

СОЗДАНИЕ ВЫБОРКИ КЛИНИЧЕСКИХ ИЗОЛЯТОВ *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* ЛИНИИ BEIJING-B0 И ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПРЕДИКТОРОВ ИММУННОЙ ДИСФУНКЦИИ ПАЦИЕНТОВ-ИСТОЧНИКОВ

К. В. Шур¹✉, Т. В. Умпелева², О. Б. Беккер¹, Д. А. Маслов¹, М. В. Зайчикова¹, Д. В. Вахрушева², В. Н. Даниленко¹

¹ Лаборатория генетики микроорганизмов, Институт общей генетики имени Н. И. Вавилова, Москва

² Национальный медицинский исследовательский центр фтизиопульмонологии и инфекционных заболеваний (филиал Уральского научно-исследовательского института фтизиопульмонологии), Екатеринбург

Эволюция *Mycobacterium tuberculosis* привела к появлению различных географически-ассоциированных линий бактерий, обладающих уникальными фенотипами и генотипами. Так, наиболее распространенные в мире генотипические линии Beijing и LAM проявляют высокий уровень вирулентности и трансмиссивности по сравнению с референтными штаммами *M. tuberculosis*. Однако за последние 50 лет, в результате массового применения антибиотиков, произошел очередной скачок эволюции, приведший к возникновению эпидемиологически опасных сублиний: Beijing-B0 в России, Beijing-modern-4 в Китае и KZN в ЮАР. Целью работы было исследование влияния предикторов иммунной дисфункции пациентов на тяжесть протекания туберкулезной инфекции при инфицировании *M. tuberculosis* Beijing-B0. Проводили отбор пациентов с впервые выявленным туберкулезом, вызванным *M. tuberculosis* Beijing-B0, анализировали анамнез каждого пациента-источника на предмет наличия заболеваний/состояний, вызывающих снижение иммунитета, а также определяли иммунограмму. В результате работы связи исследованных нами характеристик инфекционного процесса с состоянием иммунной системы пациента не обнаружено.

Ключевые слова: *Mycobacterium tuberculosis*, вирулентность, лекарственная устойчивость, иммунокомпрометация, Beijing-B0/W148

Финансирование: работа была выполнена в рамках проекта Министерства науки и Высшего образования России № RFMEFI61317X0068 «Роль регион-специфичных полиморфизмов генов вирулентности в формировании лекарственной устойчивости *Mycobacterium tuberculosis*».

✉ **Для корреспонденции:** Кирилл Владимирович Шур
ул. Губкина, 3, г. Москва, 119333; shurkirill@gmail.com

Статья получена: 02.06.2018 **Статья принята к печати:** 14.07.2018

DOI: 10.24075/vrgmu.2018.040

COMPILATION OF THE *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* BEIJING-B0 LINEAGE SAMPLE AND IDENTIFYING PREDICTORS OF IMMUNE DYSFUNCTION IN SOURCE PATIENTS

Shur KV¹✉, Umpeleva TV², Bekker OB¹, Maslov DA¹, Zaychikova MV¹, Vakhrusheva DV², Danilenko VN¹

¹ Laboratory of Bacterial Genetics, Vavilov Institute of General Genetics, Moscow

² National Medical Research Center for Phthisiopulmonology and Infectious Diseases (branch of the Ural Research Institute for Phthisiopulmonology), Ekaterinburg

Evolution of *Mycobacterium tuberculosis* have lead to the development of a number of lineages that have unique phenotypes and genotypes and are associated with certain geographical regions. Thus, compared to the reference strains of *M. tuberculosis*, Beijing and LAM genotypic lineages, which are the most common in the world, are highly virulent and transmissible. However, the extensive use of antibiotics over the past 50 years has caused the next evolutionary leap, which yielded new, epidemiologically dangerous sublineages: Beijing-B0 in Russia, Beijing-modern-4 in China and KZN in South Africa. This study aimed at investigating the effect the immune dysfunction predictors registered in patients have on the severity of tuberculosis (TB) developing after contracting *M. tuberculosis* Beijing-B0. We compiled a sample of patients with newly diagnosed TB caused by *M. tuberculosis* Beijing-B0, searched for the immune-suppressing diseases/conditions in their medical history and developed their immunograms. No connection was found between the state of the immune system and the characteristics of the disease we considered.

