

Применение молекулярно-генетических инструментов для оценки трансграничной передачи туберкулеза в Иркутской области

С. Н. Жданова*, О. Б. Огарков, Е. Д. Савилов, И. Г. Кондратов

ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека»,
г. Иркутск, Россия

Резюме

Актуальность. Иркутская область относится к территориям России, неблагоприятным по туберкулезу. Ситуация в области усугубляется существованием активных туристических и торгово-транспортных контактов с Монголией, которая является страной с более высоким бременем ТБ. **Цель.** Оценить возможность использования клинического материала от больных ТБ для реализации оперативного мониторинга в системе эпидемиологического анализа трансграничного распространения туберкулеза. **Материалы и методы.** Исследован 161 образец мокроты и операционного материала от впервые выявленных больных ТБ с положительным результатом молекулярно-генетического теста в системе GeneXpert MTB/RIF. Методом ПЦР с детекцией в реальном времени (ПЦР-РВ) с праймерами и зондами собственного дизайна была проведена идентификация эпидемических субтипов генотипа Beijing (субтипы B0/W148, Central Asian, Asian-African 2). **Результаты и обсуждение.** Использование мокроты и операционного материала с положительными результатами молекулярно-генетического теста и микроскопии в качестве диагностического образца позволяет обнаружить различия между эпидемическими субтипами генотипа Beijing в 92,9% случаев. Частота выявления российских эпидемических субтипов Central Asian (45,1%) и B0/W148 (20,3%) в клинических образцах значимо не отличается от данных по штаммам *M. tuberculosis* в Иркутской области. «Монгольский» субтип Asian-African 2 генотипа Beijing в исследуемой когорте не идентифицирован ни одним случае. **Выводы.** Полученные результаты свидетельствуют о применимости использованных тестов на клинических образцах как инструмента для экспресс-мониторинга в комплексе эпидемиологического надзора трансграничной передачи туберкулеза.

Ключевые слова: эпидемиологический надзор за туберкулезом, эпидемические субтипы, *M. tuberculosis*, клинический образец, трансграничный анализ

Конфликт интересов не заявлен.

Работа выполнена в рамках федеральной бюджетной темы № 121022500179-0

Для цитирования: Жданова С. Н., Огарков О. Б., Савилов Е. Д. и др. Применение молекулярно-генетических инструментов для оценки трансграничной передачи туберкулеза в Иркутской области. Эпидемиология и Вакцинопрофилактика. 2022;21(2): 59–65. <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2022-21-2-59-65>.

Application of New Molecular Genetic Strategies for Transborder Transmission Analysis of Tuberculosis in Irkutsk Region

SN Zhdanova**, OB Ogarkov, ED Savilov, IG Kondratov

Scientific Centre of the Family Health and Human Reproduction Problems, Irkutsk, Russian Federation

Abstract

Relevance. The Irkutsk region belongs to the territories of Russia unfavorable for tuberculosis. The situation in the region is exacerbated by the existence of active tourism and trade and transport contacts with Mongolia, which is a country with a higher burden of TB. **Aims.** To assess the applicability of using subtype-specific PCR tests on clinical samples of TB patients to cross-border transmission analysis of the *M. tuberculosis*. **Materials and methods.** we investigated the cohort of 161 sputum and surgical specimens from newly diagnosed TB patients with a positive molecular genetic test (GeneXpert). The epidemic subtypes of the Beijing genotype (subtypes B0/W148, Central Asian, Asian-African 2) were identified by the method PCR with real-time detection (RT-PCR) with primers and probes of our own design. **Results.** The use of respiratory and surgical specimens with positive results of a molecular genetic test and microscopy makes it possible to differentiate epidemic subtypes of the Beijing genotype in 92.9% of cases. The frequency of detection of the Russian epidemic subtypes Central Asian (45.1%) and B0/W148 (20.3%) in clinical samples does not differ from data strains from the Irkutsk region. The «Mongolian» subtype Asian-African 2 of the Beijing

* Для переписки: Жданова Светлана Николаевна, д. м. н., старший научный сотрудник, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», 664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16. +7 (395) 220-76-36, svetnii73@gmail.com. ©Жданова С. Н. и др.

** For correspondence: Zhdanova Svetlana N., Dr. Sci. (Med.), Senior researcher, Scientific Centre of the Family Health and Human Reproduction Problems, 16, Timiryazev st., Irkutsk, 664003, Russia. +7 (395) 220-76-36, svetnii73@gmail.com. ©Zhdanova SN, et al.

genotype was not identified in the clinical samples in any case. **Conclusions.** The results indicate the applicability of the used tests for rapid monitoring as a stage in the complex of transboundary surveillance of tuberculosis.

Keywords: TB surveillance, epidemic strains, *M. tuberculosis*, clinical sample, cross-border transmission analysis

No conflict of interest to declare.

The work was carried out within the framework of the federal budget topic No. 121022500179-0

For citation: Zhdanova SN, Ogarkov OB, Savilov ED, et al. Application of New Molecular Genetic Strategies for Transborder Transmission Analysis of Tuberculosis in Irkutsk Region. *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2022;21(2): 59–65 (In Russ.). <https://doi:10.31631/2073-3046-2022-21-2-59-65>.

