

ISSN 1561-8323 (Print)
ISSN 2524-2431 (Online)

МЕДИЦИНА
MEDICINE

УДК 616.24-002.5-002.5[576.8:579.716.5]
<https://doi.org/10.29235/1561-8323-2023-67-3-231-241>

Поступило в редакцию 19.09.2022
Received 19.09.2022

**В. В. Слипень¹, А. Э. Охремчук², Л. К. Суркова¹,
член-корреспондент Г. Л. Гуревич¹, академик Л. П. Титов³**

¹Республиканский научно-практический центр пульмонологии и фтизиатрии,
Минск, Республика Беларусь

²Институт микробиологии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь

³Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии,
Минск, Республика Беларусь

**ХАРАКТЕРИСТИКА ГЕНОМА *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS*
ГЕНОТИПА BEIJING КЛАСТЕРА 100-32 С ПРЕ-ШИРОКОЙ
ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТЬЮ**

Аннотация. Проведено полногеномное секвенирование штамма *M. tuberculosis* 11502 (база биообразцов NCBI, код доступа SAMN17832565), отнесенного, на основании структуры MIRU-VNTR локусов ($n = 24$), к генотипу Beijing подтипу B0/W148 кластеру 100-32 и проявлявшего пре-широкую лекарственную устойчивость. Штамм *M. tuberculosis* 11502 был резистентен к изониазиду, рифампицину, этамбутолу, левофлоксацину, этионамиду, что коррелировало с присутствием в резистоме мутаций в соответствующих генах: к рифампицину – мутации в генах *rpoB* (p.S450L), *rpoC* (p.I491T), к изониазиду – в промоторе гена *fabG1* (g.-8T>C), промоторе *katG* (p.S315T), к этионамиду – в *ethA* (делеция T в положении 4 335 027 (gatgc-gagc)); к фторхинолонам – в гене *gyrA* (p.D94G); к этамбутолу – в *embB* (p.M306I), к стрептомицину – в *rpsL* (p.K43R). Геном *M. tuberculosis* 11502 (код доступа GenBank NCBI – CP070338) содержит 4 420 561 пару оснований, 4 104 гена, 4 053 кодирующие последовательности (кодирующие белки – 3 874) и отличается от референтного штамма *M. tuberculosis* H37Rv присутствием 2 055 мутаций, при этом зарегистрирован незначительный дрейф мутаций в сторону накопления G+C, что свидетельствует о важности поддержания высокого содержания G+C в геноме микобактерий. Геном *M. tuberculosis* 11502 имеет большее количество мутаций в сравнении с ранее секвенированным штаммом *M. tuberculosis* 4860 (код доступа в GenBank, NCBI: CP053092.1), относящимся к генотипу LAM (2055 против 1577 мутаций), что может быть результатом более длительной или более активной циркуляции *M. tuberculosis* 11502, или существования биологических особенностей, обеспечивающих про-мутагенный эффект.

Ключевые слова: геном микобактерий туберкулеза, генотип Beijing подтип B0/W148, кластер 100-32, пре-широкая лекарственная устойчивость

Для цитирования. Характеристика генома *Mycobacterium tuberculosis* генотипа Beijing кластера 100-32 с пре-широкой лекарственной устойчивостью / В. В. Слипень [и др.] // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2023. – Т. 67, № 3. – С. 231–241. <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2023-67-3-231-241>

**Veronika V. Slizen¹, Artur E. Akhremchuk², Larissa K. Surkova¹, Corresponding Member Gennady L. Gurevich¹,
Academician Leonid P. Titov³**

¹Republican Scientific and Practical Center of Pulmonology and Phthisiatry, Minsk, Republic of Belarus

²Institute of Microbiology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

³Republican Research and Practical Center for Epidemiology and Microbiology, Minsk, Republic of Belarus

**CHARACTERISTIC OF THE *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* GENOME OF BEIJING GENOTYPE
OF CLUSTER 100-32 DISPLAYING PRE-EXTENDED DRUG RESISTANCE**

Abstract. A whole genome sequencing was performed of strain *M. tuberculosis* 11502 (NCBI biosamples database, access code SAMN17832565) that was assigned to the Beijing genotype subtype B0/W148 of cluster 100-32, based on the MIRU-VNTR loci ($n = 24$) structure, and that exhibited pre-extended drug resistance. *M. tuberculosis* 11502 was resistant to

isoniazid, rifampicin, ethambutol, levofloxacin, and ethionamide, which correlated with the presence of mutations in the genes: resistance to isoniazid – the mutations in the *fabG1* promoter (p.-8T>C), the *katG* promoter (p.S315T), to ethionamide – the mutations in *ethA* (deletion of T at position 4 335 027 (gatgc-gagc)); to fluoroquinolones – in the *gyrA* gene (p.D94G); to ethambutol – in the *embB* gene (p.M3061); to streptomycin – in the *rpsL* gene (p.K43R). *M. tuberculosis* 11502 genome (GenBank NCBI access code – CP070338) contained 4 420 561 base pairs, 4 104 genes, 4 053 CDSs (coding proteins – 3 874) and differed from reference strain *M. tuberculosis* H37Rv by the presence of 2 055 mutations. A slight drift of mutations towards the G+C accumulation was revealed, which indicates the importance of maintaining a high G+C content in the *Mycobacterium spp.* genome. Strain *M. tuberculosis* 11502 has a higher number of mutations in comparison to previously sequenced *M. tuberculosis* 4860 (GenBank Access Code, NCBI: CP053092) belonging to the LAM genotype (2055 vs. 1577 mutations), which may be a consequence of a longer circulation of *M. tuberculosis* 11502, or some biological features providing the promutagenic effect.

Keywords: *Mycobacterium tuberculosis* genome, genotype Beijing subtype B0/W148 cluster B100-32, pre-extended drug resistance

For citation. Slizen V. V., Akhremchuk A. E., Surkova L. K., Gurevich G. L., Titov L. P. Characteristics of the *Mycobacterium tuberculosis* genom of Beijing genotype of cluster 100-32 displaying pre-extended drug resistance. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2023, vol. 67, no. 3, pp. 231–241 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2023-67-3-231-241>

Введение. За последние два десятилетия *Mycobacterium tuberculosis* (МБТ) с множественной (МЛУ), широкой (ШЛУ), чрезвычайной и тотальной лекарственной устойчивостью стали представлять угрозу для общественного здравоохранения во всем мире. В соответствии с прогнозами, в следующие 35 лет лекарственно устойчивый туберкулез (ТБ) может привести к смерти около 75 млн человек и обойдется мировой экономике в 16,7 трлн долларов [1].

Комбинация геномных, протеомных и биоинформатических подходов потенциально способна предоставить новую информацию о свойствах МБТ, которая позволит более полно охарактеризовать их биологические особенности, механизмы адаптации к меняющимся условиям, патогенез туберкулеза, механизмы латенции, а также разработать новые стратегии профилактики туберкулеза и новые противотуберкулезные лекарственные средства (ПТЛС) [2; 3].