Keywords: *Mycobacterium tuberculosis*, virulence, drug resistance, compromised immune system, Beijing-B0/W148

Funding: the study is part of the project No. RFMEFI61317X0068 "The role of region-specific polymorphisms of virulence genes in the development of drug resistance by *Mycobacterium tuberculosis*" run by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation.

✉ **Correspondence should be addressed:** Kirill V. Shur
Gubkina 3, Moscow, 119333; shurkirill@gmail.com

Received: 02.06.2018 **Accepted:** 14.07.2018

DOI: 10.24075/brsmu.2018.040

По оценкам Всемирной организации здравоохранения, туберкулез является одной из главных причин смертности населения от бактериальных инфекционных заболеваний. За 2015 г. туберкулезом заболели 10,4 млн человек, в том числе 1 млн детей. До 60% всех новых случаев инфицирования приходится на Индию, Китай, Южную Африку (страны БРИКС), а также Пакистан, Индонезию и Нигерию [1]. Особую опасность представляют штаммы *Mycobacterium tuberculosis*, обладающие лекарственной устойчивостью (МЛУ, ШЛУ), доля которых среди возбудителей заболевания туберкулезом постоянно растет. Особо тревожная ситуация складывается в Индии, Китае и России (на эти страны приходится 45% от всех новых случаев выявления МЛУ-штаммов) [1–3].

В основном для выявления туберкулезной инфекции используют рентгенографический или флюорографический анализ, реже метод магнитно-резонансной томографии. Однако они позволяют выявить заболевание лишь на поздних стадиях. Кроме этих методов диагностики применяют микробиологические (посев на селективные среды с последующей микроскопией) и молекулярные (ПЦР, масс-спектрометрия, ИФА-γ, анализ липоарабиноманнана и другие) [4].

Помимо лекарственной устойчивости эпидемиологически опасной особенностью туберкулезной инфекции является фактор вирулентности [5]. Показано, что представители разных филогенетических линий *M. tuberculosis* обладают различной способностью заражать людей. Так, штаммы самой распространенной и «успешной» линии Beijing имеют повышенную вирулентность, а представители филогенетической линии LAM-KZN, характерной для Южной Африки, с высокой специфичностью поражают людей с иммунодефицитом, вызывая быстро наступающую смерть [6–8].

По предварительным оценкам, на сегодняшний день в РФ до половины изолятов, выделенных у первично обратившихся пациентов, представлены бактериями линии Beijing-B0. Линия характеризуется отсутствием лекарственно чувствительных штаммов и повышенной вирулентностью. Схожая ситуация наблюдается для линий LAM-KZN в ЮАР и Beijing-modern в Китае. Стоит отметить, что все три перечисленные линии очень молоды и возникли в последние 50–60 лет — эру применения антибиотиков [2, 9]. Существует гипотеза, что мутации в генах — мишенях антибиотиков оказывают положительный эффект и на природную лекарственную устойчивость, и на связанную с ней вирулентность [3].

Таким образом, особенно актуальны исследования, выявляющие возможности предупреждения развития эпидемий, вызванных «молодыми» линиями микобактерий туберкулеза, а также повышения эффективности противотуберкулезной терапии за счет обнаружения новых, более приспособленных, линий *M. tuberculosis* путем определения мутаций, ассоциированных с развитием лекарственной устойчивости и вирулентности [10]. Целью исследования было провести анализ тяжести протекания туберкулезной инфекции у пациентов с различным состоянием иммунной системы при инфицировании *M. tuberculosis* Beijing-B0. Для решения поставленной задачи необходимо было провести сбор и анализ клинических изолятов *M. tuberculosis* с учетом характеристик клинического проявления туберкулезной инфекции, а также определить иммунокомпрометацию пациентов с «опасными» формами туберкулеза. Помимо стандартного набора показателей для пациентов [11] и данных о лекарственной устойчивости

M. tuberculosis, необходимо было учесть и иммунный статус пациента.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Бактериальные штаммы и микробиологические среды

В работе использовали коллекцию клинических изолятов *M. tuberculosis*, принадлежащую отделению микробиологии и ПЦР-диагностики Национального медицинского исследовательского центра фтизиопульмонологии и инфекционных заболеваний (Екатеринбург). Культивирование культуры *M. tuberculosis* производили на твердой питательной среде Левенштейна–Йенсена и/или Новая (BioMedia, Россия).