Введение

Внедрение молекулярно-биологических инструментов для анализа разнообразия *M. tuberculosis* (МБТ) кардинально изменили наши представления о возможностях микробиологического мониторинга этого патогена для осуществления эффективного эпидемиологического надзора за туберкулезом (ТБ). Лабораторные методы, которые вошли в арсенал молекулярной эпидемиологии туберкулеза, постоянно расширяются и адаптируются под конкретные задачи [1]. Методы, применяемые для характеристики изолятов МБТ, развивались со времен применения первых инструментов генотипирования, они служат вспомогательным элементом к эпидемиологической информации [2,3]. Развитие лабораторных методов, изначально генотипических и впоследствии геномных, которые применяются для анализа генетических особенностей изолятов, идет параллельно с оптимизацией способов отслеживания передачи ТБ. Большой шаг в изучении молекулярной эпидемиологии туберкулеза был сделан, когда, отказавшись от ретроспективных исследований, была применена стратегия проспективного генотипирования для идентификации кластеров передачи [4]. Этот сдвиг произошел благодаря более быстрым инструментам генотипирования ДНК *M. tuberculosis* из мокроты на основе ПЦР в реальном времени [1].

Иркутская область относится к территориям России, где показатели заболеваемости, распространенности и смертности (соответственно 74,0 182,3 и 12,3 на 100 тыс. населения в 2019 г.) свидетельствуют о сохранении эпидемиологического неблагополучия [5]. Кроме того, этот регион имеет активный туристический и торгово-транспортный обмен с Монголией, которая является страной с более высоким бременем ТБ (заболеваемость в 2019 г. составляла 110,0 на 100 тыс. населения) [6].

Изоляты доминирующего генотипа Beijing являются в двух третях образцов культур, полученных из материала от больных ТБ, как на территории России, так и в Монголии [7]. Тем не менее, на уровне субгенотипирования клинические российские и монгольские варианты МБТ имеют отличия и относятся к различным кластерам современных представителей Beijing [8]. Нами разработаны и апробированы на коллекциях штаммов МБТ тесты, основанные на выявлении однонуклеотидных

полиморфизмов (SNPs), которые характерны для двух основных российских эпидемических субтипов и одного монгольского субтипа доминирующего генотипа Beijing [9]. Клинические образцы подобными методами ранее не исследовались. Использование эффективных тестов обнаружения эпидемических вариантов МБТ из диагностического материала больных ТБ до получения культуры предоставляют новые подходы для оперативного эпидемиологического анализа, что и определяет актуальность настоящего исследования. Иркутская область была определена в качестве модельного объекта потенциальной трансграничной передачи туберкулеза между Монголией и Россией.

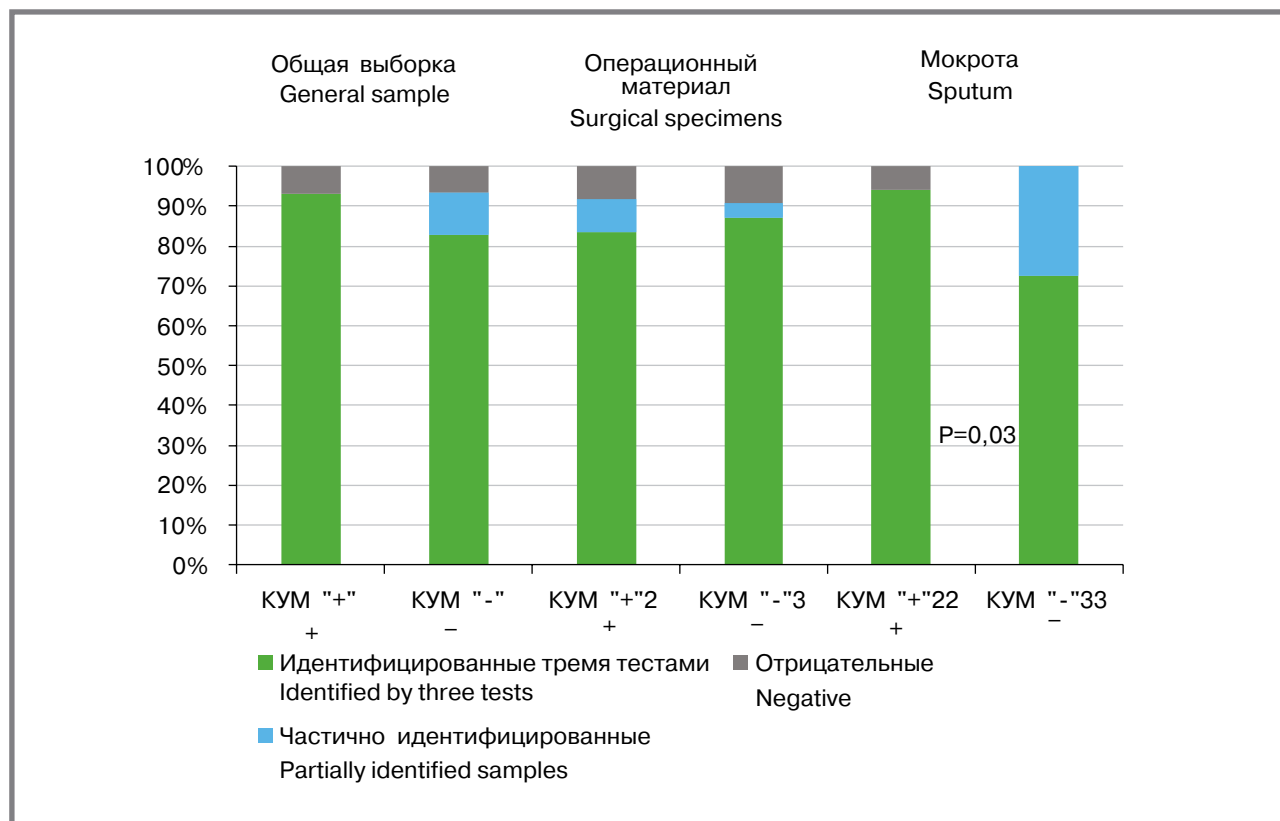
Цель – оценить возможность использования клинического материала от больных ТБ для реализации оперативного мониторинга в системе эпидемиологического анализа трансграничного распространения туберкулеза.