Полногеномные, транскриптомные и полногеномные ассоциативные исследования, проведенные в последние годы, пролили свет на сложность механизмов лекарственной устойчивости МБТ и позволили лучше понять лежащие в ее основе молекулярные механизмы [2]. Было показано, как конкретные штаммы МБТ адаптируются и взаимодействуют с хозяином во время инфекции, что является ключевым фактором в поиске новых бактериальных детерминант, на которые можно ориентироваться при разработке новых противотуберкулезных препаратов или терапии [1]. В свою очередь, генетические исследования МБТ подтвердили клоальность возбудителя и позволили оценить географическое распространение различных клонов [4]. На данный момент актуальным направлением исследований МБТ является характеристика не только быстро распространяющихся подтипов генотипа Beijing B0/W148 и 94-32, но и других его подтипов [4].

Цель – провести анализ генома *M. tuberculosis* генотипа Beijing подтипа B0/W148, генетического кластера 100-32 и установить связь генотипа с наблюдаемым фенотипом лекарственной устойчивости.

Материалы и методы исследования. Исследован штамм МБТ с лабораторным номером 11502, относившийся к пре-ШЛУ и выделенный из мокроты от пациента (мужчины) с впервые диагностированным ТБ легких. Изолят МБТ 11502 проявлял устойчивость к изониазиду (0,2 мкг/мл), рифампицину (40,0 мкг/мл), этамбутолу (2,0 мкг/мл), левофлоксацину (2,0 мкг/мл), этионамиду (40,0 мкг/мл).

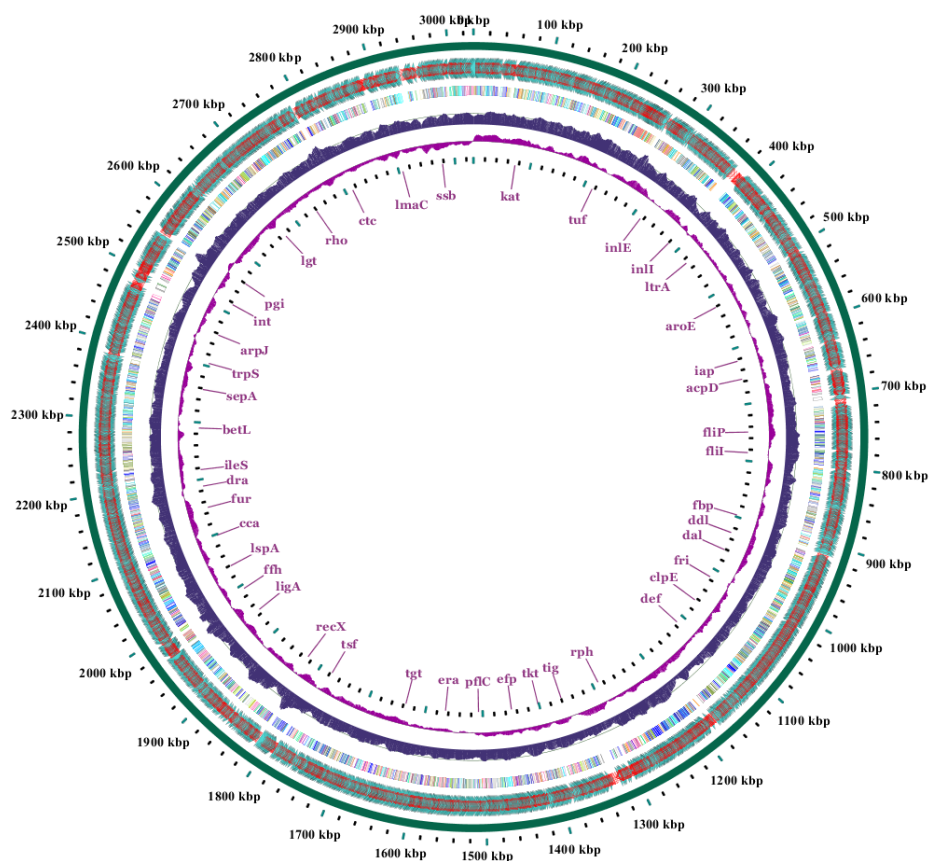
Выделение, идентификация, определение устойчивости МБТ к ПТЛС проводились в соответствии с «Руководством по лабораторной диагностике туберкулеза» (приказ Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 22.03.2013 № 377). С помощью ранее описанного метода [5; 6] изолят МБТ 11502 был типирован как относящийся к генотипу Beijing подтипу B0/W148. Информация об исследуемом штамме МБТ 11502 была загружена в международный банк данных о биологическом образце – код доступа в NCBI: SAMN17832565. Выделение ДНК проводили с использованием набора QIAGEN Blood Cell Culture DNA MaxiKit (Cat. No./ID: 13362), либо QIAamp DNA MiniKit (Cat. No./ID: 51304) согласно прилагающейся инструкции. Все этапы под-

готовки библиотек ДНК выполняли в соответствии с инструкцией фирмы-производителя наборов реактивов Nextera XT DNA Library Preparation Kit (FC – 131-1024, Illumina) и Ligation Sequencing Kit (SQK-LSK109, Oxford Nanopore). Высокопроизводительное секвенирование нового поколения (ВСП) выполняли с использованием приборов MiSeq (Illumina) с помощью реактивов MiSeq Reagent Kit v3, позволяющих получать прочтения длиной 2×301 нуклеотид, и MinION (МК 1B, Oxford Nanopore Technologies) с проточной ячейкой R9.4.1. Для сортировки полученных прочтений с помощью секвенатора MinION применяли программу Barapost v.2020-11-16. *De novo* сборка осуществлена с использованием программ Flye v. 2.8.2; SPAdes v.3.14.1. Для аннотирования использован веб-сервер RAST (<https://rast.nmpdr.org>). Визуализация генетической карты хромосомы осуществлена с помощью онлайн программы GView (<https://server.gview.ca>). Для расчета средней идентичности нуклеотидов в сравнении с референтным геномом использовали ANI-calculator (<http://enve-omics.ce.gatech.edu/ani/index>). Геномный показатель дельта-расстояния (GS-DD), основанный на выявлении внутригеномных вариаций в содержании динуклеотидов, тетрануклеотидов, определяли программой δ^* -differences (<https://www.cmbi.luga.edu/software/delta-differences.html>). Для оценки удельного веса нуклеотидов (A, T, G, C), кодонов в структуре генома применяли программу «codon usage» (https://www.cmbi.luga.edu/software/codon_usage.html). Автоматизированный расчет резистентности проводили с помощью ResFinder4.1 (<https://cge.food.dtu.dk/services/ResFinder/>), схожести последовательностей ДНК – Nucleotide Blast (NCBI). Выравнивание геномов и их сравнительный анализ проводили с использованием MSA Viewer, BLAST, NCBI. С помощью программы Unipro Ugene определяли количество и состав tandemных повторов в 24 MIRU-VNTR локусах. Выявление фагов выполняли с помощью онлайн сервиса PHASTER (<https://phaster.ca>). Аннотацию и анализ кластеров генов биосинтеза вторичных метаболитов осуществляли при помощи веб-сервиса antiSMASH (<https://antismash.secondarymetabolites.org>). Для сравнения генетических свойств микобактерий кроме МБТ 11502 использовали ранее секвенированные штаммы МБТ 4860 (код доступа GenBank, NCBI-CP049108) и МБТ 5005 (код доступа GenBank, NCBI-CP053092).