Генотипирование клинических изолятов *M. tuberculosis*

Принадлежность изолятов к генотипу Beijing-B0/W148 определяли согласно рекомендациям [2]. Выделение ДНК проводили с использованием наборов «Проба НК» (ДНК-Технология, Россия) согласно инструкции производителя. Выделенную ДНК использовали для MIRU-VNTR-генотипирования с помощью коммерческого набора реагентов «ТБ-ТЕСТ» (БИОЧИП-ИМБ, Россия) согласно инструкции производителя. Продукты амплификации разделяли в 1,5% агарозном геле с окрашиванием бромистым этидием. Наличие ПЦР продукта длиной 1018 п.н. свидетельствовало о принадлежности изолята к генотипу Beijing-B0/W148.

Определение лекарственной чувствительности *M. tuberculosis*

Определение чувствительности к противотуберкулезным препаратам осуществляли методом абсолютных концентраций. Для этого по 0,2 мл суспензии исследуемой культуры, содержащей 10 млн бактериальных клеток, засеивали в пробирки с твердой средой Левенштейна–Йенсена без препаратов (контроль) или с содержанием (по отдельности) противотуберкулезных препаратов в следующих концентрациях: 1 мкг/мл изониазида; 40 мкг/мл рифампицина; 2 мкг/мл этамбутола; 30 мкг/мл канамицина, 30 мкг/мл капреомицина; 1 мкг/мл парааминосалициловой кислоты; 30 мкг/мл циклосерина; 30 мкг/мл протионамида; 2 мкг/мл офлоксацина. Культуру *M. tuberculosis* считали чувствительной, если в пробирке со средой, содержащей препарат, выросло менее 20 колоний. При наличии более 20 колоний изолят считали устойчивым (резистентным) к той концентрации препарата, которая была в среде.

Пациенты — источники клинических изолятов

В работе использовали данные анамнезов и результаты клинических исследований периферической крови пациентов, проходивших лечение в Уральском научно-исследовательском институте фтизиопульмонологии (Екатеринбург). Для проведения исследования было получено разрешение местного этического комитета (протокол №59 от 14.11.2017) и отобраны данные совершеннолетних пациентов с впервые выявленным туберкулезом. Все пациенты были разделены на две группы: в 1-ю группу вошли пациенты с иммунокомпрометацией, во 2-ю группу — пациенты без иммунокомпрометирующих состояний. Критериями включения в 1-ю группу (66 человек) были наличие инфицирования *M. tuberculosis*

Beijing-B0, инфицирование вирусом гепатита В (ВГВ), гепатита С (ВГС), вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ), наличие иммунодепрессивного синдрома (ИДС), аллергии, лимфопролиферативных заболеваний, онкологических заболеваний, ревматоидного артрита, сахарного диабета, хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ); критерии включения во 2-ю группу (34 человека): наличие инфицирования *M. tuberculosis* Beijing-B0, отсутствие иммунокомпрометирующих состояний. Критерии исключения: несовершеннолетние пациенты, пациенты со вторичным туберкулезом.

Методы статистического анализа

Статистический анализ различий был осуществлен с использованием критерия хи-квадрат (χ^2) с последующей оценкой *p*-значения ($p < 0.05$). Для расчета значений критерия χ^2 была использована программная среда R (R software v. 3.5.1).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Формирование коллекции клинических изолятов

Для поиска мутаций в генах вирулентности, потенциально ассоциированных с лекарственной устойчивостью *M. tuberculosis*, была составлена выборка клинических изолятов, выделенных от больных туберкулезом пациентов. Для анализа принадлежности изолятов *M. tuberculosis* к филогенетической линии Beijing-B0 было проведено MIRU-VNTR-генотипирование. По результатам анализа профиля было отобрано 100 изолятов *M. tuberculosis*, принадлежащих к генотипу Beijing-B0/W148.

Для каждого исследуемого изолята был также проведен тест на лекарственную чувствительность с использованием метода абсолютных концентраций. Множественная лекарственная устойчивость (МЛУ), т. е. устойчивость, по меньшей мере, к рифампицину и изониазиду выявлена у всех 100 изолятов. МЛУ⁺-фенотип (устойчивость к рифампицину, изониазиду и дополнительно устойчивость к фторхинолонам или аминогликозидам/полипептидам) выявлен у 69 изолятов.

