

*на правах рукописи*



**ЖДАНОВА СВЕТЛАНА НИКОЛАЕВНА**

**МОЛЕКУЛЯРНО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОЕ  
ИССЛЕДОВАНИЕ РАСПРОСТРАНЕНИЯ ОСНОВНЫХ  
ГЕНОТИПОВ ВОЗБУДИТЕЛЯ ТУБЕРКУЛЕЗА В СЕВЕРНОЙ  
АЗИИ**

**14.02.02 – Эпидемиология**

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени  
доктора медицинских наук

Пермь 2018

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека».

**Научный консультант:**

Заслуженный деятель науки РФ и Республики Бурятия, доктор медицинских наук, профессор  
**Савилов Евгений Дмитриевич**

**Официальные оппоненты:**

**Злобин Владимир Игоревич**, академик РАН, доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Иркутский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, заведующий кафедрой микробиологии, вирусологии и иммунологии

**Асратян Арпик Ашотовна**, доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Министерства здравоохранения Российской Федерации, отдел эпидемиологии, ведущий научный сотрудник

**Лялина Людмила Владимировна**, доктор медицинских наук, профессор, Федеральное бюджетное учреждение науки «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, заведующая лабораторией эпидемиологии инфекционных и неинфекционных заболеваний

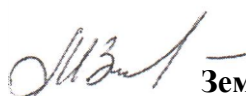
**Ведущая организация:** Федеральное государственное бюджетное учреждение «Новосибирский научно-исследовательский институт туберкулёза» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита состоится 14 июня 2018 г. в \_\_\_\_\_ часов на заседании объединенного диссертационного совета Д 999.128.02 на базе Федерального бюджетного учреждения науки «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Пермский государственный медицинский университет имени академика Е.А. Вагнера» Министерства здравоохранения Российской Федерации (614990, г. Пермь, ул. Петропавловская, д. 26).

С диссертацией можно ознакомиться на сайте [www.fcrisk.ru](http://www.fcrisk.ru) ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения» и в библиотеке ФГБОУ ВО ПГМУ им. академика Е.А. Вагнера Минздрава России (614990, г. Пермь, ул. Петропавловская, д. 26), с авторефератом на сайтах [www.fcrisk.ru](http://www.fcrisk.ru) и [www.vak.ed.gov.ru](http://www.vak.ed.gov.ru)

Автореферат разослан « \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2018 г.

Учёный секретарь  
диссертационного совета,  
доктор медицинских наук, доцент



**Землянова Марина Александровна**

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность темы исследования.** Треть населения в мире инфицированы микобактериями туберкулеза (МБТ) и более 9 млн. случаев туберкулеза (ТБ) диагностируется ежегодно, в результате чего почти 2 миллиона человек умирает каждый год (WHO., 2015). На ТБ приходится более четверти всех предотвратимых смертей среди взрослого населения в эндемичных по ТБ странах и треть смертей больных ВИЧ-инфекцией. Эти факты позволяют отнести ТБ к заболеваниям с высокой частотой смертности взрослого населения. Масштабы проблемы ТБ еще более усиливаются эволюцией и глобальным распространением штаммов микобактерий туберкулеза, устойчивых к противотуберкулезным препаратам (ППП) основного и резервного ряда. Особую озабоченность вызывают случаи лекарственной устойчивости (ЛУ), увеличивающейся от множественной лекарственной устойчивости (МЛУ) и широкой лекарственной устойчивости (ШЛУ) к вариантам инфекции, для которых не осталось эффективных терапевтических средств. Эта прогрессия привела к призывам “дальновидного политического руководства” (Abubakar I. et al., 2013; Dheda K. et al., 2014). Для того чтобы достичь желаемой цели устранения глобального туберкулеза к 2050 году заболеваемость ТБ необходимо сокращать примерно на 16% каждый год в течение следующих 40 лет. Несмотря на недавние мировые успехи в борьбе с ТБ, нынешние темпы снижения заболеваемости туберкулезом на 2% в год значительно отстают от указанной цели (WHO., 2015). Эта тревожная ситуация подчеркивает насущную необходимость новых инструментов для управления этой грозной болезнью.

Напряженность ситуации по ТБ, которая проявляется в России, тесно связана с проблемой контроля резервуара инфекции. Основу для успешного распространения возбудителя ТБ – микобактерий туберкулеза обеспечивает генетическое разнообразие. Наиболее «молодыми» и «успешными» являются Восточно-Азиатская, Центрально-Азиатская и Евро-Американская филогенетические линии (Comas I. et al., 2013). Доминирующая в Восточной и Северной Азии генетическая группа является одним из самых «успешных» вариантов МБТ (Hanekom M. et al. 2011; Mokrousov I., 2015). Она содержит штаммы, которые в основном принадлежат к генетическому семейству Beijing. Глобальное распространение отдельных субтипов Beijing в последние десятилетия (Parwati I. et al., 2010; Hanekom M. et al. 2011; Mokrousov I., 2015) связаны с их способностью вызывать вспышки болезни, внелегочную диссеминацию (Mokrousov I. et al., 2012; Hanekom M. et al. 2013; Mokrousov I., 2015), и активно развивать устойчивость к антибиотикам (Mokrousov I. et al., 2006; Lasunskaja E. et al., 2010; Parwati I. et al., 2010). Ведущую роль в их экспансии отдают миграционным факторам, обеспечивающим географическое распространение, социальным и

генетическим особенностям восприимчивой популяции, способствующей закреплению новых клонов и формированию активного резервуара инфекции на локальной территории (Mokrousov I., 2015). Следует отметить, что взаимодействие между адаптированными к местным условиям штаммами МБТ и географически соответствующей популяцией хозяина в целом зависит от сформировавшегося общего иммунного ответа, но эти взаимодействия могут быть сорваны рядом факторов, среди которых важную роль играет ВИЧ-инфекция (Fenner L. et al., 2013).

Выявлены различные генетические маркеры, позволяющие не только классифицировать и описывать существующие клоны, но и строить различные модели и сценарии их происхождения и эволюции, как в глобальном масштабе, так и в локальных ситуациях. Азиатский регион России всегда имел более высокий уровень бремени туберкулеза по сравнению с Европейской частью страны (Краснов В. и др., 2012). Кроме того, за Уралом широкомасштабно развивается эпидемия ВИЧ-инфекции, имеющая немалый вклад в заболеваемость ТБ (Туберкулез в Российской Федерации..., 2015). Сибирский и Дальневосточный Федеральные округа долго оставались за пределами изучения молекулярной эпидемиологии ТБ в России. Это создало значительные ограничения знаний о локальных молекулярно-эпидемиологических характеристиках МБТ, позволяющих составить более точную картину циркулирующих популяций возбудителя и построить достоверные сценарии их возникновения, дальнейшей истории распространения и прогноза на будущее. Указанные аспекты и определили выбор темы настоящего исследования.

**Степень разработанности темы исследования.** Основные аспекты молекулярной эпидемиологии ТБ изучались многими учеными, начиная с начала 90-ых годов в зарубежных странах (van Soolingen D., Supply P., Kremer K., Small P., Niemann S., Gagneux S., Drobniewski F., Allix-Béguet C., Yang Z., Iwamoto T., Kato-Maeda M., Wada T., Sola C., Ferdinand S., Filliol I., Rastogi N., Bifani P., Parwati I., Borrell S., Glynn J., Alexander D., Nguyen D., Pepperell C., Lazzarini L., Kurepina N., Nikolaevski V., Balabanova I., Zozio T., Allix C., Stavrum R., Millet J., Shen X., Yang C., Liu Y., и др.) и в России (Мокроусов И., Нарвская О., Черноусова Л., Андреевская С., Смирнова Е., Огарков О., Марьяндышев А., Маркелов Ю., Тунгусова О., Шемякин И., Сурикова О., Филипенко М., Дымова М., Шитиков А.)

Основные направления этих исследований можно свести к следующим:

- Молекулярно-генетическая характеристика изолятов МБТ в регионах мира с различным бременем туберкулеза;
- Филогеографическое моделирование: построение сценариев происхождения представителей *Mycobacterium tuberculosis complex*, направления эволюции древних и современных клонов МБТ;

- Лекарственно устойчивый ТБ: молекулярные механизмы развития устойчивости МБТ к ПТП; мутации, ответственные за формирование лекарственно-устойчивых форм МБТ, их распространенность и связь с клональной принадлежностью и клинико-эпидемиологическими проявлениями ТБ;
- Изучение эпидемической передачи МБТ и расследование вспышек ТБ в ретроспективных и проспективных исследованиях по молекулярно-генетическим данным;
- Изучение распространенности генетических маркеров устойчивости/чувствительности к ТБ в различных расовых и этнических группах населения.

Уровень исследованности перечисленных направлений непрерывно растет с появлением новых молекулярно-генетических инструментов. Полученная информация о локальных клонах МБТ, их взаимоотношениях с человеческой популяцией позволяет создавать глобальные базы данных и прогнозировать течение эпидемического процесса туберкулеза. Сформировано единое представление о вероятной дате возникновения современных генотипов МБТ в России. При общем мнении о том, что до появления генотипа Beijing в России были распространены другие клоны, близкие к европейским и центрально-азиатским, время и источник заноса штаммов Восточно-Азиатской генетической линии и их укоренения остается дискуссионным. Острой остается проблема установления роли больных ВИЧ-инфекцией как резервуара инфекции туберкулеза, значение этой популяции больных в распространении наиболее трансмиссивных вариантов возбудителя в условиях ко-эпидемии ВИЧ-инфекции и ТБ. Мало разработаны подходы к экспресс-диагностике высокотрансмиссивных генотипов/субтипов МБТ для эпидемиологического мониторинга и применения в клинической практике.

### **Цель исследования**

Совершенствование подходов эпидемиологического надзора туберкулеза на основе результатов молекулярно-эпидемиологического мониторинга основных генотипов возбудителя в Северной Азии.

### **Задачи исследования:**

1. Оценить проявления эпидемического процесса туберкулеза в его многолетней динамике на изучаемых территориях.
2. Провести анализ молекулярно-генетической гетерогенности популяции *M. tuberculosis* в Северной Азии.
3. Дать молекулярно-генетическую характеристику штаммов *M. tuberculosis* с различной лекарственной устойчивостью.
4. Оценить резервуар инфекции при ВИЧ-ассоциированном туберкулезе.