Результаты и их обсуждение. Секвенированный геном МБТ 11502 был загружен в GenBank, NCBI – код доступа CP070338. По данным программы PGAP5.1 (NCBI), геном содержит 4 420 561 пару оснований (п. о.), и в нем аннотировано 4 104 гена, 4 053 кодирующие последовательности, из которых кодирующими белок (БКП) являются 3 874. Кодирование РНК осуществляет 51 ген: 45 генов детерминирует тРНК, по одному гену кодируют рРНК – 5S, 16S, 23S рибосомную РНК (всего 3 гена), 3 гена кодируют нкРНК. Всего в структуре генома аннотировано 179 псевдогенов, при этом 110 псевдогенов содержат мутации рамки считывания, 66 из 179 псевдогенов неполные, 23 имеют внутренние нонсенс-мутации (стоп-кодона), в 16 генах определены множественные проблемы. В геноме МБТ 11502 выявлен 1 CRISPR элемент. Карта генома МБТ 11502 представлена на рисунке.

Содержание GC в одной цепи генома МБТ 11502 составляло 65,6 % (C – 33,0 %, G – 32,6 %), при этом количество A и T – 760 898 и 759 469 нуклеотидов соответственно. Геном МБТ 11502 сравнили с ранее секвенированными другими штаммами, изолированными на территории Беларуси: сходство с МБТ 5005 составляло 99,99 % (были выравнены 4 296 754 из общего количества нуклеотидов 4 420 561), с МБТ 4860 – 99,91 % (выравнены 4 249 923 из 4 420 561 нуклеотидов). Сходство с референсным штаммом МБТ H37Rv – 99,90 % (выравнены 4 247 266 из 4 420 561 нуклеотидов). Средняя идентичность аминокислот МБТ 11502 и МБТ H37Rv составила 99,98 %. Отличие по количеству встречающихся динуклеотидов МБТ 11502 и ранее секвенированных МБТ 5005 и 4860, и референс-генома МБТ H37Rv приведены в табл. 1.

Из 3874 аннотированных генов 1500 принадлежали к следующим группам генов: контролирующие кофакторы, витамины, простетические группы, пигменты ($n = 142$, $11 \pm 1,69$ %), синтез компонентов клеточной стенки/капсулы ($n = 27$, $1,8 \pm 0,72$ %), вирулентность и защиту ($n = 43$, $2,87 \pm 0,9$ %), метаболизм калия ($n = 7$, $0,47 \pm 0,37$ %), фотосинтез ($n = 0$, 0 %), фаги, профаги, мобильные элементы, плазмиды ($n = 2$, $0,13 \pm 1,69$ %), мембранный транспорт ($n = 25$, $1,67 \pm 0,69$ %), захват железа и его метаболизм ($n = 2$, $0,13 \pm 0,2$ %), метаболизм РНК ($n = 44$, $2,93 \pm 0,91$ %), синтез нуклеозидов и нуклеотидов ($n = 68$, $4,53 \pm 1,12$ %), обмен белков ($n = 165$, $11,0 \pm 1,69$ %), деле-



Графическое отображение секвенированного генома *M. tuberculosis* 11502 (веб-сервис GView). Отображены начала и концы рамок считывания на двух цепочках кольцевой ДНК, аннотированные гены, содержание GC, GC разброс (положительный и отрицательный)

Graphical representation of the sequenced *M. tuberculosis* 11502 genome (GView web service). Displayed start and end of reading frames on two strands of cDNA, annotated genes, GC content, GC deviation (positive and negative)

Т а б л и ц а 1. Сравнительная характеристика содержания динуклеотидов и их удельный вес в геноме *M. tuberculosis* 11502

T a b l e 1. Comparative characteristics of the dinucleotide content and their proportion in the *M. tuberculosis* 11502 genome

Тип Type	МБТ 11502		МБТ 5005		МБТ 4860		МБТ H37Rv	
	Количество Quantity	% ± tm	Количество Quantity	% ± tm	Количество Quantity	% ± tm	Количество Quantity	% ± tm
AA	137 302	3,12 ± 0,02	137 259	3,12 ± 0,02	136 941	3,12 ± 0,02	137 526	3,12 ± 0,02
AC	261 732	5,92 ± 0,02	261 626	5,92 ± 0,02	258 556	5,88 ± 0,02	259 705	5,89 ± 0,02
AG	198 171	4,48 ± 0,02	198 044	4,48 ± 0,02	197 228	4,49 ± 0,02	198 099	4,49 ± 0,02
AT	163 692	3,7 ± 0,02	163 600	3,7 ± 0,02	162 744	3,7 ± 0,02	163 226	3,7 ± 0,02
CA	278 696	6,3 ± 0,02	278 599	6,31 ± 0,02	275 438	6,27 ± 0,02	276 641	6,27 ± 0,02
CC	418 821	9,47 ± 0,03	418 498	9,47 ± 0,03	413 572	9,41 ± 0,03	414 971	9,41 ± 0,03
CG	562 701	12,73 ± 0,02	562 519	12,73 ± 0,02	559 468	12,73 ± 0,02	561 855	12,74 ± 0,02
CT	197 376	4,46 ± 0,02	197 241	4,46 ± 0,02	195 964	4,46 ± 0,02	196 602	4,46 ± 0,02
GA	269 954	6,11 ± 0,02	269 780	6,11 ± 0,02	268 738	6,12 ± 0,02	269 787	6,12 ± 0,02
GC	507 675	11,48 ± 0,03	507 537	11,49 ± 0,03	504 699	11,49 ± 0,03	506 864	11,49 ± 0,03
GG	405 336	9,17 ± 0,03	405 089	9,17 ± 0,03	405 197	9,22 ± 0,03	407 404	9,23 ± 0,03
GT	259 632	5,87 ± 0,02	259 487	5,87 ± 0,02	259 733	5,91 ± 0,02	260 657	5,91 ± 0,02
TA	74 945	1,7 ± 0,01	74 891	1,7 ± 0,01	74 352	1,69 ± 0,01	74 602	1,69 ± 0,01
TC	269 366	6,09 ± 0,02	269 194	6,09 ± 0,02	267 616	6,09 ± 0,02	268 528	6,09 ± 0,02
TG	276 389	6,25 ± 0,02	276 244	6,25 ± 0,02	276 474	6,29 ± 0,02	277 356	6,29 ± 0,02
TT	138 768	3,14 ± 0,02	138 698	3,14 ± 0,02	137 431	3,13 ± 0,02	137 881	3,13 ± 0,02