Характеристика клинических предикторов иммунных дисфункций

Помимо определения лекарственной чувствительности отобранных изолятов микобактерий туберкулеза был проведен анализ иммунокомпрометации и клинической картины заболевания пациента — источника изолята с

учетом анамнеза пациентов и лабораторных показателей крови. Среди факторов, определяющих обратимость дисфункции иммунной системы, выделяют такие, как голодание или дефицит жизненно важных пищевых компонентов, болезни метаболизма (сахарный диабет, метаболический синдром), психическая депрессия и временный дистресс любой природы. В дополнение к этому, более глубокие нарушения функционирования иммунной системы способны вызывать: инфекции, ионизирующая радиация, химические вещества с лимфотоксическим действием и лимфопролиферативные заболевания [12]. В ходе исследования были изучены предикторы, способные запустить и/или постоянно поддерживать напряжение иммунной системы (табл. 1).

Таким образом, развитие туберкулеза возможно не только вследствие контакта с больным туберкулезом, но и по эндогенному сценарию за счет активации микобактерий туберкулеза (МБТ), находящихся в организме в течение многих лет (латентная инфекция). На основании наличия или отсутствия иммунокомпрометации пациенты были разделены на две группы.

При ко-инфекции (ВИЧ + ТБ) давность заболевания у пациентов зафиксирована в сроки от 1 месяца (когда одновременно с заболеванием туберкулезом пациент узнал о наличии ВИЧ) до 13 лет наблюдения у инфекционистов, предшествовавшего возникновению ТБ (в среднем $37,5 \pm 50,5$ месяца). Уровень вирусной нагрузки был неопределяемым у 3 человек, получавших антиретровирусную терапию (АРВ-терапию). Вирусная нагрузка у лиц, инфицированных ВИЧ, составляла от н/о (не определяется) до 1 млн ($0,22 \pm 0,35$ млн) копий в 1 мл, а количество CD4-лимфоцитов было от 148 до 1060 (611 ± 380) кл./мл ($16,0 \pm 12,3\%$).

Клиническая характеристика туберкулезной инфекции

Известно, что развитие туберкулеза происходит, как правило, в иммунокомпрометированном организме. В нашем исследовании пациентов, имеющих заболевания, оказывающие негативное действие на функцию иммунной системы, насчитывалось в 2 раза больше, чем лиц без них (66 против 34 человек). Несмотря на наличие клинических признаков иммунной недостаточности, проявления туберкулезной инфекции в обеих группах были однотипными (табл. 2).

В обеих группах в большинстве случаев пациенты имели инфильтративную форму туберкулеза. В первой группе несколько реже встречалась диссеминированная форма, но достоверных отличий не зафиксировано ($p > 0,05$). Отмечено, что внелегочные формы регистрировались

Таблица 1. Частота регистрации клинических предикторов иммунных дисфункций у пациентов с иммунокомпрометацией

Нозология	Первая группа (n = 66)	
	n	%
ВГС (вирус гепатита С)	23	34,8
ВГВ (вирус гепатита В)	4	6,1
ВИЧ (вирус иммунодефицита человека)	14	21,2
Другие проявления инфекционного синдрома	51	77,3
ИДС (иммунодепрессивное состояние), аллергический синдром	5	7,5
Лимфопролиферативные заболевания (онкология)	2	3,0
Ревматоидный артрит	1	1,5
Сахарный диабет	10	15,1
ХОБЛ (Хроническая обструктивная болезнь легких)	14	21,2

только у пациентов первой группы, что могло быть отражением степени иммунокомпрометации этих пациентов.

В табл. 3 представлены фазы туберкулезной инфекции у пациентов, включенных в исследование.

Поиск статистически значимых различий между исследуемыми группами был осуществлен с использованием критерия χ^2 . Результаты теста, представленные в табл. 3, свидетельствуют об отсутствии достоверных различий в частоте регистрации фаз специфического воспаления между выделенными группами ($p > 0,05$ для всех групп).

Лабораторные показатели, характеризующие состояние иммунной системы

Наряду с клиническими проявлениями имеются лабораторные признаки иммунных дисфункций (табл. 4). На основании отклонений в показателях можно предположить наличие иммунной недостаточности [13].