5. На основе анализа эволюционных (филогенетических) взаимоотношений между генотипами выявить их эпидемически значимые варианты и создать эпидемиологическую модель, объясняющую происхождение и распространение на территории Северной Азии современных субтипов *M. tuberculosis*.

6. Разработать метод выявления эпидемического субтипа CC2/W148 генотипа Beijing *M. tuberculosis*, пригодный для применения в практике эпидемиологического надзора туберкулеза.

**Научная новизна исследования:**

Оценена структура популяции возбудителя туберкулеза на обширной территории Северной Азии (Иркутская область, Республики Бурятия и Саха (Якутия), Забайкальский край). Выявлены основные генотипы и их субтипы, ответственные за эпидемическое распространение инфекции и формирование множественной лекарственной устойчивости.

Выявлено неравномерное распространение эпидемических субтипов генотипа Beijing на изучаемых территориях. Установлена их роль в формировании высоких уровней распространенности множественной лекарственной устойчивости. Обнаружены эндемичные варианты генотипов Beijing BL7 (MIT 642) и S (MIT 256), сохранившие эпидемическую значимость.

Предложена эпидемиологическая модель распространения генотипов возбудителя туберкулеза на исследуемых территориях в период освоения Сибири (начиная с XVII в.), в рамках модели объяснено существование “эндемичных эпидемических генотипов” в Бурятии и Саха (Якутия). Получено подтверждение гипотезы экспансии эпидемического субтипа CC2/W148 генотипа Beijing в России во второй половине XX века. По результатам сравнительного исследования территорий Северной Азии (Иркутская область, Республики Бурятия, Саха (Якутия) и Забайкальский край) и Северо-Восточной Азии (Монголия) определены границы и направление эпидемической экспансии субтипа CC2/W148 генотипа Beijing. Распространение субтипа CC2/W148 в Северной Азии ограничено территорией России. Получены доказательства активного вытеснения субтипом CC2/W148 генотипа Beijing других эпидемических вариантов возбудителя на изучаемых территориях.

Сформулирован прогноз дальнейшего нарастания доли субтипа CC2/W148 генотипа Beijing в распространении МЛУ-ТБ в России. Разработан ПЦР-РВ метод выявления эпидемического субтипа CC2/W148 генотипа Beijing, пригодный для применения в практике эпидемиологического надзора за ТБ.

### **Теоретическая и практическая значимость работы:**

Составлена схема пространственного распределения популяции возбудителя ТБ на территории Северной Азии (Иркутская область, Республики Бурятия и Саха (Якутия), Забайкальский край).

Разработанные подходы и полученные данные позволяют оптимизировать систему мониторинга в рамках эпидемиологического надзора за туберкулезом. Сформулирована концепция экспансии генотипа Beijing в России, последним событием этого процесса было быстрое распространение субтипа CC2/W148 во второй половине XX века. Определено, что Монголия не является источником заноса эпидемического субтипа CC2/W148 в Россию. Обосновано, что активность миграционных процессов в СССР в середине XX века сыграла ведущую роль в успешности распространения эпидемического субтипа CC2/W148. Характер распространения эпидемического субтипа CC2/W148 генотипа Beijing на исследуемых территориях в последние десятилетия позволяет предсказать увеличение доли случаев первичного МЛУ-ТБ, вызванного штаммами этого субтипа, на территории Якутии и относительную стабилизацию этого процесса на других территориях Северной Азии.

Разработан ПЦР-РВ метод выявления эпидемического субтипа CC2/W148 генотипа Beijing, пригодный для применения в практике эпидемиологического надзора туберкулеза и в работе фтизиатрической службы. Высокая чувствительность и специфичность метода позволяет применять его и в практической работе фтизиатрической службы для предсказания неблагоприятных исходов туберкулеза легких.

Представленные в работе данные, касающиеся обобщенной информации о современной структуре популяции возбудителя ТБ в России, роли отдельных субтипов в формировании резервуара инфекции МЛУ-ТБ могут быть полезны при подготовке специалистов (эпидемиологов, фтизиатров и инфекционистов) – на додипломном уровне и в процессе последипломного образования.

### **Методология и методы исследования**

Методологической основой диссертационного исследования послужили труды отечественных и зарубежных специалистов в области общей и молекулярной эпидемиологии туберкулеза, применение общенаучных подходов и специальных методов научного познания (описательные и аналитические (типа «случай-контроль») эпидемиологические методы, молекулярно-генетические методы (MIRU-VNTR генотипирование, делеционный анализ по RD, выявление маркерных генов резистентности и определение их нуклеотидной последовательности), филогенетические и статистические методы).

### **Положения, выносимые автором на защиту:**

1. Клональная структура штаммов МБТ в Северной Азии носит неоднородный характер, отражающий особенности эпидемической экспансии субтипов генотипа Beijing.
2. Проявлением недавней экспансии генотипа Beijing в России является распространение субтипа CC2/W148 в Саха (Якутия), территория которой оказывается одним из последних регионов Северной Азии, где происходит наиболее активное укоренение нового для популяции республики эпидемического генотипа. Границы распространения субтипа CC2/W148 в азиатском регионе России совпадают с территориальными границами России.
3. Сценарий возникновения эндемичного для Саха (Якутии) эпидемического варианта МБТ генотипа S (MIT 256), реконструированный по результатам филогенетического моделирования, предположительно имеет связь с первой волной освоения Сибири в 17-18 вв. Длительная “успешная” история существования генотипа S позволила сформировать активный резервуар инфекции среди всех этнических групп населения Саха (Якутии) и вносит значительный вклад в развитии МЛУ-ТБ в настоящее время.
4. Туберкулез у больных ВИЧ инфекцией развивается в результате заражения тем же спектром вариантов возбудителя, что и в общей популяции. На фоне ВИЧ-инфекции увеличивается риск возникновения ТБ, вызванного микст-генотипами.

### **Степень достоверности и апробация результатов**

Требуемая степень достоверности полученных результатов исследования определена достаточным объемом информации, характеризующей заболеваемость туберкулезом и ее следствия; соответствующим выбором и объемом объектов наблюдения, репрезентативностью выборок из популяции возбудителя (в совокупности составляющей коллекцию более полутора тысяч штаммов, полученных в мониторинговых исследованиях с 2010 по 2015 гг.), использованием современных методов для решения поставленных задач, в том числе подробной статистической обработкой первичного материала. Сформулированные положения, выводы аргументированы, логически обоснованы последовательным и многосторонним анализом полученных данных.

Результаты настоящего исследования внедрены в учебный процесс Иркутской Государственной Медицинской Академии последипломного образования – филиала ФГБОУ ДПО РМАНПО МЗ РФ: материалы диссертационной работы используются в учебном процессе при чтении лекций и проведении семинарских занятий со студентами, ординаторами и врачами на кафедре эпидемиологии и микробиологии и на кафедре туберкулеза. Результаты исследований включены в учебный курс «Социальные болезни и их биологические причины» для бакалавров и магистров кафедры микробиологии ФГБОУ ПО



ИГУ. По результатам исследований подготовлены и опубликованы учебно-методические пособия для практического использования: учебные пособия «Генетическая диагностика туберкулеза» (2013) и «Причинность в эпидемиологии» (2015), пособия для врачей «Особенности течения туберкулезного процесса в зависимости от генотипов микобактерий туберкулеза в условиях региона Крайнего Севера и принципы лечения» (2016), «Молекулярная эпидемиология» (2017) и «Молекулярно-эпидемиологический мониторинг популяции возбудителя туберкулеза в Восточносибирском регионе» (2017).

Подана заявка в Евразийскую патентную организацию (заявка № 201700085). Получен Акт внедрения в практику фтизиатрической службы МЗ Республики Бурятия.

Основные результаты диссертационной работы доложены и обсуждены на конференциях: II Сибирский конгресс по экологии с международным участием «Медицина, фармация и экология» – МАНЭБ, Иркутск-Байкал, 2010; научно-практическая конференция с международным участием «Этиологические, эпидемиологические и клинические аспекты инфекционных болезней» (Иркутск, 15-17 сентября, 2011); научно-практическая конференция с международным участием «Мониторинг туберкулеза и сопутствующие заболевания», (Иркутск, 30 июня - 1 июля, 2011); научно-практическая конференция «Актуальные проблемы противотуберкулезной помощи и перспективы ее совершенствования» (Улан-Удэ, 25-26 августа, 2011); Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием «Окружающая среда и здоровье населения» Иркутск, (5-7 октября, 2011); The 15th International Congress on Infectious Diseases (Bangkok, June 13-16, 2012); научная конференция с международным участием «Фундаментальные и прикладные аспекты инфекционной патологии», посвященной 100-летию института эпидемиологии и микробиологии ФГБУ «НЦ ПЗСРЧ» СО РАМН (Иркутск, 27-28 сентября, 2012); научно-практическая конференция, посвященная 90-летию со дня образования госсанэпидслужбы РФ (Иркутск, 4 октября, 2012), научно-практическая конференция, посвященная 80-летию со дня образования туберкулезной службы в Бурятии (Улан-Удэ, 5 октября, 2012), межрегиональная научно-практическая конференции «Совершенствование организации противотуберкулезных мероприятий в условиях Крайнего Севера и Дальнего Востока» (Якутск, 12-14 февраля, 2013); международная конференция «Молекулярная эпидемиология актуальных инфекций» (Санкт-Петербург, 5-7 июня, 2013); 45th Union World Conference on Lung Health (Paris, 28-31 October, 2014); межрегиональная научно-практическая конференция с международным участием «Эффективное решение проблем туберкулеза: от научной идеи до медицинской практики» (Новосибирск, 18-20 июня, 2014); International Meeting on Emerging Diseases and Surveillance (Vienna, October 31 – November 3, 2014); симпозиум «Новые приоритеты противотуберкулезной работы в циркумполярных

регионах Арктики» (Якутск, 2-3 сентября, 2015); 46th Union World Conference on Lung Health, (Cape Town, 2-6 December, 2015); 10th anniversary International Multiconference «Bioinformatics of Genome Regulation and Structure\ Systems Biology» (Novosibirsk, Russia, 29 August – 2 September, 2016); 47th Union World Conference on Lung Health to be held in The 47th Union World Conference on Lung Health (Liverpool, 26-29 October, 2016); Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием «Молекулярная диагностика 2017» (Москва, 18-20 апреля, 2017).