Материалы и методы

Исследован 161 клинический образец (74 образца мокроты и 87 операционных материалов) от взрослых (20–45 лет) пациентов Иркутской областной клинической туберкулезной больницы с впервые выявленным туберкулезом легких, у которых был получен положительный результат в системе GeneXpert MTB/RIF. Образцы отбирали с ноября 2017 г. по октябрь 2018 г.; и в настоящем исследовании они представляли собой остатки материала, который был взят для рутинного исследования в клинической и бактериологической лабораториях туберкулезной больницы. Протоколы исследования были одобрены Комитетом по этике ФГБНУ Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека (Выписка 2.1 от 03.04.2017).

ДНК *M. tuberculosis* экстрагировали из 500 мкл клинических образцов после инактивации в 500 мкл 1% смеси N-acetyl-N,N,N-trimethyl ammonium bromide (СТАВ) в 50% изопропанол, как описано ранее [10]. Перед выделением пробы центрифугировали, ДНК выделяли из осадка набором ДНК-сорб В (Интерлабсервис, Россия) согласно протоколу производителя. Для выявления эпидемических субтипов генотипа Beijing использовали ПЦР с детекцией в реальном времени с праймерами

Рисунок 1. Общие показатели апробации исследуемых тестов на клинических образцах в зависимости от результатов микроскопии мазка (положительная «+», отрицательная «-»)
Figure 1. The results of using tests in positive «+», negative «-» by microscopy of clinical specimens



и зондами собственного дизайна. Российский эпидемический субтип B0/W148 идентифицировали по наличию специфической делеции в *kdpD* гене [11], субтип Central Asian – по SNP в гене *pks17* в позиции 1887060, монгольский эпидемический кластер Beijing Asian-African 2 – по SNP в гене *fadE17* [12]. Принадлежность к генотипу Beijing определяли по наличию делеций в RD 105 и 207 [13,14]. Идентифицированными образцами считали те, на которые были получены положительные результаты всех трех используемых тестов. Частично идентифицированными считали образцы при отсутствии положительных результатов по одному из набора тестов. К неидентифицированным относили образцы, не имевшие положительных результатов ни в одном из всех использованных тестов ни по одному из каналов учета в ПЦР-РВ.

Статистическую обработку данных проводили в редакторе электронных таблиц MS Excel 14.0 и GraphPad Prism 7. Критерий χ^2 тест был использован для обнаружения значимых различий между двумя группами. Скорректированные поправкой Йейтса значения χ^2 и p были рассчитаны с 95% доверительным интервалом.

Результаты и обсуждение

В исследуемой группе клинических образцов положительные результаты генотипирования МБТ получены в 142 из 161 образца (88,2%). Доля

идентифицированных образцов операционного материала составила 88,5% (77/87), мокроты – 87,8% (65/74). Использование тестов было эффективным в 92,9% (79/85) при положительных результатах микроскопического исследования мазков и 85,1% (63/76) – при отрицательной микроскопии ($\chi^2 = 2,51$ $p = 0,11$). Стратификация мокроты и операционного материала по результатам микроскопии показала, что наиболее низкая частота генотипической идентификации была в мокроте (72,7%) с отрицательным результатом микроскопии (рис. 1).

Генотипическая структура МБТ в идентифицированных 142 клинических образцах больных Иркутской области свидетельствует о доминировании генотипа Beijing (74,6% – 106/142) с высокой долей присутствия субтипов Central Asian (45,1% – 64/142) и B0/W148 (20,3% – 29/142). Эти два субтипа составили в сумме 88,7% (94/106) генотипа Beijing. Другие Beijing субтипы (не относящиеся к Central Asian и B0/W148) составляли 8,5% (12/147). В одном случае были выявлены оба специфических маркера, свидетельствующие о наличии смешанной инфекции, вызванной Central Asian и B0/W148 субтипами генотипа Beijing МБТ. Остальные 36 образцов не имели маркеров эпидемических субтипов Beijing, по результатам делеционного анализа по RD 105/207 они отнесены к nonBeijing. Ни в одном случае в исследуемой выборке не было выявлено МБТ с маркером

Practical Aspects of Epidemiology and Vaccine Prevention

Таблица 1. Идентификация эпидемических субтипов генотипа Beijing *M. tuberculosis* в образцах мокроты и операционного материала от впервые выявленных больных Иркутской области**Table 1. Identification of the Beijing subtypes of *M. tuberculosis* in sputum and surgical specimens of newly TB cases patients in the Irkutsk region**

Биоматериал/Генотипическая характеристика Biosamples/Genotype features	Мокрота Sputum		Операционный Материал Surgical specimens		Общая выборка Total sample	
	Абс. Abs.	%	Абс. Abs.	%	Абс. Abs.	%
Beijing:	50	74,6	56	74,7	106	74,6
Субтип Central Asian Subtype Central Asian	25	37,3	39	52,0	64	45,1
Субтип B0/W148 Subtype B0/W148	19	28,3	10	13,4	29	20,3
Другие Beijing субтипы (не Central Asian, не B0/W148) other Beijing subtypes (non Central Asian, non B0/W148)	5	7,5	7	9,3	12	8,5
Микс (Central Asian+B0/W148) Mix (Central Asian + B0/W148)	1	1,5	0	0,0	1	0,7
Субтип Asian-African 2 Subtype Asian-African 2	0	0,0	0	0,0	0	0,0
nonBeijing	17	25,4	19	25,3	36	25,4
Bcero/Total	67		75		142	

монгольского эпидемического кластера Beijing Asian-African 2 (табл. 1). Значимых различий в генотипическом распределении возбудителя ТБ из мокроты и операционного материала выявлено не было ($\chi^2 = 6,81$ df = 4, $p = 0,14$).

