-0242>

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@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-3396-9590>

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: svetnii@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7160-9700>

Белькова Наталья Леонидовна – кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник, заведующая лабораторией микробиома и микроэкологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: nlbelkova@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-9720-068X>

Рычкова Любовь Владимировна – доктор медицинских наук, член-корреспондент РАН, директор, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0117-2563>

Колесникова Любовь Ильинична – доктор медицинских наук, 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>

Information about the authors

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

Alexey E. Sudalnitckiy – Thoracic Surgeon, Head of the Surgical Department, Irkutsk Regional Clinical Tuberculosis Hospital; Teaching Assistant at the Department of Phthiopulmonology, Irkutsk State Medical University, e-mail: irksae@mail.ru

Ilya G. Kondratov – Research Officer at the Department of Epidemiology and Microbiology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: kondratovig@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2631-4724>

Yurij S. Bukin – Senior Research Officer, Limnological Institute of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, e-mail: bukinyura@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4534-3846>

Elizaveta A. Orlova – Junior Research Officer at the Laboratory of Epidemically and Socially Significant Infections, Postgraduate, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: elizaveta.a.orlova@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-2169-0242>

Vyacheslav V. Sinkov – Cand. Sc. (Med.), Senior Research Officer at the Laboratory of Epidemically 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>

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

Natalia L. Belkova – Cand. Sc. (Biol.), Leader Research Officer at the Laboratory of Microbiome and Microecology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: nlbelkova@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-9720-068X>

Lyubov V. Rychkova – Dr. Sc. (Med.), Corresponding Member of the RAS, Director, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0117-2563>

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