#### **Личный вклад автора**

Основные результаты получены автором лично, ею были сформулированы идея исследования, цели, задачи, выводы. Проведено большинство лабораторных исследований, анализ и интерпретация полученных результатов, моделирование изучаемых процессов самостоятельно. Автором была осуществлена генотипическая идентификация всей коллекции штаммов МБТ, составлена база данных генетических профилей изолятов исследуемых регионов. Доля участия автора в сборе клинико-эпидемиологической информации – 80%, в обработке данных, обобщении и анализе материала – 100%.

Клинические изоляты МБТ были собраны в Иркутской областной клинической больнице, в Республиканском противотуберкулезном диспансере им. Г.Д. Дугаровой (Улан-Удэ), в туберкулезной больнице системы УФСИН Республики Бурятия, в НПЦ «Фтизиатрия» (Якутск), в отделе инфекционных болезней (Улан-Батор). Молекулярно-генетические исследования полиморфизма МБТ, филогенетический и статистический анализ данных проведены в лаборатории эпидемически и социально значимых инфекций ФГБНУ «НЦ ПЗСРЧ». Мутации, ответственные за лекарственную устойчивость штаммов туберкулеза, определяли секвенированием по Сэнгеру в Медицинской Школе Университета Виржинии, США. Анализ 40 мутаций в генах, ответственных за устойчивость, в одной реакции при использовании микрофлюидных технологий так же выполняли в Медицинской Школе Университета Виржинии, США. ПЦР-РВ метод выявления эпидемического субтипа CC2/W148 генотипа Beijing разработан в соавторстве с О.Б. Огарковым и В.В. Синьковым.

**Публикации.** Основное содержание работы отражено в 58 научных работах, из них 36 – в рецензируемых изданиях, включенных в перечень, рекомендуемых ВАК Минобрнауки РФ для публикации основных результатов диссертаций на соискание ученой степени доктора и кандидата наук, трех монографиях, 7 статьях, опубликованных в высокорейтинговых международных журналах с IF 2.0-7.0.

**Структура и объем диссертации.** Диссертация состоит из введения, обзора литературы, главы «Материалы и методы», пяти глав собственных исследований, заключения, выводов, списка литературы, приложений. Работа изложена на 276 страницах

машинописного текста, иллюстрирована 22 рисунками и 50 таблицами. Библиографический указатель содержит 299 источников, из них 101 отечественных и 198 иностранных.

## ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

**Во введении** описана актуальность темы исследования и степень ее разработанности, сформулирована цель и задачи, показана научная новизна, теоретическая и практическая значимость, методология и методы исследования, сформулированы основные положения, выносимые на защиту, степень достоверности и апробация результатов, внедрение в практику, личный вклад автора, публикации, структура и объем диссертации.

**В первой главе** проведен анализ отечественных и зарубежных исследований, посвященных достижениям молекулярной эпидемиологии ТБ. Особое внимание уделено эпидемиологической ситуации по туберкулезу в глобальном масштабе и ее положению в регионах России. Подробно рассмотрены результаты использования современных молекулярно-биологических методов в эпидемиологических исследованиях ТБ, проанализированы основные сценарии происхождения и направления эволюции МБТ. Описаны основные тенденции распространения эпидемических вариантов возбудителя ТБ в мировом масштабе и регионе изучения – Северной Азии, оценен уровень их изученности и степени внедрения молекулярно-генетических методов в современную систему эпидемиологического надзора.

**Во второй главе** изложены материалы и методы исследования. Методология работы базировалась на эпидемиологической оценке резервуара инфекции туберкулеза в изучаемом регионе, выборе модельных точек молекулярно-эпидемиологического мониторинга популяции возбудителя, изучении спектра генетической вариабельности штаммов, собранных в ходе эпидемиологического мониторинга, получении доказательной базы для составленных сценариев возникновения и распространения эпидемически значимых вариантов *M. tuberculosis*, обосновании оптимизации методологии молекулярно-эпидемиологического мониторинга. В целом дизайн работы представлен в Таблице 1. Исследование включало шесть основных этапов. Объектом настоящего исследования являлась заболеваемость туберкулезом, ее эпидемиологические показатели и характеристики популяции возбудителя и хозяина, полученные в результате проведения молекулярно-эпидемиологического мониторинга. Для решения *задач 1 и 4* проанализированы статистические показатели, характеризующие эпидемиологическую ситуацию по туберкулезу и ВИЧ-ассоциированному туберкулезу на отдельных территориях изучения (Иркутская область, республика Бурятия, Забайкальский край, республика Якутия), в сравнении с федеральными показателями. Популяция возбудителя туберкулеза оценена по

выборочным данным собранной коллекции из 1657 штаммов *M. tuberculosis*, полученных от больных туберкулезом, проживающих на изучаемых территориях (для выполнения задач 2, 3, 4, 5 и 6).

**Таблица 1 – Объекты, материалы и методы, объемы и периоды исследований**

Территория исследования	Период, годы	Методы	Объем выборки (штаммов)
<b>1. Эпидемиологическая оценка резервуара инфекции ТБ и ВИЧ-ассоциированного ТБ</b>			
Федеральные округа РФ	2002-2015	Ретроспективный эпидемиологический анализ заболеваемости, распространенности и смертности от ТБ, ВИЧ-ассоциированного ТБ	
Иркутская область			
Республика Бурятия			
Забайкальский край			
Республика Саха (Якутия)			
<b>2. Анализ структуры молекулярно-генетической гетерогенности популяции <i>M. tuberculosis</i> в Северной Азии</b>			
Иркутская область	2010-2015	Сплошной мониторинг, картирование, Выборочные исследования штаммов от пациентов из контрастных возрастных групп; Филогеографическое моделирование	719
Республика Бурятия	2010-2014		338
Забайкальский край	2012-2015		29
Республика Саха (Якутия)	2010-2015		378
Монголия	2012-2014		309
<b>3. Изучение роли различных клонов <i>M. tuberculosis</i> в распространении МЛУ туберкулеза</b>			
Иркутская область	2010-2015	Оценка лекарственной чувствительности штаммов МБТ по фенотипическим свойствам; аналитические методы (исследования «случай-контроль»)	598
Республика Бурятия	2010-2014		306
Забайкальский край	2012-2015		27
Республика Саха (Якутия)	2010-2015		351
Монголия	2012-2014		71
Иркутская область	2010-2014		26
Республика Саха (Якутия)	2010-2013	23	
<b>4. Изучение распространенности различных генотипов <i>M. tuberculosis</i> у больных ВИЧ-ТБ</b>			
Иркутская область,	2010-2015	Выборочные исследования штаммов от больных ТБ из групп с ВИЧ-инфекцией и негативным ВИЧ-статусом; аналитические методы (исследования «случай-контроль»)	298
Республика Бурятия			56
<b>5. Моделирование распространения эпидемически значимых генотипов/субтипов <i>M. tuberculosis</i> в Северной Азии по молекулярно-генетическим данным</b>			
Иркутская область	2010-2015	Филогенетическое моделирование	
Республика Бурятия	2010-2014		
Забайкальский край	2012-2015		
Республика Саха (Якутия)	2010-2015		
Монголия	2012-2014		
<b>6. Разработка и апробация метода выявления эпидемического субтипа CC2/W148 генотипа Beijing <i>M. tuberculosis</i> (650 штаммов <i>M. tuberculosis</i>; 10 штаммов нетуберкулезных микобактерий, 78 клинических образцов)</b>			

В анализ включены выборки изолятов от больных, поступивших на стационарное лечение в Иркутскую областную клиническую туберкулезную больницу (Иркутская область), в Республиканский противотуберкулезный диспансер и туберкулезную больницу УФСИН (Республика Бурятия), НПЦ «Фтизиатрия» (Республика Саха (Якутия)), в противотуберкулезный диспансер Агинского автономного округа (Забайкальский край), Центр по контролю инфекционных заболеваний (Монголия).

Для моделирования распространения эпидемически значимых вариантов *M. tuberculosis* в Северной Азии по молекулярно-генетическим данным проведено сравнение популяционной структуры штаммов МБТ, полученных от больных ТБ из контрастных по возрасту групп. Когорту «молодых» составили пациенты до 25-ти лет, родившиеся в 1990 году и позже. В группу «пожилых» вошли больные ТБ 60-ти лет и старше, родившиеся в 1959 году и ранее. Из коллекции Саха (Якутии) в исследование штаммов, полученных их «контрастных» по возрасту групп, вошли ДНК 153 изолята МБТ: 80 - от «молодых» пациентов, 73 - от «пожилых». Штаммы выделены преимущественно от лиц якутской (83 штамма) и славянской (56 штаммов) групп. В коллекции изолятов из Иркутской области для вышеописанного сравнительного анализа отобраны 160 штаммов, преимущественно от лиц славянской национальности (156 штаммов). Когорту «молодых» составили 59 пациентов, а группу «пожилых» - 101 человек.

Когортные исследования также проведены при выявлении распространенности МЛУ, микст-инфекции (заболевания туберкулезом, вызванным двумя генотипами/субтипами МБТ) и оценки результатов стационарной фазы лечения у больных с ВИЧ-ассоциированным туберкулезом. Для эпидемиологической оценки результатов лечения с точки зрения опасности больного ТБ использован критерий прекращения бактериовыделения, документированного по результатам трехкратного бактериологического исследования клинических образцов. Исследования «случай-контроль» использованы при ретроспективном выявлении факторов риска развития МЛУ туберкулеза, вызванного разными генотипами/субтипами МБТ, при хронизации или рецидиве инфекционного процесса. Критерием включения в группу «случай» было наличие МЛУ и ШЛУ возбудителя у больных туберкулезом, а в группу «контроль» - другие результаты теста лекарственной устойчивости (сохраненная чувствительность МБТ к ПТП основного и резервного ряда, полирезистентность - устойчивость к ПТП, за исключением рифампицина и изониазида). Рассчитаны отношения шансов развития МЛУ при ТБ, вызванном определенным генотипом/субтипом МБТ в случае экспозиции (хронизация или рецидив) к частоте случаев развития МЛУ при отсутствии экспозиции (первичной МЛУ – лекарственной устойчивости МБТ, возникшей до начала лечения ПТП). Определён относительный риск (relative risk - RR) –

отношение частоты МЛУ возбудителя ТБ среди исследуемых больных, на которых оказывал влияние фактор наличия ВИЧ-инфекции, к частоте МЛУ возбудителя ТБ среди больных без ВИЧ-инфекции.