Для получения точной картины циркуляции возбудителя ТБ среди населения необходимы универсальные долгосрочные схемы генетической идентификации всех штаммов, что требует привлечения значительных финансовых и кадровых ресурсов. Многие страны с высокой распространенностью ТБ, в том числе и Россия, могут позволить себе только выборочные молекулярно-эпидемиологические исследования. Вместе с тем становятся доступными технологии целевого эпидемиологического надзора [15]. Такие подходы реализуемы в несколько этапов: идентификация штаммов, ответственных за самые большие кластеры в популяции МБТ; полногеномное секвенирование для получения более глубоких знаний об этих кластерах; разработка ПЦР-тестов и отслеживание с их помощью актуальных вариантов МБТ на конкретной территории.

Мы реализовали такую модель анализа трансграничного распространения туберкулеза в российских регионах, граничащих с Монголией. Нами были получены ретроспективные молекулярно-эпидемиологические данные в исследованиях сопредельных территорий России (Забайкальский край, Республика Бурятия, Иркутская область) и Монголии [7]. Методом генотипирования по MIRU-VNTR 24 локусам были выявлены и охарактеризованы эпидемические кластеры изолятов, полученных из культур МБТ [8].

Из целого набора субтипов доминирующего в России и Монголии генотипа Beijing были выбраны два наиболее крупных для российской коллекции (B0/W148 и Central Asian), и один (Asian-African 2) – в монгольской выборке МБТ. Из общедоступных онлайн-ресурсов полногеномных данных были использованы специфические однонуклеотидные замены, выступающие маркерами для трех субтипов [12,16]. Далее нами были разработаны ПЦР-тесты с детекцией в реальном времени для идентификации российских эпидемических субтипов B0/W148 и Central Asian, а также «монгольского» эпидемического субтипа Beijing Asian-African 2.

Апробация тестов на изолятах МБТ показала их высокую специфичность и чувствительность определения российских эпидемических субтипов B0/W148 и Central Asian [9]. При дальнейших исследованиях российской и монгольской коллекций штаммов отмечены значительные различия в частоте выявления Beijing субтипов, характерных для каждой страны. Если российский эпидемический субтип B0/W148 и Central Asian суммарно составили 83,7% (435/754) штаммов генотипа Beijing и 57,7% в общей российской выборке, то один «монгольский» субтип Asian-African 2 – соответственно 79,4% (173/218) и 59,5 % (173/291). Таким образом, для каждой из стран были характерны разные эпидемические Beijing субтипы, которые могут быть использованы для анализа трансграничного распространения туберкулеза. Возможная прямая передача МБТ между странами была обнаружена в единичных случаях, когда штамм «монгольского» субтипа Asian-African 2 (#342-32 тип) выявлен

в одном случае в российской коллекции (Иркутская область), а субтип Central Asian (#94-32 тип) – в трех случаях среди монгольских штаммов [8].

Следующим этапом комплексного эпидемиологического анализа стали полученные в настоящем исследовании результаты идентификации эпидемических субтипов генотипа Beijing МБТ из клинических образцов, взятых от больных ТБ. Исследовались в качестве образцов остатки биоматериала из рутинных исследований, при этом нам удалось охарактеризовать только 88,2% из них с положительным результатом идентификации в системе GeneXpert MTB/RIF независимо от результатов микроскопии мазка. Учитывая, что диагностическая чувствительность метода микроскопии обычно составляет не более 50%, среди всех впервые выявленных больных туберкулезом легких [17], отбор образцов только с положительными результатами может потребовать больших временных затрат для получения достаточного количества диагностического материала для популяционных исследований. Поэтому нами была предпринята попытка оценки эффективности использования позитивных образцов, полученных в системе GeneXpert MTB/RIF.

Выбор клинических образцов в качестве материала исследования для эпидемиологического скрининга определяется также и возможностью более полной оценки популяции циркулирующих МБТ, учитывая недостаточно высокие показатели высеваемости штаммов из биологических материалов от больных ТБ [17]. По нашему мнению, свежие биоматериалы от впервые выявленных больных являются наиболее доступными и в целом отвечают условиям эпидемиологического скрининга. Молекулярно-генетический тест GeneXpert MTB/RIF проводится в стандартном порядке всем впервые выявленным больным на начальных стадиях лечения ТБ согласно нормативным требованиям (Приказ МЗ РФ от 29.12.2014 №951 «Об утверждении методических рекомендаций по совершенствованию диагностики и лечения туберкулеза органов дыхания»). При таком подходе обеспечивается оптимальность выбора клинического образца наряду с получением информации о нем по результатам других диагностических исследований (микроскопии, тест на выявление ДНК микобактерий туберкулеза с определением устойчивости к рифампицину, посевов на жидкую и плотную среды). Обязательность проведения испытания в системе GeneXpert MTB/RIF с получением быстрого результата (2 часа) при его чувствительности (70%) и специфичности (99%) (Приказ МЗ РФ от 29.12.2014 №951), позволяет целенаправленно отобрать свежие положительные образцы и использовать их для оперативного эпидемиологического анализа, что и было продемонстрировано в настоящем исследовании. При этом «отрицательная» микроскопия играла решающую роль в получении полного набора результатов генотипирования только для

образцов мокроты. В целом эффективность ПЦР-РВ тестов на выявление эпидемических субтипов генотипа Beijing (B0/W148, Central Asian, Asian-African 2) составляла 88,2%, а при «положительных» образцах – 92,9%. Таким образом, несмотря на высокую чувствительность молекулярно-генетического теста GeneXpert MTB/RIF, следует учитывать при сборе диагностического материала условие обнаружения МБТ, особенно в случае исследования мокроты.