ние клеток и клеточный цикл ($n = 0, 0\%$), подвижность и хемотаксис ($n = 0, 0\%$), регуляцию и передачу сигналов клеток ($n = 102, 6,8 \pm 1,36\%$), вторичный метаболизм ($n = 1, 0,07 \pm 0,14\%$), метаболизм ДНК ($n = 84, 5,6 \pm 1,24\%$), синтез жирных кислот, липидов и изопреноидов ($n = 141, 9,4 \pm 1,57\%$), метаболизм азота ($n = 20, 1,33 \pm 0,62\%$), образование покоящихся форм ($n = 1, 0,07 \pm 0,14\%$), дыхание ($n = 73, 4,87 \pm 1,16\%$), контролирующие стресс-реакцию ($n = 27, 1,8 \pm 0,72\%$), метаболизм ароматических соединений ($n = 7, 0,47 \pm 0,37\%$), аминокислот и их производных ($n = 263, 17,53 \pm 2,05\%$), обмен серы ($n = 7, 0,47 \pm 0,37\%$), обмен фосфора ($n = 27, 1,8 \pm 0,72\%$), синтез углеводов ($n = 199, 13,27 \pm 1,8\%$).

В геноме МБТ 11502 выявлены элементы двух фагов. Один из этих профаговых регионов имеет размер 8700 п. о. (положение в геноме – 4084310–4093014), содержание G+C в нем – 65,54%. В этом локусе присутствует один ген тРНК, 7 БКП, схожих с фаговыми, и 1 – с бактериальной. На долю этих генов в структуре локуса приходится 87,5% информации, при этом профаг проявляет наибольшее подобие с PHAGE_Staphy_SPbeta_like_NC_029119 или PHAGE_Tsukam_TRA4_NC_030916.

Второй возможный профаговый регион имеет размер 4 500 п. о. (место расположения – 2747186–2761777). Содержание G+C в этом локусе составляет 66,14%; в его составе находится 22 гена, 12 из которых кодируют фаговые белки, 5 – гипотетические белки, 5 генов – бактериальные белки. На долю этих генов приходится 77,2% информации локуса. Элементы фага проявляли наибольшее сходство с фагом PHAGE_Gordon_Zirinka_NC_031097(3) и PHAGE_Gordon_Attis_NC_041883(2), PHAGE_Staphy_SPbeta_like_NC_029119(2).

С помощью веб-ресурса antiSMASH у МБТ 11502 были предсказаны гены, продукты которых отвечают за синтез 3 биологически активных метаболитов. Данные гены выявлены как у МБТ 11502, так и у МБТ 5005, МБТ 4860, МБТ Н37Rv. Вероятными метаболитами являются:

изонитрильные липопептиды (локализация синтетического кластера генов 88504–135346), продуцируемые нерибосомными пептидсинтазами;

метилированный алкил-резорцин/метилированный ацил-флороглюоцин, относящийся к поликетидам (кластер генов поликетидсинтаз типа I и типа III, локализация – 1628786–1686913);

микобактин (кластер генов нерибосомной пептидсинтазы, локализация 2416401–2474538).

Также выявлены гены, кодирующие или отвечающие за синтез:

антибиотикоподобного белка TP-1161 из группы тиопептидов (положение 3611771–3634465), который проявляет сходство (12%) с кластером биосинтетических генов TP-1161 у *Nocardioopsis* sp. ТФС65-07;

хопена (положение 3809354–3830262), относящегося к терпенам и проявляющего 15% подобия со *Streptomyces coelicolor* A3(2);

реверомицина А (положение 2053481–2105721), из группы поликетидов проявляющего идентичность с метаболитом *Streptomyces* sp. SN-593 (9% подобия);

метаболита BE-7585A (положение 1305988–1346116), синтез которого зависит от поликетидсинтаз III типа (сходство 11% с кластером генов *Amycolatopsis orientalis* subsp. *Vinearia*).

У МБТ 11502 отсутствовал ген, кодирующий вторичный метаболит, выявленный у МБТ Н37Rv, – BE-43547A1, относящийся к циклическим депсипетидам и поликетидам (модульный тип I) из группы поликетидсинтаз типа I.

Значение вторичных метаболитов, продуцируемых МБТ 11502, требует дальнейшего изучения.

Геномы МБТ 11502 и МБТ 5005 проявляли высокую степень сходства: их отличали 36 полиморфизмов единичных нуклеотидов (ПЕН). Были выявлены следующие мутации: $a \rightarrow g - 2$, $g \rightarrow a - 11$, $c \rightarrow t - 8$, $t \rightarrow c - 5$, $g \rightarrow c - 5$, $c \rightarrow a - 2$, $c \rightarrow g - 1$, $g \rightarrow t - 2$. Суммарно было выявлено 7 мутаций с заменой на g и c , в то время как с заменой на t , $a - 23$ мутации. Между штаммами МБТ 11502 и МБТ 5005 выявлен дрейф мутаций в сторону накопления аденина и тимина. Сравнительный анализ геномов МБТ 11502 и МБТ Н37Rv свидетельствует о присутствии 2055 мутаций, отличающих их. Частота и тип замен нуклеотидов приведены в табл. 2.

Т а б л и ц а 2. Характеристика ПЕН в геноме *M. tuberculosis* 11502 в сравнении с *M. tuberculosis* H37RvT a b l e 2. Characteristics of SNP in the genome of *M. tuberculosis* 11502 versus *M. tuberculosis* H37Rv

Нуклеотид/кол-во мутаций Nucleotide/quantity of mutations (n = 2055)	Замена Replacement	Кол-во Quantity		Нуклеотид/кол-во мутаций Nucleotide/quantity of mutations (n = 2055)	Замена Replacement	Кол-во Quantity	
		H37Rv- 11502**	11502-H37Rv*			H37Rv- 11502	11502- H37Rv
C (n = 590)* C (n = 553)**	C→Г	278	312	G+C (n = 1132)* G+C (n = 1200)**	T, C, A→G	610	579
	C→G	168	166		T, G, A→C	590	553
	C→A	107	112		T, A → G+C	866	798
G (n = 610)* G (n = 579)**	G→Г	116	112	T+A (n = 923)* T+A (n = 855)**	G, C, A→Г	428	447
	G→C	166	168		G, C, T→A	427	476
	G→A	297	330		G, C→Г+A	798	866
A (n = 427)* A (n = 476)**	A→Г	34	23	A (n = 404)* A (n = 442)**	A→C	112	107
	A→G	330	297		A→G	330	297
	A→C	112	107		T (n = 394)* T (n = 424)**	T→G	112
T (n = 428)* T (n = 447)**	T→G	112	116	G (n = 442)* G (n = 413)** C (n = 424)* C (n = 385)**	T→C	312	278
	T→A	23	34		G→A	297	330
	T→C	312	278		G→Г	116	112
					C→A	107	112
				C→Г	278	312	

Примечание: * – МБТ 11502, ** – МБТ H37Rv.