Выделение геномной ДНК и генотипирование осуществляли по следующему плану. Экстракцию ДНК штаммов МБТ проводили из убитых культур. MIRU-VNTR генотипирование и первичную идентификацию проводили по 24 локусам по протоколу сайта MIRU-VNTRplus. Для уточнения распространенности полученных профилей использовали ресурс открытой базы данных SITVIT. Генотипы семейства Beijing дополнительно субтипировали по участкам генома RD105, RD 142, RD 150, RD 181, RD 207 по Reed M. et al. (2009). Выявление субтипа B0/W148 генотипа Beijing проводили с помощью теста на обнаружение инсерции инвертированной IS6110 в межгенной области Rv2664 и Rv2665 генов (Mokrousov I. et al., 2012). Параллельно был осуществлен тест на выявление CC2/W148 по собственной разработке, позволяющей идентифицировать наличие специфической для W148 штаммов динуклеотидной делеции 2541-2542delCA в гене *kdpD* (Merker M. et al, 2015). MIRUVNTR-профили штаммов, идентифицированных как генотип Beijing, сравнивали с базой данных Merker M. et al. (2015), где приведены уникальные паттерны этого генотипа, распределенные по семи клональным комплексам CC 1-7 (clonal complexes – CCs). Уровень кластеризации (clustering rate) определяли по формуле:  $CR = (n_c - c) / n$  (Supply P. et al., 2006), где  $n_c$  – общее количество кластеризованных штаммов,  $c$  – количество кластеров,  $n$  – общее количество штаммов. За кластер принимали филогенетическую группу, состоящую из двух или более идентичных по 24-м локусам штаммов.

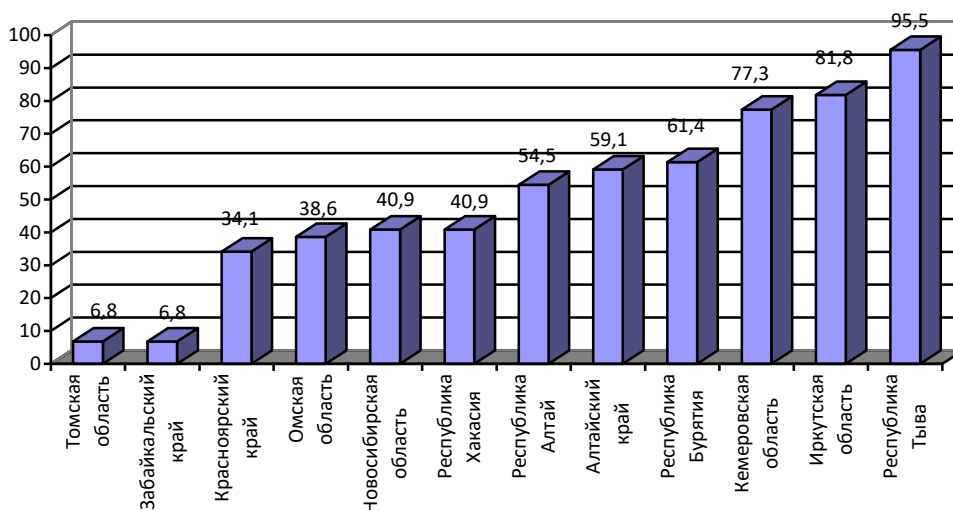
Информация об устойчивости изолятов МБТ к противотуберкулезным препаратам основного и резервного ряда получена из стандартной документации, составляемой в учреждениях фтизиатрической службы по результатам тестов, выполненных методом абсолютных концентраций для ПТП на плотной среде Левенштейна – Йенсена и с помощью автоматизированной системы на бактериологическом анализаторе ВАСТЕС MGIT 960. ПЦР маркерных генов и определение их нуклеотидной последовательности по Сэнгеру проводили на базе Факультета Инфекционных болезней Университета штата Вирджиния, США, как описано ранее (Campbell P. et al., 2011).

Филогенетический анализ штаммов МБТ осуществляли по 24 локусам MIRU-VNTR пакетами программ MIRUVNTRplus, Ugene (Okonechnikov K. et al., 2012) и FigTree (Morariu V. et al., 2008). Построение первичного UPGMA древа, анализ его методом наименьших квадратов (least squares) и построение временного древа (timetree) проведено программой MEGA 6.06. (Tamura K. et al., 2013) для реконструкции периодов возникновения штаммов генотипа S. Статистическая обработка данных проведена в редакторе электронных

таблиц MS Office 2007 Excel 2007 и в пакете статистических программ «Statistica for Windows» 6.0 в соответствии с рекомендациями, изложенными в руководствах (Боровиков В., 1997; Петри А., 2009). Различия считали статистически значимыми при  $p \leq 0,05$ .

**В третьей главе** с целью общей оценки напряженности эпидемиологической ситуации по туберкулезу проведен анализ статистических данных, характеризующих динамику эпидемического процесса инфекции на отдельных территориях СФО и ДФО в сравнении с федеральными уровнями. Изучаемые регионы азиатской части России относятся к эпидемиологически неблагоприятным территориям по туберкулезу: среднемноголетняя заболеваемость ( $119,6^0/0000$  [96,2-128,0]) и распространенность ( $277,5/0000$  [194,7-369,5]) значимо ( $p < 0,01$ ) превышают уровни европейской части. Несмотря на очевидные тенденции снижения всех показателей, темпы убыли заболеваемости, распространенности и смертности в азиатской части России более медленные по сравнению с территориями, расположенными в европейской части РФ. Все это свидетельствует о наличии стойкого резервуара инфекции, обеспечиваемого значительным количеством больных туберкулезом.

Ретроспективный эпидемиологический анализ проявлений заболеваемости населения туберкулезом позволил охарактеризовать территории, на которых осуществлен мониторинг популяции возбудителя. Исследование охватывает весь диапазон колебаний эпидемического процесса ТБ в азиатской части России – от относительно благополучных территорий (Забайкальский край), регионов типичной эпидемиологической ситуации (республики Саха (Якутия) до крайне неблагоприятных (Иркутская область и республика Бурятия) (Рисунок 1).



**Рисунок 1 – Оценка эпидемиологической ситуации по ТБ на отдельных территориях СФО за период 2002–2014 гг. по интегральному показателю, выраженному в коэффициентах наглядности, %**

**В четвертой главе** проведен анализ молекулярно-генетической гетерогенности популяции возбудителя туберкулеза в Северной Азии по результатам эпидемиологического

мониторинга, оценена распространенность основных генотипов *M. tuberculosis* на ее территории. Эпидемиологическое наблюдение за штаммами МБТ на территории Иркутской области, Республик Бурятия и Саха (Якутия) в течение шестилетнего периода позволило охарактеризовать спектр циркулирующей популяции возбудителя ТБ. Каждый из исследуемых регионов имел общие проявления и свои характерные особенности популяционной структуры *M. tuberculosis*. В целом две трети (907/1463 – 62,0%) коллекции составили представители генотипа Beijing (Таблица 2). При этом выявлена широкая вариация этого показателя на изучаемых территориях. Распространение штаммов генотипа Beijing в Республике Саха (Якутии) (РС (Я)) было значимо меньшим (162/377 – 43,0%), чем в остальных анализируемых регионах, особенно по сравнению с Иркутской областью (509/719 – 70,8%) ( $\chi^2=79,47$   $p<0,01$ ). Структура отличных от Beijing (non-Beijing) штаммов, представлена генотипами, входящими в Евро-Американскую линию: LAM (172/1463 – 11,8%), T (104/1463 – 7,1%), Ural (77/1463 – 5,3%), S (61/1463 – 4,2%), Haarlem (36/1463 – 2,5%), H (21/1463 – 1,4%), X (16/1463 – 1,1%) и Uganda (13/1463 – 0,9%). Микст генотипы встречались в 2,3% случаев (33/1463). Часть изолятов – 1,7 % (25/1463) не удалось классифицировать используемыми методами.

**Таблица 2 – Генотипы МБТ, выделенные от больных ТБ в Северной Азии, %**

Генотип/ Регион изучения	РС (Я)	Иркутская область	Бурятия	Забайкальский край	Всего	p
Beijing	43,0	70,8	64,5	62,1	62,0	* $p<0,01$
LAM	1,3	1,4	1,8	0,0	1,4	** $p<0,01$
T	8,8	11,3	16,9	3,4	11,8	* $p<0,01$
Ural	13,3	4,7	3,8	24,1	7,1	$p>0,05$
S	13,5	0,7	1,2	3,4	4,2	* $p<0,01$
Haarlem	7,2	0,6	1,5	0,0	2,5	* $p<0,01$
H	1,6	1,1	0,6	0,0	1,1	$p>0,05$
X	6,9	3,6	7,4	0,0	5,3	$p>0,05$
Uganda	2,4	0,4	0,3	0,0	0,9	$p>0,05$
orphan	1,9	1,9	0,6	6,9	1,7	$p>0,05$
Mix генотипы	0,3	3,5	1,5	0,0	2,1	$p>0,05$
Итого, штаммов	377	719	338	29	1463	

Примечание: \* – Значимые различия, полученные с использованием критерия сопряженности  $\chi^2$  при сравнении абсолютных показателей структуры генотипов МБТ из Саха (Якутии) и других территорий.

\*\* – Значимые различия, полученные с использованием критерия сопряженности  $\chi^2$  при сравнении абсолютных показателей структуры генотипов МБТ из Бурятии и других территорий.

Частоты встречаемости non-Beijing генотипов также имели отличия по отдельным территориям изучения. Генотипы T, S и Haarlem присутствовали значимо чаще в Саха (Якутии), чем в Иркутской области и Бурятии (см. Таблица 2). При этом более низкий уровень обнаружения генотипов T, S и Haarlem, который не отличался в Иркутской области



и Бурятии, отражал общий характер этих минорных генотипов, описываемый в других регионах Северной Азии (Dumova M. et al., 2011; Умпелева Т. и др., 2013) и Европейской части России (Балабанова Я. и др., 2006; Медведева Т. и др., 2007; Вязовая А. и др., 2012; Концевая И. и др., 2014; Toungousova O. et al., 2011; Shemyakin I. et al., 2004). Еще одним отличием стали более высокие уровни выявления генотипа LAM в Бурятии ( $\chi^2=11,81$   $p<0,01$ ), нашедшие объяснения в особенностях выборки штаммов от больных ТБ из пенитенциарной системы, где обнаруживается более высокая доля этого генотипа не только на изучаемой территории, но и других регионах России (Drobniewski F. et al., 2003; Mokrousov I. al., 2009; Afanas'ev M. et al., 2011). Остальные минорные генотипы МБТ имели близкие частоты обнаружения.