Подобный подход для быстрого получения оперативных данных был уже неоднократно использован для идентификации МБТ различными методами. В молекулярно-эпидемиологических исследованиях были оценены возможности генотипирования *M. tuberculosis* непосредственно из свежих и замороженных клинических образцов с использованием стандартизированного метода типирования MIRU-VNTR по 12 и 24 локусам, установленного для культур МБТ [18–20]. Результаты ясно показывают, что мультилокусное типирование успешно может быть выполнено непосредственно на свежих клинических образцах с высокими показателями положительной микроскопии и на начальных стадиях лечения. Такие образцы не часто встречаются во фтизиатрической лабораторной практике, особенно при коинфекции ВИЧ-ТБ. При условии высокой бактериальной нагрузки, выявленной методом микроскопии мазка, в исследовании Alonso M., et al. проводилась очистка геномной ДНК *M. tuberculosis* на колонках, что, возможно, также способствовало высокому уровню идентификации [19]. В условиях ограниченных ресурсов такая очистка продуктов ПЦР не является частью обычного рабочего процесса даже для типирования культивируемых изолятов. Кроме того, типирование MIRU-VNTR по 12 и 24 локусам требует определенного уровня квалификации специалиста и высоких трудозатрат, что ограничивает широкую применимость метода для повсеместного молекулярно-эпидемиологического анализа.

Генотипическая структура МБТ в изучаемом клиническом материале не отличалась от данных, полученных в выборочных исследованиях изолятов. Результаты исследования согласуются с представлениями о широкой циркуляции генотипа Beijing в Иркутской области с превалированием субтипа Central Asian (45,1%), а также высокими уровнями распространения субтипа B0/W148 (20,3%) по сравнению с соседними территориями Восточной Сибири и Дальнего Востока [22,23].

Применение ПЦР-теста для идентификации «монгольского» субтипа Beijing Asian-African 2 в выборке клинических образцов от больных Иркутской области показало его применимость для анализа трансграничного распространения туберкулеза. Во всех случаях были определены МБТ, отличные от Beijing Asian-African 2, что свидетельствует об отсутствии «монгольского» субтипа в исследуемом биоматериале. В целом эти факты указывают

на сохранение обособленных эпидемических процессов ТБ в России и Монголии.

Параллельное использование трех субтип-специфических ПЦР-тестов позволило сразу охарактеризовать 92% клинических образцов и однозначно идентифицировать 65,4% выборки, выявив субтипы Central Asian и B0/W148. Такой уровень идентификации вполне допустим при эпидемиологическом скрининге, однако это не последний шаг в реализации комплексной модели трансграничного анализа. Мы встретились со сложностью первоначальной дифференциации МБТ на группы Beijing и non-Beijing в клинических образцах. Адаптированные к клинической практике коммерческие тест-системы (типа «Амплитуб-Beijing», ООО «Синтол», Россия) имеют достаточно высокие требования к количеству ДНК, что отражается на их чувствительности в выявлении МБТ в мокроте и операционном материале. Мы использовали в качестве альтернативы делеционный анализ по региону различий RD105/207, позволяющий также дифференцировать Beijing и non-Beijing, его эффективность только 88,2% (142/161). При этом следует учитывать, что в ряде регионов России генотип Beijing составляет менее половины популяции МБТ [21,23] и требуется более подробная характеристика локальных выборок и более широкий набор субтип-специфических ПЦР тестов для отслеживания актуальных для территорий штаммов возбудителя туберкулеза.

Вместе с тем, для полной реализации анализа трансграничного распространения туберкулеза важной является развернутая характеристика штаммов с помощью высокодискриминационных методов для выявления динамических изменений в структуре популяции возбудителя. Так, недавно на основе анализа полногеномных данных штаммов эпидемического успешного варианта Beijing B0/W148 из Сибирского и Дальневосточного федеральных округов были обнаружены его Сибирский и Якутский субкластеры, для которых уже определены маркерные

однонуклеотидные полиморфизмы с целью последующей адаптации новых ПЦР к ним [24]. Разработка штамм-специфических ПЦР-тестов позволит оценить распространённость этих новых субкластеров и, вероятно, включить их в методы анализа трансграничного распространения туберкулеза на российских приграничных территориях.

Заключение

Использование разработанных нами субтип-специфических ПЦР-тестов в анализе трансграничного распространения туберкулеза между Россией и Монголией показало их применимость. В условиях ограниченных ресурсов использование целевых тестов для выявления штаммов, ранее определенных как ответственные за большой процент случаев туберкулеза, является доступной стратегией. Осуществленная нами модель трансграничного надзора сочетает в себе высокую дискриминационную способность первоначального анализа MIRU-VNTR-24 и полногеномных данных (получение целевых маркеров для разработки тестов) с недорогой и простой реализацией инструментов на основе ПЦР-РВ. Такая стратегия позволила нам с использованием трех тестов изучить 65% всех случаев впервые выявленного ТБ в нашей выборке.