В обеих группах характеризующие функцию фагоцитарной системы показатели (количество нейтрофилов и моноцитов)

не различались (табл. 4). При изучении количества лимфоцитов, отражающих состояние клеточного звена иммунитета, достоверных различий не выявлено. Исследуя количество эозинофилов, мы обратили внимание на превышающее среднее значение стандартное отклонение, что означает наличие существенной разнородности внутри группы. Высокая разнородность группы позволяет предположить, что у пациентов первой группы эозинофилия появлялась не только вследствие аллергической реакции на лекарственные препараты, но и как проявление сопутствующей аллергопатологии паразитарной инвазии. В то же время, во второй группе причиной были исключительно аллергические реакции на лекарства, возникающие в любом организме, в том числе без иммунокомпрометации. Уровень СОЭ свидетельствовал об отсутствии различий между группами в отношении гуморального звена иммунитета.

Предположение, высказанное в отношении гуморального звена иммунитета на основании показателя СОЭ (табл. 4), подтвердилось данными о концентрации глобулинов (табл. 5).

Таблица 2. Клинические формы туберкулезной инфекции у пациентов, включенных в исследование

Клиническая форма туберкулеза	Первая группа (n = 66)		Вторая группа (n = 34)		χ^2	p
	n	%	n	%		
Инфильтративная	39	59,1	20	58,8	0,003	0,955
Диссеминированная	5	7,6	3	8,8	0,083	0,773
Туберкулома	14	21,2	6	17,6	0,003	0,955
Фиброзно-кавернозная	5	7,6	5	14,7	0,201	0,654
Внелегочной локализации	3	4,5	0	0	0,361	0,548
Итого:	66	100	34	100		

Таблица 3. Фазы туберкулезной инфекции у пациентов, включенных в исследование

Фаза специфического воспаления	Первая группа (n = 66)		Вторая группа (n = 34)		χ^2	p
	n	%	n	%		
Инфильтрации	58	87,9	30	88,2	0,021	0,885
Распада	41	62,1	25	73,5	0,145	0,704
Обсеменения	29	43,9	15	4,1	0,698	0,403
Стихания (уплотнения, рассасывания, кальцинации)	7	10,6	4	11,7	0,019	0,892

Таблица 4. Показатели периферической крови пациентов, включенных в исследование

Показатели	Первая группа (n = 66)		Вторая группа (n = 34)		95% ДИ	p	
	M	σ	M	σ			
LEU	8,36	3,33	8,22	2,52	-1,134; 1,394	0,839	
СОЭ	25,9	16,1	22,3	14,4	-2,32; 10,32	0,212	
Палочкоядерные нейтрофилы	%	3,6	5,1	2,3	4,2	-0,583; 3,383	0,165
Сегментоядерные нейтрофилы	%	59,6	11,7	56,9	12,1	-2,03; 7,63	0,253
	абс	5102	2588	4785	2076	-663; 1327	0,510
Эозинофилы	%	2,5	2,2	4,4	5,9	-2,787; 0,050	0,736
	абс	206,6	204,1	392,4	678,1	-357; 11,98	0,823
Гранулоциты	%	65,7	13,3	63,6	12,8	-2,993; 7,793	0,380
	абс	5674	2990	5384	2338	-821; 1464	0,579
Лимфоциты	%	25,6	12,5	28,1	12,7	-7,959; 2,359	0,284
	абс	1957	1015	2181	930	-651; 153	0,223
Моноциты	%	8,26	2,9	7,8	2,9	-0,665; 1,465	0,458
	абс	678	360	628	219	-86,07; 174,1	0,504

Примечание: M — среднее значение, σ — стандартное отклонение, ДИ — доверительный интервал.

Таблица 5. Показатели периферической крови пациентов, включенных в исследование

Показатели		Первая группа (n = 66)		Вторая группа (n = 34)		95% ДИ	p
		М	σ	М	σ		
Глюкоза	Ммоль/л	6,1	3,4	5,2	0,6	-0,318; 1,918	0,159
Альбумины	г/л	40,7	6,7	40,1	8,5	-2,584; 3,384	0,791
Глобулины	г/л	32,9	7,8	31,7	8,4	-1,954; 4,554	0,430
Альбумино-глобулиновый индекс	ед.	1,3	0,4	1,3	0,4	-0,146; 0,146	1,000
Общий белок	г/л	74,2	6,6	74,5	5,4	-3,134; 1,934	0,640

Данная фракция отражает количество иммуноглобулинов, определяющих уровень этого показателя. Синтез глобулинов не имел достоверных отличий у пациентов разных групп. Показатели концентрации глюкозы имели некоторые различия внутри первой группы за счет наличия в ней пациентов с сахарным диабетом. В то же время, во второй группе существенных различий внутри группы не зафиксировано, о чем свидетельствует небольшое значение стандартного отклонения. Уровни синтеза альбумина и общего белка не имели различий у пациентов разных групп.

ОБУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Для поиска особенностей протекания туберкулеза, вызванного МБТ линии Beijing-B0 нами была сделана выборка пациентов, охарактеризованных по анамнезу, наличию или отсутствию предикторов иммунной дисфункции (ВГВ и ВГС, ВИЧ, ИДС, аллергии, лимфопролиферативные заболевания, онкологические заболевания, ревматоидный артрит, сахарный диабет, ХОБЛ), а также составлена краткая иммунограмма для каждого из пациентов. Формирование такой выборки необходимо для более детального и качественного анализа особенностей протекания туберкулеза, вызванного Beijing-B0 [6], а также позволяет при проведении дальнейших сравнительных геномных исследований выявлять ключевые маркеры (мутации) у изолятов *M. tuberculosis* способствующие успешности данной линии инфицировать иммунокомпрометированных людей. Учетывание многочисленных показателей является критически важным, так как упущение или отсутствие каких-либо данных о пациенте-источнике может привести к недостоверности результатов либо к их бесперспективности [14, 15]. Так, сформированная коллекция из 1000 изолятов *M. tuberculosis*, выделенных в Самаре, не была достаточно подробно охарактеризована, что привело к невозможности продолжения начатой работы [11].

Помимо сбора и писания выборки пациентов — источников клинических изолятов *M. tuberculosis* Beijing-B0 нами был проведен анализ различий характеристик инфекционного процесса и лабораторных показателей между пациентами групп, отличающихся по наличию факторов, влияющих на состояние иммунной системы;

при разных стартовых состояниях иммунной системы клинические формы туберкулезного процесса имеют схожие черты. Нами не было выявлено существенного влияния туберкулеза, вызванного *M. tuberculosis* Beijing-B0, на клиническую картину проявления сопутствующего заболевания, а также связи показателей иммунограммы пациента, кроме тех случаев, когда были обнаружены существенные различия в характере протекания туберкулеза (только при иммунокомпрометации сильной степени, например при числе CD4⁺-лимфоцитов менее 200 кл./мл). На сегодняшний день представлен ряд исследований, демонстрирующих на молекулярном уровне [9, 10, 16], а также на животных моделях особую опасность (патогенность) штаммов данной линии [17, 18]. Возможно, что проведение полногеномного секвенирования, анализа мутаций генов вирулентности и патогенности позволит получить четкий ответ на вопрос об «опасности» данной филогенетической линии *M. tuberculosis* и связи с иммунным состоянием организма человека.

ВЫВОДЫ

Представлена проанализированная по спектру лекарственной устойчивости и пациенту-источнику выборка из 100 клинических изолятов *M. tuberculosis* Beijing-B0. Для каждого образца определены иммунокомпрометирующие состояния и сформирована иммунограмма. Данный подход представляется ключевым для проведения высококачественных геномных исследований, направленных на борьбу с эпидемией, вызванной вирулентным и лекарственно-устойчивым возбудителем туберкулеза.

На сегодняшний день не существует единого формата паспортизации клинических изолятов *M. tuberculosis*, особенно в геномных и филогенетических исследованиях. В работе не только создан паспорт для каждого изолята, но и добавлена информация о пациенте-источнике. Были собраны данные об иммунокомпрометации, состоянии крови пациента (иммунограмма), анамнез пациента. Сформированная коллекция позволит проводить более качественные и всеобъемлющие геномные исследования, а также проводить поиск взаимосвязи между иммунным статусом пациента и генотипом *M. tuberculosis*.