Выявлено широкое разнообразие штаммов генотипа Beijing, для описания географического распространения которого использована классификация, представленная в SITVIT. Доминирующими среди Beijing на всех территориях изучения, за исключением Агинского АО, были штаммы с профилем MIT 16 (335/907 – 37,0%), ранее описываемые как M2 (Mokrousov I., 2008; 2015), обнаруживаемые во всех регионах России и других точках Евразии, где проводились молекулярно-эпидемиологические исследования популяции МБТ. Оказалось, что частота обнаружения MIT 16 среди Beijing не различалась в Иркутской области (40,9% – 208/509) и Саха (Якутии) (45,7% – 74/162), но была значительно ниже в Бурятии (24,5% – 53/217), ( $\chi^2=22,50$   $p<0,01$ ).

Особый интерес представляет в исследуемой выборке генотип Beijing MIT 642 (65/905 – 7,2%), который можно рассматривать как «эндемичный» генотип, т.е. имеющий эпидемическое распространение на ограниченной территории, в данном случае на территории Бурятии (24,1% - 52/216) и Агинского АО (27,8% – 5/18), потому как в других регионах Северной Азии, встречается в единичных количествах. Отличительной чертой стало накопление хронических случаев болезни, вызванной этим вариантов возбудителя, приведшее к значимо более высоким частотам выявления его у пациентов с повторными курсами лечения (7,3% – 32/442) по сравнению с новыми случаями ТБ (3,3% - 33/987) ( $\chi^2=10,68$ ;  $p<0,01$ ). Первичная МЛУ встречалась у трети пациентов, пораженных МБТ Beijing MIT 642 (9/33), при повторных курсах лечения туберкулеза ее уровни достигали значительного превышения (81,3% – 26/32), (критерий с с коррекцией по Йетсу  $\chi^2=19,05$ ;  $p<0,01$ ).

Идентификация штаммов Beijing MIT 642 методом MIRU-VNTR 24 позволила выявить их неоднородность в целом ряде вариабельных локусов (Qub 26, Mtub 04, ETR C, Mtub21 и Qub 4156c). Классификация MIRU-VNTR- 24 профилей Beijing MIT 642 по Merker et al. (2015) показала принадлежность этой группы к BL7 клональному комплексу,

объединяющему варианты генотипа Beijing с длительной историей существования в Юго-Восточной Азии. Отнесение штаммов Beijing MIT 642 к «предковым» вариантам Beijing по профилю MIRU-VNTR подтверждено отсутствием в их ДНК специфической делеции в RD 181, что характерно для предковых линий (Luo T. et al, 2015; Yin Q. et al, 2016). В настоящей работе дана унификация описываемых штаммов, они определены как субтип Beijing BL7 (MIT 642). Еще одной отличительной чертой этих штаммов явилось наличие микст вариантов в одном образце, состоящих из штаммов Beijing BL7 (MIT 642) и B0/W148, они обнаружены в 9,8% случаев.

Высокие частоты встречаемости в Бурятии и Агинском АО одинаковых генотипов могут свидетельствовать о влиянии тесных взаимоотношений жителей этих регионов, наиболее вероятно, вследствие этнических связей. Наличие единого для разных этнических групп резервуара инфекции определяют и общие кластеры MIRU-VNTR-24 профилей штаммов. Высокий уровень кластеризации (CR=0,73) выявлен наряду с обнаружением двух крупных групп с идентичными профилями 224233342644425173343732 (24 штамма) и 224233342644425173343832 (13 штаммов), одинаково часто распределенными у разных этнических составляющих когорты больных ТБ из пенитенциарной системы и гражданского населения Бурятии (Таблица 3). Это подтверждает давность формирования резервуара инфекции, вызываемой этим субтипом, которая позволила распространиться ему в обеих этногруппах без значимых различий ( $\chi^2=0,001$  с поправкой Йетса,  $p>0,05$ ).

**Таблица 3 – Распределение основных субтипов генотипа Beijing, выделенных от больных ТБ из пенитенциарной системы и гражданского населения в Бурятии, %**

Генотип/ Субтип	Больные из пенитенциарной системы			Больные из гражданского населения		
	впервые выявленные, n=59	хронические случаи, рецидивы, n=122	всего, n=181	впервые выявленные n=127	хронические случаи, рецидивы, n=29	всего, n=156
Всего штаммов Beijing	74,2	66,5	69,1	59,8	73,2	61,8
Beijing CC1	20,1	14,2	15,9	16,3	13,4	16,0
Beijing CC2	12,8	18,1	16,7	5,4	46,8	11,0
Beijing BL7 (MIT 642)	10,8	19,7	17,0	15,2	13,2	15,0
Beijing MIT 137	7,2	0,8	2,8	3,3	0,0	2,0
Beijing MIT 571	0,0	2,7	1,5	2,2	0,0	1,9

В настоящем исследовании генотип LAM в общей выборке присутствовал в близких по величине случаях обнаружения как у впервые выявленных больных (11,6% – 114/987), так и с хроническим течением ТБ (12,2% – 53/442) и рецидивами (11,8% – (4/34)). Плотность циркуляции данной генетической группы не имела значимых различий у больных, разделенных по этническому фактору ( $\chi^2=0,007$  с поправкой Йетса;  $p>0,05$ ). Такая сходность распределения, проявленная на фоне большинства штаммов генотипа Beijing, может быть связана с давней циркуляцией генотипа LAM на изучаемой территории Северной Азии. Современным резервуаром инфекции, откуда происходит распространение штаммов генотипа LAM, считается пенитенциарная система (Toungousova O. et al, 2003; Кузнецов С. и др., 2005; Dubiley S. et al, 2010). При этом уникальной особенностью пенитенциарной системы Бурятии, где были проведены выборочные исследования возбудителя у больных ТБ, является то, что в ней находятся лица, проживавшие до этого на всех трех исследуемых территориях. Полученные данные свидетельствуют о значительной взаимосвязи популяций МБТ, циркулирующих среди больных из гражданского населения и пенитенциарной системы. Причем доля штаммов, отнесенных к LAM, была значимо выше среди больных с повторными случаями лечения ТБ ( $\chi^2=35,3$ ;  $p<0,001$ ) (Таблица 4).

**Таблица 4 – Штаммы МБТ генотипа LAM, выделенных от больных из пенитенциарной системы и гражданского населения**

Характеристика штаммов/ больных	Впервые выявленные случаи	Хронические случаи, рецидивы	Всего
Больные из гражданского населения			
Общее количество штаммов, абс.	127	29	156
Штаммы генотипа LAM, абс. (%)	21(16,5)	5 (17,2)	26 (16,7)
Больные из пенитенциарной системы			
Общее количество штаммов, абс.	59	122	181
Штаммы генотипа LAM, абс. (%)	7(11,9)	22 (18,0)	29 (16,0)

Определенную долю в структуре популяции МБТ имели штаммы семейства S – 4,2% (61/1463) преимущественно за счет изолятов из РС (Я) – 13,5% (51/377). Этот уникальный по величине и разнообразию кластер был выявлен у якутов, эвенков, эвенов и жителей славянской группы без значимых различий по этническому признаку ( $\chi^2=0,309$ ;  $p>0,05$ ). Он содержал в большинстве случаев (74,5% – 38/51) идентичный MIRU-VNTR профиль – 233325153325141344222372, идентифицируемый по 12-ти локусам как MIT 256. Подавляющее большинство штаммов семейства S были с МЛУ (60,7% – 37/61), пять штаммов имели ШЛУ. Локальная распространенность S штаммов может быть связана с длительной циркуляцией в удаленных и малонаселенных регионах Северо-Востока России. Частоты обнаружения штаммов этого генотипа в Иркутской области, Бурятии и Забайкальском крае не выходят за рамки регистрации спорадических случаев ТБ, вызванного

генотипом S, на других территориях России. В РС (Я) группа штаммов, относящихся к семейству S, выявлена среди больных с большей частотой среди пациентов с хроническими формами ТБ – 29,8% (17/57), чем среди впервые выявленных больных – 10,9% (32/310) и случаев рецидива – 20,0% (2/10) ( $\chi^2=15,83$ ;  $p<0,001$ ).

Штаммы семейства Ural, представленные только в 5,3 % (77/1463) общей выборки, обнаружили широкое генетическое разнообразие на уровне 24 MIRU-VNTR локусов в виде 56 профилей (CR=0,22). В 22 случаях они по 12-локусному профилю соответствовали MIT171 по базе SITVIT, причем 14 из них были с идентичным 24-локусным профилем 227225113223353244423363. Также были выявлены паттерны, соответствующие MIT 197, 200, 354, 381, 647, 756, 976, и близкие к ним характеристики штаммов, не идентифицируемых SITVIT, но имеющие типичные черты для Ural по MIRU-VNTR (Медведева Т. и др., 2004). Более представительная группа семейства T (104/1463) также имела высоко вариабельные паттерны (CR=0,07). Только в 12 случаях они были сгруппированы в кластеры размером от двух до четырех штаммов, самый большой кластер давал MIRU-VNTR профиль 223125153324232224223352. Еще более гетерогенная группа профилей представляла семейство Haarlem (CR=0,05). Сюда вошли 36 штаммов с MIT 45, 46, 120, 125, 152, 188, 740, 781, 1513 и девять – с Haarlem-подобными MIRU-VNTR профилями. Штаммы генотипа X отличались некластеризуемыми наборами данных 24 MIRU-VNTR локусов.