Note: * – *M. tuberculosis* 11502, ** – *M. tuberculosis* H37Rv.

В целом замены нуклеотидов Т/А на Г/С происходят чаще у МБТ 11502, чем Г/С на Т/А (866 замен против 798), при этом количество замен А на Г/С и Т на Г/С сравнимо по частоте. Замены А на Г происходят чаще, чем А на С, а замены Т на С, чаще, чем Т на Г. Если рассматривать замены Г/С на Т/А, то замена Г на А происходит чаще, чем на Т, а мутации с заменой С на Т происходят чаще, чем С на А. Такой незначительный дрейф в сторону замен на Г и С у МБТ может свидетельствовать о важности поддержания высокого содержания G+C в геноме МБТ.

Анализ групп микроорганизмов с различным содержанием G+C (*Bacillales* (с низким), *Enterobacteriales* (со средним), *Actinobacteria*, *Burkholderiales* (с высоким)) позволил ряду исследователей установить, что в геноме у микроорганизмов отмечается дрейф в сторону накопления T+A, что свойственно и для кладов, которые имеют как высокое, так и низкое содержание геномного G+C [7]. Как правило, мутационное смещение в сторону AT связано с более высокой частотой замен C/G на T. Такая модель изменений характерна для различных функциональных локусов геномов (межгенные локусы, синонимичные и несинонимичные локусы) [8]. Для объяснения вариации в GC-составе геномов было предложено несколько факторов: УФ-излучение, фиксация азота и паразитизм [8]. Доступность азота для пластического метаболизма может также объяснять смещение в заменах у близкородственных организмов, чей сходный образ жизни исключает альтернативные объяснения [9].

У МБТ 11502 в кодоне 95 гена *gyrA* находится мутация agc→acc, в 463 кодоне гена *katG* находится CTG (лейцин), что позволяет отнести их в группу 1, согласно предложенной классификации S. Sreevatsan и соавт. [10]. У этой группы отмечается вставка IS6110 между генами *dnaA* и *dnaN*. МБТ, относящиеся к группе 1, схожи по организации в кодоне 95 *gyrA* и кодоне 463 *katG* гена с *M. microti*, *M. bovis*, *M. africanum*, что позволяет считать их эволюционно более древними, чем МБТ группы 2 и 3, а следовательно, они могут иметь больший интервал времени для изменений и потому содержат большее количество мутаций [10]. Таким образом, большее количество мутаций в генах у МБТ 11502 и МБТ 5005 в сравнении с МБТ 4860 и МБТ H37Rv может быть обусловлено более ранним возникновением или более активным распространением в ходе эпидемического процесса, приводящим к более частым пассажам в системе паразит–хозяин.

Резистом МБТ 11502. ВSNP позволяет одновременно проводить детекцию мутаций во всех известных в настоящее время генах, ассоциированных с устойчивостью к ПТЛС. Изученный штамм МБТ 11502 имел генетические маркеры резистентности к рифампицину (*rpoB* (p.S450L), *rpoC* (p.I491T)), изониазиду (*fabG1*-promoter (g.-8T>C), *katG*-promoter (p.S315T)), стрептомицину

(*rpsL* (p.K43R)), этамбутолу (*embB* (p.M306I)), пиазинамиду (*pncA*-promoter (p.W68G)), фторхинолонам (*gyrA* (p.D94G)). Данные о мутациях резистентности получены на основании *in silico* анализа 36 генов, контролирующих резистентность к 17 ПТЛС, с помощью BLAST, NCBI (табл. 3) и веб-сервиса ResFinder 4.1 (позволяет проводить анализ генов *rpl, gidB, rpsA, iniA, rpsL, pncA, alr, rplC, rrs, thyA, Rv0678, thyX, ahpC, folC, panD, tlyA, katG, inhA, gyrB, gyrA, rpoC, rpoB, idsA2, ribD, ubiA, eis, embA, embB, embC, ethA, drrA, nuoA, fabG1, embR, kasA, ethR*) [11]. Результаты генетического определения резистентности совпадали с результатами фенотипического определения устойчивости к ПТЛС. Остальные мутации могут носить компенсаторный характер. Веб-сервис ResFinder 4.1 является информативным ресурсом, автоматизирующим процесс анализа устойчивости к ПТЛС.

Идентификация генотипа *M. tuberculosis* 11502. Анализ тандемных повторов в 24 MIRU-VNTR локусах позволил определить профиль изолята 3-4-4-2-3-3-3-4-2-6-4-4-4-2-5-2-7-3-3-5-3-7-2-3 (MIRU02-Mtub04-ETRC-MIRU04-MIRU40-MIRU10-MIRU16-Mtub21-MIRU20-QUB11b-ETRA-Mtub29-Mtub30-ETRB-MIRU23-MIRU24-MIRU26-MIRU27-Mtub34-MIRU31-Mtub39-QUB26-QUB4156-MIRU39). Такой профиль был идентифицирован путем сравнения с базой профилей на сервере <https://www.miru-vntrplus.org> как генотип Beijing кластер 100-32, но изученный изолят отличался количеством повторов в двух локусах MIRU24 и QUB4156.

МБТ имеют клональную структуру популяции. В распространении инфекции приобретают значение не только генотипы, но и клональные группы в составе генотипов. Генотип Beijing неоднороден, с помощью MIRU-VNTR в нем выявляется 24 типа, из которых типы 100-32 и 94-32 представляют самые многочисленные группы. Клон BeijingB0/W148 имеет разные MIRU-VNTR профили, и может относиться к клональным группам 100-32, 1066-32 при проведении MIRU-VNTR типирования [12]. Таким образом, изученный изолят МБТ 11502 принадлежит к одной из репрезентативных клональных групп генотипа Beijing подтипа B0/W148. Исследования последних лет показали, что генотип Beijing, особенно МЛЮ, имеет повышенную способность вызывать диссеминированные и внелегочные заболевания [11; 13], кластер 100-32 играет роль в развитии туберкулеза позвоночника и одновременно туберкулеза позвоночника и легких [11]. В работах Vyazova A. и соавт. было показано, что удельный вес МБТ генотипа Beijing кластера 100-32 в развитии спондилита составлял 29 %, при этом 87 % МБТ кластера 100-32 были МЛЮ [12]. Вторым по частоте кластером МБТ генотипа Beijing в развитии спондилита является кластер 1066-32, остальные МБТ могут иметь уникальные MIRU-VNTR типы [11]. Распространение клона 100-32 было описано в Португалии и Гвинеи-Бисау. Изоляты МБТ из Португалии и Гвинеи-Бисау относились к клональным группам GC1 ($n = 121$) и GC2 ($n = 39$), и имели ПЕН, характерные кладам 100-32/B0/W148 и 94-32 (Центрально-Азиатский, русский тип) соответственно. Исследования МБТ из разных регионов, проводимые в Португалии, показали, что к клону 94-32 относились 576 изолятов, к клону 100-32 – 302 изолята, к 2083-32 – 18, 9124-32 – 6, 4737-32 – 5, 9387-32 – 3 [14].