Литература

1. Global tuberculosis report 2017. World Health Organization. 2017: p. 250.
2. Mokrousov I, Narvskaya O, Vyazovaya A, Otten T, Jiao WW, Gomes LL, et al. Russian "successful" clone B0/W148 of *Mycobacterium tuberculosis* Beijing genotype: A multiplex PCR assay for rapid detection and global screening. *J Clin Microbiol*. 2012; 50: 3757–9.
3. Naidoo CC, Pillay M. Increased in vitro fitness of multi- and extensively drug-resistant F15/LAM4/KZN strains of *Mycobacterium tuberculosis*. *Clin Microbiol Infect*. 2014; 20: O361–O369.
4. Leylabadlo HE, Kafil HS, Yousefi M, Aghazadeh M, Asgharzadeh M.

- Pulmonary Tuberculosis Diagnosis: Where We Are? *Tuberc Respir Dis (Seoul)*. 2016; 79: 134–42.
5. Prozorov AA, Fedorova IA, Bekker OB, Danilenko VN. The virulence factors of *Mycobacterium tuberculosis*: Genetic control, new conceptions. *Russ J Genet*. 2014; 50: 775–97.
 6. 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: 3576–84.
 7. Shah NS, Auld SC, Brust JCM, Mathema B, Ismail N, Moodley P, et al. Transmission of Extensively Drug-Resistant Tuberculosis in South Africa. *N Engl J Med*. 2017; 376: 243–53.
 8. Ribeiro SCM, Gomes LL, Amaral EP, Andrade MRM, Almeida FM, Rezende AL, et al. *Mycobacterium tuberculosis* strains of the modern sublineage of the Beijing family are more likely to display increased virulence than strains of the ancient sublineage. *J Clin Microbiol*. 2014; 52: 2615–24.
 9. Zaychikova MV, Zakharevich NV, Sagaidak MO, Bogolubova NA, Smirnova TG, Andreevskaya SN, et al. *Mycobacterium tuberculosis* Type II Toxin-Antitoxin Systems: Genetic Polymorphisms and Functional Properties and the Possibility of Their Use for Genotyping. *PLoS One*. 2015; 10: E0143682.
 10. Zaychikova MV, Mikhecheva NE, Belay YO, Alekseeva MG, Melerzanov AV, Danilenko VN. Single nucleotide polymorphisms of Beijing lineage *Mycobacterium tuberculosis* toxin-antitoxin system genes: Their role in the changes of protein activity and evolution. *Tuberculosis*. 2018; 112: 11–19.
 11. Casali N, Nikolayevskyy V, Balabanova Y, Harris SR, Ignatyeva O, Kontsevaya I, et al. Evolution and transmission of drug-resistant tuberculosis in a Russian population. *Nat Genet*. 2014; 46: 279–86.
 12. Хайтов Р. М., Игнатъева Г. А., Сидорович И. Г. *Иммунология*. М.: Медицина; 2000. 432 с.
 13. Черешнев В. А., Шмагель К. В. *Иммунология*. М.: Магистр-Пресс; 2013. 448 с.
 14. Kato-Maeda M, Ho C, Passarelli B, Banaei N, Grinsdale J, Flores L, et al. Use of Whole Genome Sequencing to Determine the Microevolution of *Mycobacterium tuberculosis* during an Outbreak. *PLoS One*. 2013; 8 (3): e58235.
 15. Ibrahim M, Yar AM, Zaman G, Yan C, Khurshid M, Bokhari H. Genome sequence and analysis of *Mycobacterium tuberculosis* strain SWLPK. *J Glob Antimicrob Resist*. 2018; 13: 211–3.
 16. Li J, Chai Q-Y, Zhang Y, Li B-X, Wang J, Qiu X-B, et al. *Mycobacterium tuberculosis* Mce3E Suppresses Host Innate Immune Responses by Targeting ERK1/2 Signaling. *J Immunol*. 2015; 94: 3756–67.
 17. Haque MF, Boonhok R, Prammananan T, Chaiprasert A, Utaisincharoen P, Sattabongkot J, et al. Resistance to cellular autophagy by *Mycobacterium tuberculosis* Beijing strains. *Innate Immun*. 2015; 21: 746–58.
 18. Hanekom M, Gey van Pittius NC, McEvoy C, Victor TC, Van Helden PD, Warren RM. *Mycobacterium tuberculosis* Beijing genotype: A template for success. *Tuberculosis*. 2011; 91 (6): 510–23.