Использование мокроты и операционного материала с положительными результатами молекулярно-генетических тестов и микроскопии в качестве диагностического образца позволило идентифицировать эпидемические субтипы в 92,9% из них. Такой подход дает возможность упростить экспресс-выявление случаев передачи туберкулеза на территориях, где нет систематических программ молекулярной эпидемиологии. Недорогой и простой в реализации набор тестов на основе ПЦР-РВ разрешает использовать доступные клинические образцы еще до получения чистой культуры, что значительно упрощает организацию эпидемиологического мониторинга, что и было показано на модели Иркутской области.

Литература

1. Pérez-Lago L., Martínez Lirola M., Herranz M., et al. Fast and low-cost decentralized surveillance of transmission of tuberculosis based on strain-specific PCR tailored from whole genome sequencing data: a pilot study. *Clin Microbiol Infect.* 2015 Vol. 249.e1–e9.
2. Нарвская О. В., Мокроусов И. В., Вязовая А. А. и др. Молекулярно-генетические исследования возбудителя в системе эпидемиологического надзора за туберкулезом // Медицинский альянс. 2014. № 1. С. 75–85.
3. Coll P. de Viedma D.G. Molecular epidemiology of tuberculosis // *Enfermedades infecciosas y microbiología clinica* (English ed.). 2018.Vol. 36. №4. P. 233–240.
4. Pérez-Lago L., Herranz M., Comas I., et al. Ultrafast Assessment of the Presence of a High-Risk *Mycobacterium tuberculosis* Strain in a Population // *J. Clin Microbiol.* 2016. Vol. 54(3). P. 779–81.
5. Ревякина О. В., Филиппова О. П., Фелькер И. Г. и др. Туберкулёз в Сибирском и Дальневосточном федеральных округах. Информационно-аналитический обзор. НИИИТ, 2020. – 99с. Электронное издание ISBN 978-5-6045088-0-0
6. National Statistical Office of Mongolia. Socio-Economic situation of Mongolia. Доступно на: http://1212.mn/BookLibraryDownload.ashx?url=Bulletin_2019_09_eng.pdf&ln=En (Ссылка активна на 12 декабря 2021)
7. Бадлеева М. В., Жданова С. Н., Баасансүрэн Э. и др. Молекулярно-генетические особенности туберкулеза в Монголии и граничащих с ней регионах России. *Эпидемиология и Вакцинопрофилактика.* 2017;Т.16(5):53–57.
8. Жданова С. Н., Бадлеева М. В., Хромова П. А. и др. Молекулярная эпидемиология туберкулеза с множественной лекарственной устойчивостью в Монголии и Восточной Сибири: два независимых процесса распространения доминирующих штаммов. *Инфекция и иммунитет.* 2021. Т. 11(2). С. 337–348.
9. Хромова П. А., Огарков О. Б., Жданова С. Н. и др. Выявление высокотрансмиссивных генотипов возбудителя в клиническом материале для прогноза неблагоприятного течения туберкулёза. *Клиническая лабораторная диагностика.* 2017. Т. 62. № 10. С. 622–627.
10. Ogarikov O., Mokrousov I., Sinkov V., et al. 'Lethal' combination of *Mycobacterium tuberculosis* Beijing genotype and human CD209 -336 G allele in Russian male population. *Infect. Genet. Evol.* 2012. Vol.12, № 4. P. 732–736.
11. Eurasian Patent № 032489 Олигонуклеотидные праймеры, флуоресцентные Днк-зонды и способ выявления *Mycobacterium tuberculosis* клонального комплекса 2 -W148 геномуна Beijing в клинических образцах. Доступно на: <https://www.eapo.org/en/publications/publicat/viewpubl.php?id=032489>. Ссылка активна на 12 декабря 2021.
12. Shitikov E., Kolchenko S., Mokrousov I., et al. Evolutionary pathway analysis and unified classification of East Asian lineage of *Mycobacterium tuberculosis*. *Sci. Rep.* 2017. Vol. 23, № 7(1). e9227.
13. Reed M.B., Pichler V.K., McIntosh F., et al. Major *Mycobacterium tuberculosis* lineages associate with patient country of origin. *J. Clin. Microbiol.* 2009. Vol. 47, № 4. P. 1119–1128.