Исследования изолятов, выделенных в странах Центральной Азии (общее количество 607 изолятов: из них 235 – из Узбекистана, 206 – из Таджикистана и 166 – из Кыргызстана), показали, что МБТ генотипа Beijing преобладали (411/607). Среди МБТ генотипа Beijing большинство изолятов кластрировались в группы (349 из 411 изолятов Beijing), среди которых наиболее репрезентативными группами были Beijing 94–32 ($n = 145$) и Beijing 100–32/B0/W148 ($n = 70$), что свидетельствует о доминировании генотипа Beijing и его кластеров 94–32 и 100–32 в этиологической структуре туберкулеза в Центральной Азии [15].

За последние 30 лет расширились представления о вариабельности МБТ, если ранее, до появления генетических методов исследований, их считали «моноклонным» возбудителем, для которого характерны варианты, отличающиеся резистентностью к ПТЛС, то в настоящее время стала очевидна генетическая клональность этих возбудителей, отличающихся делециями, мутациями, генетическими повторами [4]. Формирующиеся новые генетические клоны могут отличаться вирулентностью, иммуногенностью, и потому могут распространяться среди групп, которые ранее редко вовлекались в эпидемический процесс, тем самым поддерживая уровень заболеваемости. Изученный изолят МБТ 11502, относящийся к генотипу Beijing подтипу B0/W148 и кластерной группе 100-32, подтверждает наличие гетерогенности среди подтипа B0/W148. Выделение этого

Таблица 3. Гены и мутации, ассоциированные с устойчивостью к ПТЛС *M. tuberculosis* H1502
 Table 3. Genes and mutations associated with the resistance to anti-TB drugs in *M. tuberculosis* H1502

Ген Gene	Мишень Target	Мутации Mutation	Ген Gene	Мишень Target	Мутации Mutation
Рифампицин					
<i>rpoB</i> Rv0667	РНК-полимераза TCG1349TTG (p.SER450LEU) GCT3225GCC (p.ALA1075ALA)		<i>katG</i> Rv1908c	Модификация каталазы-пероксидазы AGC944ACC (p.SER315THR) CGG1388CTG (p.ARG463LEU)	
<i>ponA?</i> (Rv0050)	Бифункциональный пенициллин-связывающий белок GCA732GCG (p.ALA386ALA) 1887–1889 инсерция tcc 1895–1900 инсерция cgcsgt (в участок с 9 остатками пролина)		<i>inhA</i> Rv1484	НАД Н-зависимый эноилацильный белок-носитель нет	
Деламаид, претоманид					
<i>Ddn</i> Rv3547	Окислительный стресс нет		<i>fbxA</i> Rv3261	2-фосфо-L-лактаг-трансфераза нет	
<i>fgdI</i> Rv0407	Окисление глюкозо-6-фосфата TTT960TTC (–p.PHE320PHE)		<i>fbxB</i> Rv3262	Ко-энзим F420 L-глутамаглизга нет	
<i>fbxD</i> Rv2983	Фосфонол-пируват-гуанилтрансфераза EC 2.7.7.105 нет		<i>fbxC</i> Rv1173	FO-синтаза нет	
Линезолид					
<i>rrlI</i>	Модификация 23S рРНК нет		<i>crfA</i>	Межген Rv2421c-Rv2422 A231C (+нить) p.AAT31ACT	Имипенем/циластатин
<i>rpIC</i> Rv0701	50S рибосомальный белок L3 нет			Амикацин, капреомицин, канамицин	
Пиразинамид					
<i>ppsA</i> Rv2043c	Пиразинамидаза TGG202GGG (p.TRP68GLY)		<i>rpsL</i> Rv0682	12S рибосомальный белок AAG128AGG (p.LYS43ARG)	Стрептомицин
<i>panD</i> Rv3601c	Аспартаг-декарбоксилаза нет		<i>rps</i> Rvnr01	Модификация 16S рРНК нет	
<i>rpsA</i> Rv1630	Рибосомальный белок S1 CGA636CGC (p.ARG212ARG)		<i>gidB</i> Rv3919c	7-метил-гуанозин метил-трансфераза GAA276GAC(p.GLU92ASP) GCA615GGC(p.ALA205ALA)	

Этамбутол		Этионамид, прогионамид	
<i>embSAВ-оперон</i> Rv3793-5	Арабинозил трансфераза CAA114CAG (p.GLN38GLN) TGC228TGT (p.CYS76CYS) TTG988CTG (p.LEU330LEU)	<i>ethA</i> Rv3854c	Моноксигеназа Делеция T в положении 4335027 gatgc-gagc (-нить)
<i>ubiA</i> Rv3806c	Приобретение функции синтеза арабиногалактана нет	<i>ethR</i> Rv3855	Транскрипционный регулятор репрессорного белка (TetR) нет
Леводофлосакцин, оксифлосакцин			
<i>gyrA</i> Rv0006	ДНК-гираза A GAC61CAG(p.ASP21GLN) GAC218GGC (p.ASP94GLY) AGC284ACC (p. SER95THR) GGC2003GAC (p.GLY668ASP)	<i>inhA</i> Rv1484	НАДН-зависимый эноил-ацильный белок-носитель нет
<i>gyrB</i> Rv0005	ДНК-гираза B нет	<i>folC</i> Rv2447c	Парааминосалициловая кислота Метаболизм фолата нет
Белаквилин			
<i>atpE</i> Rv1305	АТФ-синтаза нет	<i>dfrA</i> Rv2763c	Дигидрофолат-редуктаза нет
<i>pepQ</i> Rv2535c	Предположительная Хаа-Про-аминопептидаза нет	<i>thyA</i> Rv2764c	Тимидилат-синтаза нет
Rv0678 mmpR5	Транскрипционный регулятор mmpL5, эффлюкс нет	<i>thyX</i> Rv2754c	Образование фТМФ и тетрагидрофолата нет
mmpS5	Мембранный белок mmpS5 нет	<i>ribD</i> Rv2671	Фермент биосинтеза рибофлавина нет
Клофазимин			
<i>pepQ</i> Rv2535c	Влияние на предлогаемую Хаа-Про-аминопептидазу и эффлюкс нет	<i>eis</i> Rv2416c	Модификация аминогликозид- ацетил-трансферазы нет
Циклосерин, теризидон			
<i>sucA</i> Rv1704c	Бактериальный протонный симпортер D-серина / L- и D-аланина / глицина / D-циклосерина G278T, cegggg – cctggg	<i>ald</i> Rv2780	Модификация L-аланин- дегидрогеназы и шунтирование субстрата Делеция A28 (cc28aaaaa – cc28aaaa)
<i>alr</i> Rv3423c	Модификация аланин-рацемазы нет		