В настоящем исследовании продемонстрирована эффективность комплексного применения трех молекулярно-эпидемиологических методов для определения структуры популяции МБТ, циркулирующей среди больных ТБ на значительной территории ранее малоисследованной Северной Азии. С помощью определения делеций в RD регионах выявлено, что две трети штаммов исследуемой популяции принадлежат современному генотипу Beijing, который имеет выраженные генетические вариации в изучаемом регионе. Гетерогенность, описанная на основе результатов MIRU-VNTR типирования по 24-м локусам, обладает достаточной дискриминационной способностью, чтобы классифицировать штаммы по основным генетическим семействам МБТ. Это позволило представить характеристику основного резервуара инфекции – больных ТБ, у которых доминируют в основном два субтипа Beijing CC1 и CC2. Кроме того, определена роль отдельных вариантов, получивших эндемичное распространение: Beijing BL7 (MIT 642) – в Бурятии и отдельных территориях Забайкальского края и клональная группа S генотипа – в Саха (Якутии).

**Пятая глава** посвящена изучению роли различных субтипов *M. tuberculosis* в распространении МЛУ туберкулеза на изучаемых территориях. В полученной выборке число лекарственно чувствительных штаммов составило 35,1% (452/1286). Среди пациентов с

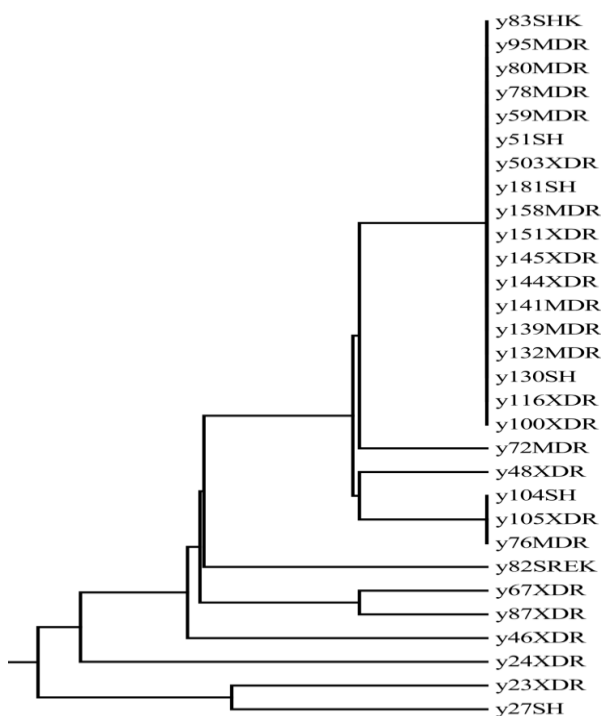
хроническим течением отмечено наибольшее соотношение устойчивых/чувствительных штаммов (8,0:1) по сравнению с впервые выявленными больными ТБ (2,1:1), что представляется вполне закономерным следствием применения нескольких курсов антибиотикотерапии. Как и следовало ожидать, большинство лекарственно чувствительных изолятов было обнаружено от ранее нелеченных больных ТБ. Две трети (68,2% – 363/532) МЛУ МБТ были изолятами генотипа Beijing без значимого приоритета среди впервые выявленных и повторных случаев лечения ТБ по данным обобщенной выборки ( $\chi^2=0,001$ ;  $p=0,982$ ). В 154 случаях из 307 изолятов Beijing CC1 были чувствительными, большинство (139/154) из которых обнаружены у впервые выявленных больных. В трети случаев 29,4% (106/306) обнаружение штаммов этого субтипа сопровождали МЛУ и ШЛУ. Более неблагоприятные характеристики имели штаммы Beijing CC2: частота МЛУ и ШЛУ была 67,3% (150/223), а чувствительными оставались лишь 17,1 % (38/223) изолятов общей выборки (Таблица 5). В семействах non-Beijing, представленных меньшим количеством, отмечалось неравномерное распределение штаммов по антибиотикоустойчивости. Если среди изолятов трех генотипов абсолютно доминировали лекарственно-чувствительные варианты: H – 64,7% (11/17), T – 68,9% (62/90), Haarlem – 81,8% (27/33), то среди представителей LAM чувствительность выявлена только в 33,3% (47/141), а доля штаммов с МЛУ и ШЛУ достигала 44,7% (63/141).

**Таблица 5 – Характеристика МЛУ/ШЛУ штаммов генотипа Beijing на изучаемых территориях**

Генотип	Количество штаммов, абс.	МЛУ/ШЛУ, %	$\chi^2$ , p
Иркутская область			
Beijing CC2	141	97 (68,8)	35,45; <b>p&lt;0,01</b>
Другие субтипы Beijing	296	112 (37,8)	
Бурятия			
Beijing CC2	45	23 (51,1)	0,67; p=0,41*
Другие субтипы Beijing	152	65 (42,8)	
Саха (Якутия)			
Beijing CC2	34	28 (82,4)	47,44; <b>p&lt;0,01</b>
Другие субтипы Beijing	118	23 (17,8)	
Общая выборка			
Beijing CC2	220	150 (67,3)	65,73; <b>p&lt;0,01</b>
Другие субтипы Beijing	566	198 (35,0)	

Примечание: \*-  $\chi^2$  с поправкой Йейтса

В настоящем исследовании по результатам MIRU-VNTR типирования в Саха (Якутии) был обнаружен филогенетический куст штаммов семейства S с высокой частотой кластеризации (CR=0,91), при отсутствии эпидемиологической связи между случаями заболевания, имевший наибольшую частоту МЛУ и ШЛУ - 79,6% (39/49) (Рисунок 2).



**Рисунок 2 – Развернутая ветвь штаммов генотипа S, циркулирующих на территории Саха (Якутии).** Буквенные обозначения соответствуют MDR – МЛУ, XDR – ШЛУ, R – устойчивость к рифампицину, S – устойчивость к стрептомицину, H – устойчивость к изониазиду, K – устойчивость к канамицину.

Штаммы семейства S с МЛУ (35 случаев) и ШЛУ (4 случая) выделены как от впервые выявленных больных (24/39), так и в случаях с рецидивами (2/3) и хроническим течением ТБ (16/19). Наблюдалось значимое преобладание распространения МЛУ и ШЛУ у S-штаммов среди изолятов non-Beijing генотипов этой территории (Таблица 6). Роль изолятов семейства S в распространении МЛУ весьма необычна как для Северной Азии и России в целом, так и в глобальном масштабе.

**Таблица 6 – Преобладание МЛУ/ШЛУ у штаммов S среди non-Beijing у больных ТБ из Саха (Якутия)**

Генотип	Количество штаммов (абс.)	МЛУ/ШЛУ (%)	$\chi^2$ *, p
S	31	24(77,4)	59,8; p<0,001
Ural	18	0(0)	
Другие non-Beijing	85	8(9,4)	

Примечание: \* Штаммы семейства S по отношению к остальным non-Beijing генотипам,  $\chi^2$  с коррекцией по Йетсу

Выборочные исследования мутаций, отвечающих за резистентность к противотуберкулезным препаратам, проведена на группе изолятов МБТ из Иркутской

области и Саха (Якутии). Выявленные мутации в группе 49 штаммов и их частоты представлены в Таблице 7.

**Таблица 7 - Частота мутаций, обнаруженных в клинических штаммах *M. tuberculosis***

Антибиотик	Выявленные в генах мутации	Доля мутаций среди фенотипически устойчивых штаммов, %	Доля мутаций в исследуемой выборке, %
Рифампицин	RRDR-регион <i>rpoB</i> -гена (Ser531Leu; Ser531Leu/Val456Gly; Ser531Leu/Thr480Ple; Ser531Leu/Thr481Ala; Leu511Pro; Gln513Lys; His516Tyr; Leu533Pro)	69,6 (16/23)	59,2 (29/49)
Изониазид	<i>katG</i> -ген (Ser315Thr Trp321Cys; Thr322Ala)	90,9 (30/33)	80,9 (34/42)
Этионамид	промотор-регион <i>inhA</i> (T(-8)A;G(-13)T;C(-15)T)	50,0 (2/4)	15,4 (4/26)
Изониазид	Промотор-регион <i>inhA</i> (T(-8)A;G(-13)T;C(-15)T)	15,3 (5/33)	11,9 (5/42)
Этамбутол	<i>embB</i> -ген (Met306Val; Gly406Ala; Asp354Ala)	53,9 (7/13)	38,5 (15/39)
Аминогликозиды (амикацин, канамицин, ванкомицин)	<i>rrs</i> ген (A1401G; C1443G)	5,9 (1/17)	15,0 (6/40)
Аминогликозиды (канамицин)	Промотор-регион <i>eis</i> (G(-10)A; C(-12)T; C(-14)G; C(-15)G)	23,5 (4/17)	21,4 (9/42)

Обнаруженная средняя частота мутаций в генах *katG*, *embB*, *rrs*, промотор-регионов *inhA* и *eis* генов среди фенотипически устойчивых штаммов отражает современную картину формирования лекарственно-устойчивых штаммов в России. Тем не менее, выявлены отличия от данных других исследователей по частотам замен в *rpoB* и *gyrA* генах. В исследованной выборке наличие маркеров МЛУ обнаружено на более низком уровне, чем характерное для других территорий с высоким распространением МЛУ (Mokrousov I. et al., 2002; Isola D. et al., 2005; Afanas'ev M. et al. 2007; Sheng J. et al., 2008; Plinke C. et al., 2010). Не было статистически значимой связи присутствия мутаций в *embB*-гене с резистентным фенотипом ( $\chi^2=0,33$ ,  $p=0,56$ ), редкими были мутации в *gyrA* гене. В последующих исследованиях выявлено присутствие в образцах ДНК гетерорезистентных вариантов проанализированных штаммов. Данные, полученные на основе применения TaqMan карт с использованием параллельного высоко разрешающего мелтинг анализа сиквенс-специфическими зондами (TAC-HRM), свидетельствуют об обнаружении как ДНК с мутациями, ответственными за развитие устойчивости к определенному антибиотику, так и

диких вариантов, сохраняющих чувствительность. Такие результаты получены на основе использования анализа 40 мутаций, в генах/регионах *inhA*, *katG* (изониазид), *rpoB* (рифампицин), *embB* (этамбутол), *rpsL* (стрептомицин), *rrs* (стрептомицин, амикацин, канамицин, капреомицину), *eis* (канамицину), *gyrA*, *gyrB* (офлоксацин, моксифлоксацин) и *rncA* (пиразинамид) в одной реакции при использовании микрофлюидных технологий.