References

1. Global tuberculosis report 2017. World Health Organization. 2017: p. 250.
2. Mokrousov I, Narvskaya O, Vyazovaya A, Otten T, Jiao WW, Gomes LL, et al. Russian “successful” clone B0/W148 of *Mycobacterium tuberculosis* Beijing genotype: A multiplex PCR assay for rapid detection and global screening. *J Clin Microbiol*. 2012; 50: 3757–9.
3. Naidoo CC, Pillay M. Increased in vitro fitness of multi- and extensively drug-resistant F15/LAM4/KZN strains of *Mycobacterium tuberculosis*. *Clin Microbiol Infect*. 2014; 20: O361–O369.
4. Leylabadlo HE, Kafil HS, Yousefi M, Aghazadeh M, Asgharzadeh M. Pulmonary Tuberculosis Diagnosis: Where We Are? *Tuberc Respir Dis (Seoul)*. 2016; 79: 134–42.
5. Prozorov AA, Fedorova IA, Bekker OB, Danilenko VN. The virulence factors of *Mycobacterium tuberculosis*: Genetic control, new conceptions. *Russ J Genet*. 2014; 50: 775–97.
6. 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: 3576–84.
7. Shah NS, Auld SC, Brust JCM, Mathema B, Ismail N, Moodley P, et al. Transmission of Extensively Drug-Resistant Tuberculosis in South Africa. *N Engl J Med*. 2017; 376: 243–53.
8. Ribeiro SCM, Gomes LL, Amaral EP, Andrade MRM, Almeida FM, Rezende AL, et al. *Mycobacterium tuberculosis* strains of the modern sublineage of the Beijing family are more likely to display increased virulence than strains of the ancient sublineage. *J Clin Microbiol*. 2014; 52: 2615–24.
9. Zaychikova MV, Zakharevich NV, Sagaidak MO, Bogolubova NA, Smirnova TG, Andreevskaya SN, et al. *Mycobacterium tuberculosis* Type II Toxin-Antitoxin Systems: Genetic Polymorphisms and Functional Properties and the Possibility of Their Use for Genotyping. *PLoS One*. 2015; 10: E0143682.
10. Zaychikova MV, Mikhecheva NE, Belay YO, Alekseeva MG, Melerzanov AV, Danilenko VN. Single nucleotide polymorphisms of Beijing lineage *Mycobacterium tuberculosis* toxin-antitoxin system genes: Their role in the changes of protein activity and evolution. *Tuberculosis*. 2018; 112: 11–19.
11. Casali N, Nikolayevskyy V, Balabanova Y, Harris SR, Ignatyeva O, Kontsevaya I, et al. Evolution and transmission of drug-resistant tuberculosis in a Russian population. *Nat Genet*. 2014; 46: 279–86.
12. Хайтов РМ, Игнатъева ГА, Сидорович ИГ. *Иммунология*. М.: Медицина; 2000. 432 с.
13. Черешнев ВА, Шмагель КВ. *Иммунология*. М.: Магистр-Пресс; 2013. 448 с.
14. Kato-Maeda M, Ho C, Passarelli B, Banaei N, Grinsdale J, Flores L, et al. Use of Whole Genome Sequencing to Determine the Microevolution of *Mycobacterium tuberculosis* during an Outbreak. *PLoS One*. 2013; 8 (3): e58235.
15. Ibrahim M, Yar AM, Zaman G, Yan C, Khurshid M, Bokhari H. Genome sequence and analysis of *Mycobacterium tuberculosis* strain SWLPK. *J Glob Antimicrob Resist*. 2018; 13: 211–3.
16. Li J, Chai Q-Y, Zhang Y, Li B-X, Wang J, Qiu X-B, et al. *Mycobacterium tuberculosis* Mce3E Suppresses Host Innate Immune Responses by Targeting ERK1/2 Signaling. *J Immunol*. 2015; 94: 3756–67.
17. Haque MF, Boonhok R, Prammananan T, Chaiprasert A, Utaisincharoen P, Sattabongkot J, et al. Resistance to cellular autophagy by *Mycobacterium tuberculosis* Beijing strains. *Innate Immun*. 2015; 21: 746–58.
18. Hanekom M, Gey van Pittius NC, McEvoy C, Victor TC, Van Helden PD, Warren RM. *Mycobacterium tuberculosis* Beijing genotype: A template for success. *Tuberculosis*. 2011; 91 (6): 510–23.