подтипа описано и в Российской Федерации, странах Центральной Азии, Португалии. Он способен вызывать внелегочные формы туберкулеза – туберкулезный спондилит. Изолят МБТ 11502 и МБТ 5005, относящихся к генотипу Beijing, подтипу B0/W148, схожи и отличались только 36 мутациями и профилем tandemных повторов. У МБТ 11502 количество мутаций ($n = 2055$) больше, чем у ранее секвенированного изолята МБТ 4860 ($n = 1577$), относящегося к генотипу LAM, при этом сдвиг типа мутаций происходит в сторону незначительного обогащения G+C. На основании структуры кодонов генов *gyrA* 95 и *katG* 463, МБТ 11502 может быть отнесен в генетическую группу 1, которая объединяет эволюционно более древние клоны МБТ, что может быть причиной большего количества мутаций в геноме МБТ 11502. Большее количество мутаций МБТ 11502 в сравнении с МБТ 4860 может быть связано с его более активной циркуляцией и передачей, а также наличием биологических свойств, обеспечивающих промутагенный эффект.

Заключение. ВСНП позволяет оценивать резистентность к ПТЛС, клональность, что важно для клинической практики и персонализации лечения пациентов, а также ВСНП позволяет изучать гетерогенность и изменчивость МБТ, что важно для изучения механизмов адаптации и эволюции МБТ. Распространение клона 100-32 с лекарственной устойчивостью может привести к росту внелегочных форм туберкулеза, включая менингит и спондилит.

Список использованных источников

1. Allué-Guardia, A. Evolution of drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* strains and their adaptation to the human lung environment / A. Allué-Guardia, J. I. García, J. B. Torrelles // *Front. Microbiol.* – 2021. – Vol. 12. – Art. 612675. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.612675>
2. Deciphering the biology of *Mycobacterium tuberculosis* from the complete genome sequence / S. T. Cole [et al.] // *Nature.* – 1998. – Vol. 393. – P. 537–544. <https://doi.org/10.1038/31159>
3. Biofilm formation in the lung contributes to virulence and drug tolerance of *Mycobacterium tuberculosis* / P. Chakraborty [et al.] // *Nat. Commun.* – 2021. – Vol. 12, N 1. – Art. 1606. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-21748-6>
4. Evolution and diversity of clonal bacteria: the paradigm of *Mycobacterium tuberculosis* / T. Dos Vultos [et al.] // *PLoS One.* – 2008. – Vol. 3, N 2. – Art. e1538. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0001538>
5. Rapid detection of *Mycobacterium tuberculosis* Beijing genotype strains by real-time PCR / D. Hillemann [et al.] // *J. Clin. Microbiol.* – 2006. – Vol. 44, N 2. – P. 302–306. <https://doi.org/10.1128/jcm.44.2.302-306.2006>
6. Russian “successful” clone B0/W148 of *Mycobacterium tuberculosis* Beijing genotype: a multiplex PCR assay for rapid detection and global screening / I. Mokrousov [et al.] // *J. Clin. Microbiol.* – 2012. – Vol. 50, N 11. – P. 3757–3759. <https://doi.org/10.1128/jcm.02001-12>
7. JSpeciesWS: a web server for prokaryotic species circumscription based on pairwise genome comparison / M. Richter [et al.] // *Bioinformatics.* – 2016. – Vol. 32, N 6. – P. 929–931. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btv681>
8. Hershberg, R. Evidence that mutation is universally biased towards AT in bacteria / R. Hershberg, D. Petrov // *PLoS Genetics.* – 2010. – Vol. 6, N 9. – Art. e1001115. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1001115>
9. Seward, E. A. Dietary nitrogen alters codon bias and genome composition in parasitic microorganisms / E. A. Seward, S. Kelly // *Genome Biology.* – 2016. – Vol. 17, N 1. – Art. 226. <https://doi.org/10.1186/s13059-016-1087-9>
10. Restricted structural gene polymorphism in the *Mycobacterium tuberculosis* complex indicates evolutionarily recent global dissemination / S. Sreevatsan [et al.] // *Proceedings of the National Academy of Sciences.* – 1997. – Vol. 94, N 18. – P. 9869–9874. <https://doi.org/10.1073/pnas.94.18.9869>
11. Relationship between *Mycobacterium tuberculosis* genotype and the clinical phenotype of pulmonary and meningeal tuberculosis / G. Thwaites [et al.] // *J. Clin. Microbiol.* – 2008. – Vol. 46, N 4. – P. 1363–1368. <https://doi.org/10.1128/jcm.02180-07>
12. Tuberculous spondylitis in Russia and prominent role of multidrug-resistant clone *Mycobacterium tuberculosis* Beijing B0/W148 / A. Vyazovaya [et al.] // *Antimicrob. Agents Chemother.* – 2015. – Vol. 59, N 4. – P. 2349–2357. <https://doi.org/10.1128/aac.04221-14>
13. A marked difference in pathogenesis and immune response induced by different *Mycobacterium tuberculosis* genotypes / B. Lopez [et al.] // *Clinical Experimental Immunology.* – 2003. – Vol. 133, N 1. – P. 30–37. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2249.2003.02171.x>
14. Emergence of multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* of the Beijing lineage in Portugal and Guinea-Bissau: a snapshot of moving clones by whole-genome sequencing / J. Perdigão [et al.] // *Emerging Microbes Infections.* – 2020. – Vol. 9, N 1. – P. 1342–1353. <https://doi.org/10.1080/22221751.2020.1774425>
15. Population structure of drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* in Central Asia / A. Engström [et al.] // *BMC Infectious Diseases.* – 2019. – Vol. 19, N 1. – Art. 908. <https://doi.org/10.1186/s12879-019-4480-7>

References

1. Allué-Guardia A., García J. I., Torrelles J. B. Evolution of drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* strains and their adaptation to the human lung environment. *Frontiers in Microbiology*, 2021, vol. 12, art. 612675. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.612675>