Таким образом, на территории Северной Азии популяции возбудителя демонстрируют динамическую изменчивость микобактерий, связанную с географическими особенностями распространения их субтипов. Так, субтип S (MIT 256) обеспечивает МЛУ на таком же высоком уровне, как Beijing CC2, в Саха (Якутии) и Beijing BL7 (MIT 642) – в Бурятии. Этот факт, наряду с тем, что выявлено более широкое разнообразие MIRU-VNTR профилей лекарственно-устойчивых штаммов, в частности генотипа Beijing, может быть отражением региональных особенностей распределения популяций МБТ на этих территориях и характеристикой напряженности эпидемической ситуации по туберкулезу.

**Разработка и апробация ПЦР-РВ метода экспресс выявления субтипа CC2/W148 генотипа Beijing.** Для облегчения выявления штаммов эпидемического субтипа W148 генотипа Beijing проведена разработка экспресс метода в формате ПЦР-РВ. В основу разработки положена мутация, описанная M. Merker et al (2015), в виде динуклеотидной делеции в гене *kdpD*, обнаруженной только среди представителей субтипа CC2 генотипа Beijing, в связи с чем предложено обозначение – CC2/W148. Осуществлен дизайн нескольких вариантов праймеров и зондов для индикации вышеуказанной мутации. Апробацию метода по обнаружению штаммов *M. tuberculosis*, относящихся к W148 клону субтипа CC2 генотипа Beijing, первоначально провели на коллекции из 650 образцов геномной ДНК МБТ из исследуемой выборки. Все образцы были подвергнуты генотипированию по 24-локусам MIRU-VNTR и делеционному анализу по RD 105/207. Тестируемые штаммы включали: 485 образцов генотипа Beijing, из которых 235 образцов принадлежали субтипу CC1, 161 – CC2, 39 – CC3, 20 – CC4, 2 – CC5, 4 – CC6 и 24 – BL7. В группу тестируемых штаммов также включены: 51 образец генотипа LAM, 45 образцов генотипа Ural, 69 образцов с уникальными профилями (Orphan). Для определения специфичности предлагаемого метода обнаружения CC2/W148 субтипа генотипа Beijing по наличию делеции в гене *kdpD* проведено сравнение полученных данных с результатами аналога, использованного при субтипировании штаммов в разделе эпидемиологического мониторинга (глава 4). При этом результаты идентификации двумя методами (определение динуклеотидной делеции в гене *kdpD* и выявление специфической для W148 клона инсерции инвертированной IS6110, расположенной в межгенной области Rv2664 и Rv2665 генов) полностью совпали. Таким образом, предлагаемый способ показал 100% специфичность



определения W148 штаммов микобактерий туберкулеза генотипа Beijing. Результаты выявления CC2/W148 субтипа генотипа Beijing по наличию делеции в гене *kdpD* в выборке штаммов с известными генотипическими характеристиками представлены в Таблице 8.

**Таблица 8 – Частота выявления CC2/W148 штаммов генотипа Beijing *M. tuberculosis* среди изолятов различных генотипов/субтипов по наличию делеции в гене *kdpD***

Генотип, субтип	W148, %	nonW, %	Mix, %*	Всего штаммов, абс
Beijing, всего:	39,8	58,6	1,6	485
Beijing CC1	6,8	92,3	0,9	235
Beijing CC2	96,3	1,9	1,9	161
Beijing CC3	30,8	66,7	2,6	39
Beijing CC4	30,0	70,0	0,0	20
Beijing CC5	50,0	50,0	0,0	2
Beijing CC6	25,0	75,0	0,0	4
Beijing BL7	8,3	83,3	8,3	24
LAM	0,0	100,0	0,0	51
Ural	0,0	0,0	0,0	45
Orphan	0,0	0,0	0,0	69
Всего	29,7	69,1	1,2	650

Примечание: \*Mix - обнаружение в присутствии W148 еще одного генотипа/ субтипа штаммов *M. tuberculosis*

Установлено, что штаммы из азиатской части России, относящиеся по 24 MIRU-VNTR локусным профилям к Beijing CC2, в 95,7 % (155/162) имели специфическую делецию в гене *kdpD* и инсерцию инвертированной IS6110, указывающие на принадлежность к W148. Вместе с тем, среди штаммов других клональных комплексов (CC1, 3 – 6 и BL7) также выявлены варианты W148. Таким образом, метод выявления W148 изолятов генотипа Beijing по наличию динуклеотидной делеции в гене *kdpD*, в сопоставлении с результатами MIRU-VNTR-24, наиболее уместно объединять в группу W148. Следует отметить, что количество микст генотипов, выявленных двумя методами (определение динуклеотидной делеции в гене *kdpD* и выявление специфической для W148 клона инсерции инвертированной IS6110), также совпадало в 100%. Это свидетельствует о более высокой точности ПЦР-РВ теста на присутствие более, чем одного генотипа/субтипа штаммов, полученных из одного клинического образца больного туберкулеза, по сравнению с 24 MIRU-VNTR локусным генотипированием.

В целом, специфичность апробированного метода, характеризуемая отсутствием ложноположительных результатов, и чувствительность, определяемая отсутствием ложноотрицательных случаев, составила 100%. Точность, определяемая соотношением истинно положительных + истинно отрицательных к сумме тестируемых двумя методами штаммов, также равна 100%.

Второй этап апробации проведен на 78 клинических образцах, включавших 69 образцов мокроты, 6 образцов ликвора, 3 биопсийных образца, полученных в Иркутской областной клинической туберкулезной больнице. Для апробации метода клинические образцы были исследованы на наличие ДНК *M. tuberculosis* на генетическом анализаторе GeneXpert (США). При исследовании на анализаторе GeneXpert из 69 образцов мокроты 27 были положительны на ДНК *M. tuberculosis*, а 42 – отрицательны. Все образцы ликвора были отрицательны, из трех биопсийных образцов один был положительным при исследовании на анализаторе GeneXpert. Исследование, проведенное апробируемым методом, выявило 28 положительных результатов на наличие ДНК *M. tuberculosis*, из которых 14 образцов содержали ДНК W148 генотипа Beijing и 14 образцов, содержащих ДНК других генотипов или субтипов. Все отрицательные образцы при исследовании на генетическом анализаторе GeneXpert были также отрицательны при исследовании предлагаемым способом (Таблица 9). Таким образом, чувствительность, специфичность и точность предлагаемого метода относительно референсного исследования на генетическом анализаторе GeneXpert составили 100%.

**Таблица 9 – Частота выявления ДНК *M. tuberculosis* из клинических образцов апробируемым и референс (на анализаторе GeneXpert) методами, абс.**

Образец/ результат тестов	Апробируемый тест			Генетический анализатор GeneXpert		Всего образцов
	CC2/ W148	nonW	«-»	«+»	«-»	
Мокрота	14	13	42	27	42	69
Ликвор	0	0	6	0	6	6
Биопсийный образец	0	1	2	1	2	3
Всего	14	14	50	28	50	78

Примечание: «-» - отрицательные результаты теста; «+» - положительные результаты теста

Параллельно сравнению апробируемого метода с референс тестом на GeneXpert из тех же клинических образцов проведены посевы на среду Левеншейна-Йенсена. Сравнительные результаты экспресс теста клинических образцов и 24 локусного типирования полученных в дальнейшем культур *M. tuberculosis* обеспечили возможность расчета прогностической ценности апробируемого метода. Учитывая, что прогностическая ценность – это характеристика, которая зависит не только от чувствительности и специфичности, но и от распространенности эпидемического субтипа CC2/W148 генотипа Beijing *M. tuberculosis* в исследуемой популяции, рассчитанная прогностичность положительного результата составляет 100 %. То есть при положительных результатах апробируемого теста по клиническому образцу (обнаружение CC2/W148) обеспечивается 100 % вероятность выявления из культуры ДНК того же субтипа генотипа Beijing.

Таким образом, апробированный метод выявления эпидемического субтипа CC2/W148 генотипа Beijing *M. tuberculosis* имеет высокие специфичность, чувствительность и точность (100 %). Эти показатели в дополнении с быстротой получения результатов (3 часа) обеспечивают пригодность теста для применения в практике эпидемиологического надзора туберкулеза, в частности, обеспечения мониторинга эпидемически значимых вариантов возбудителя туберкулеза.

**В шестой главе** на основе результатов ретроспективного эпидемиологического исследования было выявлено, что в анализируемом регионе Северной Азии существует крупный резервуар сочетанной инфекции туберкулеза и ВИЧ, образованный преимущественно за счет двух территорий – Иркутской области и Бурятии. Переход эпидемического процесса ВИЧ-инфекции в стадию концентрированной эпидемии в 2011 году на фоне интенсивного характера динамики показателей туберкулеза в Иркутской области создал критические условия накопления и распространения ко-инфекции среди населения. В 2015 году показатель достиг уровня 100,5 случаев на 100 тысяч населения. К 2016 году в Иркутской области среди впервые выявленных случаев ТБ почти каждый третий пациент был с ВИЧ-инфекцией (30,2%). В Бурятии распространение сочетанной патологии происходило более медленными темпами и достигло менее интенсивных уровней к 2016 году – 18,4 случаев на 100 тысяч населения. В Забайкальском крае проявляются близкие к среднероссийским тенденции роста заболеваемости и распространенности сочетанной инфекции, а в Саха (Якутии) регистрируются их низкие уровни, что свидетельствует о сохранении изолированности двух эпидемических процессов.

В настоящем разделе работы проведены когортные исследования генетической гетерогенности возбудителя в группах больных туберкулезом с наличием ВИЧ-инфекции (190 больных) и без нее (164 пациента). Чаще всего развитие клинически активных форм туберкулеза происходило на фоне уже зарегистрированной ВИЧ-инфекции (125/190), чем при одновременном диагностировании заболеваний – 34,2 % (65/190) проанализированных случаев, что отражает общую динамику развития сочетанной патологии в изучаемом регионе, но не России в целом (Рахманова А. и др., 2012; Шальмин А. и др., 2014).