14. Лац А. А., Жданова С. Н., Огарков О. Б. и др. Применение делеционного анализа по RD105 для выявления генотипа Пекин *Mycobacterium tuberculosis*. Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра Сибирского отделения Российской академии медицинских наук. 2011. Т. 78, № 2. С. 194–197.
15. Domínguez J., Acosta F., Pérez-Lago L., et al. Simplified model to survey tuberculosis transmission in countries without systematic molecular epidemiology programs // *Emerging Infectious Diseases*. 2019. Vol.25(3), P. 507–514.
16. Merker M., Blin C., Mona S., et al. Evolutionary history and global spread of the *Mycobacterium tuberculosis* Beijing lineage // *Nat. Genet.* 2015. Vol. 47, № 3. P. 242–249.
17. Отраслевые и экономические показатели противотуберкулезной работы в 2016–2017 гг. Аналитический обзор основных показателей и статистические материалы. Под ред. С. А. Стерликова. М.: РИО ЦНИИОИЗ, 2018.
18. Mokrousov I., Valcheva V., Sovhova N., et al. Ponitentiary population of *Mycobacterium tuberculosis* in Kyrgyzstan: Exceptionally high prevalence of the Beijing genotype and its Russia-specific subtype. *Infect Genet Evol.* 2009. Vol. 9. P. 1400–1405.
19. Alonso M., Herranz M., Martínez Lirio M., et al. Real-time molecular epidemiology of tuberculosis by direct genotyping of smear-positive clinical specimens. *J. Clin Microbiol.* 2012. Vol. 50. P. 1755–1757.
20. Bidovec-Stojkovic U., Seme K., Z'olnir-Dovc M., et al. Prospective Genotyping of *Mycobacterium tuberculosis* from Fresh Clinical Samples. *PLoS ONE*. 2014. Vol. 9(10). e109547.
21. Mokrousov I. *Mycobacterium tuberculosis* phylogeography in the context of human migration and pathogen's pathobiology: Insights from Beijing and Ural families. *Tuberculosis (Edinb)*. 2015. № 95, Suppl 1:S167–176.
22. Жданова С. Н., Огарков О. Б., Синьков В. В. и др. Эпидемиологическое обоснование распространения основных клонов генотипа Beijing *Mycobacterium tuberculosis* в Иркутской области. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. 2017. №6. С. 88–94.
23. Zhdanova S., Savilov E., Heyssel S.K., et al. Primary multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* in 2 regions, Eastern Siberia, Russian Federation. *Emerging Infectious Diseases*. 2013. Vol. 19, № 10. P. 1649–1652.
24. Хромова П. А., Синьков В. В., Савилов Е. Д. и др. Распространение эндемичных субклонов Beijing B0/W148 *M. tuberculosis* на территориях Сибирского и Дальневосточного федеральных округов по результатам полногеномного секвенирования. Эпидемиология и Вакцинопрофилактика. 2020;19(3):41–45.

References

1. Pérez-Lago L., Martínez Lirio M., Herranz M., et al. Fast and low-cost decentralized surveillance of transmission of tuberculosis based on strain-specific PCRs tailored from whole genome sequencing data: a pilot study. *Clin Microbiol Infect.* 2015;21(3):249.e1–9. doi: 10.1016/j.cmi.2014.10.003.
2. Narvskaya O.V., Mokrousov I.V., Vyazovaya A.A., et al. Molecular genetic studies of *M. tuberculosis* within tuberculosis epidemiological surveillance. *Med. Alysans*, 2014;75–85 (In Russ.).
3. Coll P. de Viedma D.G. Molecular epidemiology of tuberculosis. *Enfermedades infecciosas y microbiología clinica* (English ed.), 2018;36(4):233–240. doi: 10.1016/j.eimc.2018.01.001.
4. Pérez-Lago L., Herranz M., Comas I., et al. Ultrafast Assessment of the Presence of a High-Risk *Mycobacterium tuberculosis* Strain in a Population. *J Clin Microbiol.* 2016; 54(3):779–81. doi: 10.1128/JCM.02851-15
5. Revyakina O.V., Filipova O.P., Fel'ker I.G., Pavlenko I.V., Naryshkina S.L., Cherednichenko A.G. Key indicators of TB control program in the Siberian and Far Eastern federal districts. *Informatsionno-analiticheskiy obzor. NNIT.* 2020;99 (In Russ.). doi: 10.13140/RG.2.2.36433.56169.
6. National Statistical Office of Mongolia. Socio-Economic situation of Mongolia. Available at: http://1212.mn/BookLibraryDownload.ashx?url=Bulletin_2019_09_eng.pdf&ln=En. Accessed: 12 Dec 2021.
7. Badleyeva M.V., Zhdanova S.N., Baasansuren E., et al. Molecular-Genetic Features of Tuberculosis in Mongolia and in Russian Bordering Regions. *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2017;16(5):53–57 (In Russ.). doi: 10.31631/2073-3046-2017-16-5-53-57
8. Zhdanova S.N., Badleyeva M.V., Khromova P.A., et al. Molecular epidemiology of multidrug resistant tuberculosis in Mongolia and Eastern Siberia: two independent dissemination processes for dominant strains. *Russian Journal of Infection and Immunity*. 2021;11(2):337–348 (In Russ.). doi: 10.15789/2220-7619-MEO-1368
9. Khromova P.A., Ogarkov O.B., Zhdanova S.N., et al. The detection of highly-transmissible genotypes of agent in clinical samples for prognosis of unfavorable course of tuberculosis. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*, 2017;62(10):622–627 (In Russ.). doi: 10.18821/0869-2084-2017-62-10-622-627
10. Ogarkov O., Mokrousov I., Sinkov V., Zhdanova S., Antipina S., Savilov E. 'Lethal' combination of *Mycobacterium tuberculosis* Beijing genotype and human CD209–336G allele in Russian male population. *Infect. Genet. Evol.* 2012;12(4):732–736. doi: 10.1016/j.meegid.2011.10.005.
11. Eurasian Patent № 032489 Oligonucleotide primers, fluorescent DNA probes and a method for detecting *Mycobacterium tuberculosis* clonal complex 2–W148 of the Beijing genotype in clinical samples. Available at: <https://www.eapo.org/en/publications/publicat/viewpubl.php?id=032489>. Accessed: 12 Dec 2021.
12. Shitikov E., Kolchenko S., Mokrousov I., et al. Evolutionary pathway analysis and unified classification of East Asian lineage of *Mycobacterium tuberculosis*. *Sci. Rep.* 2017;23(1):9227.
13. Reed M.B., Pichler V.K., McIntosh F., et al. Major *Mycobacterium tuberculosis* lineages associate with patient country of origin. *J. Clin. Microbiol.*, 2009;47(4):1119–1128. doi: 10.1128/JCM.02142-08.
14. Latz A.A., Zhdanova S.N., Ogarkov O.B., et al. RD181, RD 151 AND RD142 deletion analysis of genotype Beijing *Mycobacterium tuberculosis* in patients with tuberculosis in the Irkutsk region Byulleten' Vostochno-Sibirskogo nauchnogo tsentra Sibirskogo otdeleniya Rossiyskoy akademii meditsinskikh nauk. 2011;78 (2):194–197 (In Russ.).
15. Domínguez J., Acosta F., Pérez-Lago L., et al. Simplified model to survey tuberculosis transmission in countries without systematic molecular epidemiology programs. *Emerging Infectious Diseases*. 2019; 25(3):507–514. doi: 10.3201/eid2503.181593.
16. Merker M., Blin C., Mona S., et al. Evolutionary history and global spread of the *Mycobacterium tuberculosis* Beijing lineage. *Nat. Genet.* 2015;47(3):242–249. doi: 10.1038/ng.3195.
17. Отраслевые и экономические показатели противотуберкулезной работы в 2016–2017 гг. Аналитический обзор основных показателей и статистические материалы. Ed.: S. A. Sterlikova. M.: RIO TSNIIOIZ, 2018 (In Russ.).
18. Mokrousov I., Valcheva V., Sovhova N., et al. Ponitentiary population of *Mycobacterium tuberculosis* in Kyrgyzstan: Exceptionally high prevalence of the Beijing genotype and its Russia-specific subtype. *Infect Genet Evol.* 2009;9:1400–1405. doi: 10.1016/j.meegid.2009.07.007
19. Alonso M., Herranz M., Martínez Lirio M., et al. Real-time molecular epidemiology of tuberculosis by direct genotyping of smear-positive clinical specimens. *J Clin Microbiol.* 2012;50:1755–1757. doi: 10.1128/JCM.00132-12.
20. Bidovec-Stojkovic U., Seme K., Z'olnir-Dovc M., et al. Prospective Genotyping of *Mycobacterium tuberculosis* from Fresh Clinical Samples. *PLoS ONE*. 2014;9(10): e109547. doi:10.1371/journal.pone.0109547
21. Mokrousov I. *Mycobacterium tuberculosis* phylogeography in the context of human migration and pathogen's pathobiology: Insights from Beijing and Ural families. *Tuberculosis (Edinb)*. 2015;95, Suppl 1:S167–176.
22. Zhdanova S.N., Ogarkov O.B., Sinkov V.V., et al. Epidemiological study of main clones distribution genotype Beijing of *Mycobacterium tuberculosis* within Irkutsk region. *Journal of Microbiology Epidemiology and Immunobiology*. 2017;6:88–94.
23. Zhdanova S., Savilov E., Heyssel S.K., et al. Primary multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* in 2 regions, Eastern Siberia, Russian Federation. *Emerging Infectious Diseases*. 2013;19(10):1649–1652.
24. Khromova P.A., Sinkov V.V., Savilov E.D., et al. Dispersal of Beijing B0/W148 *M. tuberculosis* Endemic Subclones in Territories of the Siberia and Far Eastern Federal District by Whole Genome Study. *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2020;19(3):41–45 (In Russ.). doi: 10.31631/2073-3046-2020-19-3-41-45