2. Cole S., Brosch R., Parkhill J., Garnier T., Churcher C., Harris D., Gordon S. V. [et al.]. Deciphering the biology of *Mycobacterium tuberculosis* from the complete genome sequence. *Nature*, 1998, vol. 393, no. 6685, pp. 537–544. <https://doi.org/10.1038/31159>
3. Chakraborty P., Bajeli S., Kaushal D., Radotra B. D., Kumar A. Biofilm formation in the lung contributes to virulence and drug tolerance of *Mycobacterium tuberculosis*. *Nature Communications*, 2021, vol. 12, no. 1, art. 1606. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-21748-6>
4. Dos Vultos T., Mestre O., Rauzier J., Golec M., Rastogi N., Rasolofy V., Tonjum T., Sola C., Matic I., Gicquel B. Evolution and diversity of clonal bacteria: the paradigm of *Mycobacterium tuberculosis*. *PLoS One*, 2008, vol. 3, no. 2, art. e1538. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0001538>
5. Hillemann D., Warren R., Kubica T., Rüsç-Gerdes S., Niemann S. Rapid detection of *Mycobacterium tuberculosis* Beijing genotype strains by real-time PCR. *Journal of Clinical Microbiology*, 2006, vol. 44, no. 2, pp. 302–306. <https://doi.org/10.1128/jcm.44.2.302-306.2006>
6. Mokrousov I., Narvskaya O., Vyazovaya A., Otten T., Jiao W.-W., Gomes L. L., Suffys P. N., Shen A.-D., Vishnevsky B. Russian “successful” clone B0/W148 of *Mycobacterium tuberculosis* Beijing genotype: a multiplex PCR assay for rapid detection and global screening. *Journal of Clinical Microbiology*, 2012, vol. 50, no. 11, pp. 3757–3759. <https://doi.org/10.1128/jcm.02001-12>
7. Richter M., Rosselló-Móra R., Glöckner F. O., Peplies J. JSpeciesWS: a web server for prokaryotic species circumscription based on pairwise genome comparison. *Bioinformatics*, 2016, vol. 32, no. 6, pp. 929–931. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btv681>
8. Hershberg R., Petrov D. A. Evidence that mutation is universally biased towards AT in bacteria. *PLoS Genetics*, 2010, vol. 6, no. 9, art. e1001115. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1001115>
9. Seward E. A., Kelly S. Dietary nitrogen alters codon bias and genome composition in parasitic microorganisms. *Genome Biology*, 2016, vol. 17, no. 1, art. 226. <https://doi.org/10.1186/s13059-016-1087-9>
10. Sreevatsan S., Pan X. L., Stockbauer K. E., Connell N. D., Kreiswirth B. N., Whittam T. S., Musser J. M. Restricted structural gene polymorphism in the *Mycobacterium tuberculosis* complex indicates evolutionarily recent global dissemination. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1997, vol. 94, no. 18, pp. 9869–9874. <https://doi.org/10.1073/pnas.94.18.9869>
11. Thwaites G., Caws M., Chau T. T. H., D’Sa A., Lan N. T. N., Huyen M. N. T., Gagneux S. Relationship between *Mycobacterium tuberculosis* genotype and the clinical phenotype of pulmonary and meningeal tuberculosis. *Journal of Clinical Microbiology*, 2008, vol. 46, no. 4, pp. 1363–1368. <https://doi.org/10.1128/jcm.02180-07>
12. Vyazovaya A., Mokrousov I., Solovieva N., Mushkin A., Manicheva O., Vishnevsky B., Zhuravlev V., Narvskaya O. Tuberculous spondylitis in Russia and prominent role of multidrug-resistant clone *Mycobacterium tuberculosis* Beijing B0/W148. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2015, vol. 59, no. 4, pp. 2349–2357. <https://doi.org/10.1128/aac.04221-14>
13. Lopez B., Aguilar D., Orozco H., Burger M., Espitia C., Ritacco V., Barrera L., Kremer K., Hernandez-Pando R., Huygen K., Van Soolingen D. A marked difference in pathogenesis and immune response induced by different *Mycobacterium tuberculosis* genotypes. *Clinical and Experimental Immunology*, 2003, vol. 133, no. 1, pp. 30–37. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2249.2003.02171.x>
14. Perdigo J., Silva C., Maltez F., Machado D., Miranda A., Couto I., Rabna P. [et al.]. Emergence of multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* of the Beijing lineage in Portugal and Guinea-Bissau: a snapshot of moving clones by whole-genome sequencing. *Emerging Microbes and Infections*, 2020, vol. 9, no. 1, pp. 1342–1353. <https://doi.org/10.1080/22221751.2020.1774425>
15. Engström A., Antonenka U., Kadyrov A., Kalmambetova G., Kranzer K., Merker M., Kabirov O. [et al.]. Population structure of drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* in Central Asia. *BMC Infectious Diseases*, 2019, vol. 19, no. 1, art. 908. <https://doi.org/10.1186/s12879-019-4480-7>

Информация об авторах

Слизень Вероника Вячеславовна – канд. мед. наук, доцент, докторант. РНПЦ пульмонологии и фтизиатрии (Долгиновский тракт, 157, 220080, Минск, Республика Беларусь). E-mail: veronal@tut.by. ORCID: 0000-0003-1846-6100.

Охремчук Артур Эдуардович – науч. сотрудник. Институт микробиологии НАН Беларуси (ул. Купревича, 2, 220114, Минск, Республика Беларусь). E-mail: okhrem4uartur@gmail.com.

Суркова Лариса Константиновна – д-р мед. наук, профессор, заведующий отделом. РНПЦ пульмонологии и фтизиатрии (Долгиновский тракт, 157, 220080, Минск, Республика Беларусь). E-mail: niipulm@tut.by.

Гуревич Геннадий Львович – член-корреспондент, д-р мед. наук, профессор, директор. РНПЦ пульмонологии и фтизиатрии (Долгиновский тракт, 157, 220080, Минск, Республика Беларусь). E-mail: niipulm@tut.by. ORCID: 0000-0001-5683-2322.

Титов Леонид Петрович – академик, д-р мед. наук, профессор, заведующий лабораторией. РНПЦ эпидемиологии и микробиологии (ул. Филимонова, 23, 220114, Минск, Республика Беларусь). E-mail: leonidtitov@tut.by. ORCID: 0000-0002-4524-3730.

Information about the authors

Slizen Veronika V. – Ph. D. (Medicine), Associate Professor, Doctoral Candidate. Republican Scientific and Practical Center for Pulmonology and Phthisiatry (157, Dolginovski tract, 220080, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: veronal@tut.by. ORCID: 0000-0003-1846-6100.

Akhremchuk Artur E. – Researcher. Institute of Microbiology of the National Academy of Sciences of Belarus (2, Kuprevich Str., 220114, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: okhrem4uartur@gmail.com.

Surkova Larisa K. – D. Sc. (Medicine), Professor, Head of the Department. Republican Scientific and Practical Center for Pulmonology and Phthisiatry (157, Dolginovski tract, 220080, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: niipulm@tut.by.

Gurevich Gennady L. – Corresponding Member, D. Sc. (Medicine), Professor, Director. Republican Scientific and Practical Center for Pulmonology and Phthisiatry (157, Dolginovski tract, 220080, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: niipulm@tut.by. ORCID: 0000-0001-5683-2322.

Titov Leonid P. – Academician, D. Sc. (Medicine), Professor, Head of Laboratory. Republican Research and Practical Center for Epidemiology and Microbiology (23, Filimonov Str., 220114, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: leonidtitov@tut.by. ORCID: 0000-0002-4524-3730.