Об авторах

- **Светлана Николаевна Жданова** – д. м. н., старший научный сотрудник, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», г. Иркутск, Россия. +7 (395) 220-76-36, svetnii73@gmail.com. ORCID 0000-0001-7160-9700.
- **Олег Борисович Огарков** – д. м. н., заведующий отделом Эпидемиологии и микробиологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», г. Иркутск, Россия. +7 (395) 220-76-36, obogarkov@gmail.com. ORCID: 0000-0002-3168-1983.
- **Евгений Дмитриевич Савилов** – д. м. н., профессор, главный научный сотрудник, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», г. Иркутск, Россия. +7 (395) 220-76-36, savilov47@gmail.com. ORCID: 0000-0002-9217-6876.
- **Илья Геннадьевич Кондратов** – к. б. н., научный сотрудник, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», г. Иркутск, Россия. +7 (395) 220-76-36, kondratovig@mail.ru. ORCID: 0000-0002-2631-4724.

Поступила: 17.12.2021. Принята к печати: 21.04.2022.

Контент доступен под лицензией CC BY 4.0.

About the Authors

- **Svetlana N. Zhdanova** – Dr. Sci. (Med.), Senior researcher, Scientific Centre of the Family Health and Human Reproduction Problems, Irkutsk, Russian Federation. +7 (395) 220-76-36, svetnii73@gmail.com. ORCID: 0000-0001-7160-9700.
- **Oleg B. Ogarkov** – Dr. Sci. (Med.), Head of Epidemiology and Microbiology Department, Scientific Centre of the Family Health and Human Reproduction Problems, Irkutsk, Russian Federation. +7 (395) 220-76-36, obogarkov@gmail.com. ORCID: 0000-0002-3168-1983.
- **Eugeny D. Savilov** – Dr. Sci. (Med.), Professor, Scientific Centre of the Family Health and Human Reproduction Problems, Irkutsk, Russian Federation. +7 (395) 220-76-36, savilov47@gmail.com. ORCID: 0000-0002-9217-6876.
- **Ilya G. Kondratov** – Cand. Sci. (Bio.), Researcher, Scientific Centre of the Family Health and Human Reproduction Problems, Irkutsk, Russian Federation. +7 (395) 220-76-36, kondratovig@mail.ru. ORCID: 0000-0002-2631-4724.

Received: 17.12.2021. Accepted: 21.04.2022.

Creative Commons Attribution CC BY 4.0.