Туберкулез с МЛУ/ШЛУ был выявлен у 46,9% (89/190) больных сочетанной инфекцией, треть из которых были пациенты с первым эпизодом лечения ТБ – 37,1% (33/89). Аналогичные показатели в группе больных туберкулезом с отрицательным ВИЧ-статусом имели некоторые отличия. В частности, доля МЛУ/ШЛУ была значительно ниже – 30,4% (50/164) в контрольной группе ( $\chi^2=9,20$   $p=0,0012$ ). Рассчитанный относительный риск (RR=1,53) указывает на то, что частота МЛУ ТБ в основной группе больше, чем в контрольной, т.е. риск заболеть ТБ с МЛУ у ВИЧ-инфицированных больше, чем при

отсутствии ВИЧ-инфекции. Данные результаты дают основания считать ВИЧ-инфекцию фактором риска развития ТБ с МЛУ.

В исследуемых группах пациентов получены ДНК изолятов МБТ и проведена оценка генетической гетерогенности. Данные этого раздела исследования свидетельствуют о высокой доле генотипа Beijing (59,0%) и МЛУ/ШЛУ в выборке штаммов, полученных от ВИЧ-инфицированных бактериовыделителей МБТ, не имеющей значимых различий от группы больных с монотуберкулезом. Спектр генотипов значимо не отличается от полученных по изучаемому региону данных. При этом доля субтипа СС2 генотипа Beijing составила 23,1%, что может свидетельствовать о распространении его как среди ВИЧ-инфицированных, так и в общей популяции, и об общих тенденциях активной трансмиссии эпидемически активного варианта возбудителя (Таблица 10).

**Таблица 10 – Распределение изолятов МБТ по основным генотипам/субтипам и МЛУ у ВИЧ-позитивных и негативных больных ТБ (абс; %)**

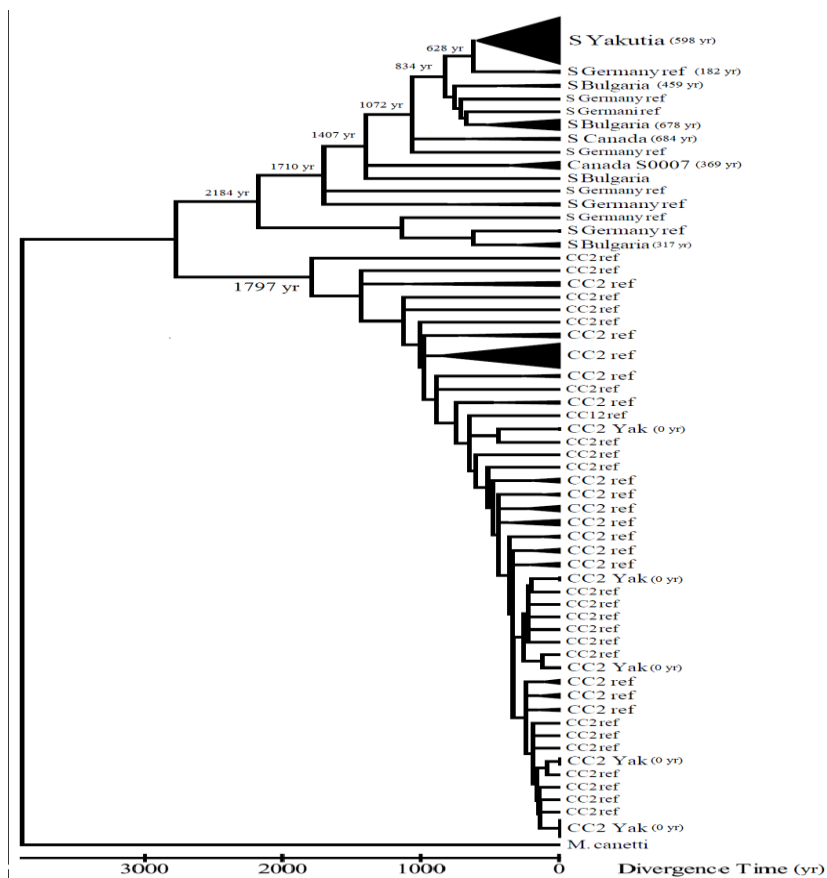
Характеристика изолятов	ВИЧ-позитивные (n=190)	ВИЧ-негативные (n=164)	$\chi^2$ ; p
МЛУ/ШЛУ	89 (46,8%)	50 (30,2%)	10,913; <b>p=0,0002</b>
Генотип Beijing	127(65,8%)	113 (68,9%)	0,090; p=0,764
Субтип СС2 генотипа Beijing	28 (22,0%)	27 (16,5%)	0,090 p=0,764
Генотип LAM	31 (16,1%)	18(11,0%)	1,684; p=0,195
Генотип Ural	5 (2,3%)	8(4,5%)	0,664; p=0,415
Общее количество микст-генотипов	15 (7,8%)	1 (0,6%)	9,203; <b>p=0,002</b>
Количество микст-генотипов с СС2/W148	8 (4,1%)	0 (0%)	5,287; <b>p=0,021</b>

У больных ВИЧ инфекцией, сочетанной с ТБ, в изучаемом регионе выявлен более высокий уровень распространенности микст-генотипов (15/193 – 7,8%), чем среди ВИЧ-негативных пациентов с ТБ. Это может являться косвенным свидетельством повторного заражения больных ВИЧ-ТБ новыми, и, вероятно, более вирулентными штаммами. В исследуемых регионах большая часть смешанных генотипов несла лекарственно-устойчивый субтип СС2/W148 (8/193 – 4,1%), что может означать эпидемическое распространение этих штаммов в группе больных ВИЧ-ТБ. Число смешанных генотипов значимо превышает число микст-культур, обнаруженных у ВИЧ-негативных больных ТБ (18/1269 – 1,4%). Выявлено, что микст-изоляты значимо чаще сопровождали генерализованные случаи по сравнению с легочными формами инфекции ( $\chi^2=5,4$ ; p=0,03). ВИЧ-ТБ больные, пораженные микст-генотипами, имели крайне низкий уровень CD4 клеток (менее 100 клеток/мл), что ассоциировалось более часто с тяжелым течением ТБ и смертельным исходом ( $\chi^2=7,2$ ; p<0,01), по сравнению с больными, пораженными моно-генотипом ТБ.

Большинство выявленных микст-генотипов у ВИЧ-инфицированных представляло собой смесь субтипа CC2/W148 (Beijing) и генотипа LAM или субтипа CC2/W148 и иного субтипа, относящегося к генотипу Beijing. Наиболее логичным объяснением значимо большего количества микст-генотипов у ВИЧ-ТБ больных является предположение о распространении явления нозокомиального суперинфицирования ВИЧ-ТБ больных, поступивших на лечение в противотуберкулезные учреждения, наиболее трансмиссивным вариантом возбудителя ТБ (субтип CC2/W148 генотипа Beijing). Другими словами, несмотря на то, что в рамках проведенного исследования не выявлено значимых различий в спектрах генотипов у ВИЧ-негативных и ВИЧ-позитивных больных ТБ, имеющиеся факты распространенности микст-генотипов с CC2/W148 могут свидетельствовать о возможности нозокомиального распространения этого субтипа среди больных ВИЧ-ТБ.

**В седьмой главе** описаны результаты моделирования распространения эпидемически значимых вариантов *M. tuberculosis* в Северной Азии по молекулярно-генетическим данным. Филогенетическое моделирование, проведенное для штаммов S по глобальным данным, свидетельствует о продолжительном эволюционном периоде, прошедшем с момента заноса предковых форм этого генотипа на территорию Якутии. Это в конечном итоге предполагает исторически давний срок, прошедший с начала формирования резервуара инфекции туберкулеза, вызванного штаммами этого генотипа. Учитывая, что ранее S изоляты обнаруживались в России лишь в единичных случаях (Kovalev S. et al., 2005; Dymova M. et al., 2011), их изолированная распространенность может быть связана с давней циркуляцией в удаленных и малонаселенных регионах на Северо-Востоке Азии.

Собранная со всего мира коллекция профилей по 24-м локусам MIRU-VNTR генотипа S позволила сделать филогенетическую оценку времени циркуляции основных эпидемических генотипов, ответственных за распространение МЛУ на исследуемой территории - субтипа CC2/W148 генотипа Beijing и генотипа S. На Рисунке 3 приведена временная шкала и временное древо (timetree). За основную шкалу взято время происхождения группы CC2/W148 генотипа Beijing в 1797 лет (Merker M. et al., 2015) представленное на древе 83 уникальными профилями. Над корневыми узлами куста генотипа S в верхней части Рисунка 3 приведены оценки в годах расхождения основных филогенетических линий исследуемого семейства. Согласно смоделированному сценарию время заноса генотипа S на территорию Якутии близко к 600 годам, что сравнимо со временем генетической дивергенции близкородственных генотипов, циркулирующих на территории Болгарии (459, 678 лет) и Канады (684 года).



**Рисунок 3 - Временное древо (timetree) – Над корневыми узлами куста генотипа S в верхней части.** Приведена оценка в годах расхождения основных филогенетических линий исследуемого семейства. Объединенные ветви представлены в виде треугольников, в скобках приведены оценки в годах, соответствующие времени происхождения объединенной ветви.

Особый интерес представляли уникальные профили штаммов S семейства из Канады (Christianson S. et al., 2010; Gardy J. et al., 2011) в том числе профили широко распространенного варианта генотипа S – 0007 (Christianson S. et al., 2010). Первоначальной гипотезой, потребовавшей проведения оценки времени дивергенции исследуемых генотипов, было предположение о возможном родстве штаммов семейства S из Якутии и Канады. Однако проведенная реконструкция эволюционных событий не подтверждает эту гипотезу. В рамках полученной модели можно постулировать, что занос предкового штамма генотипа S на территорию Якутии произошел в сроки, сравнимые с распространением этого генотипа в Европе и Северной Америке, т.е. в раннюю пост-колумбовую эпоху вместе с другими генотипами Евро-Американской линии (Galagan J., 2014). Полученные оценки приблизительно в два раза превышают предполагаемое время первых контактов аборигенов Канады с европейцами (начало 18-го века) и распространение европейских МБТ среди этой популяции (Perperell C. et al., 2011). Аналогичным образом, временная оценка распространения генотипа S в Якутии (600 лет) вдвое превышает предполагаемое время (17-18 век) начала распространения европейских штаммов МБТ среди коренного населения Якутии (Dabernat H. et al., 2014).

Наиболее реалистичной выглядит временная модель с использованием в качестве шкалы минимального времени происхождения субтипа CC2/W148 в 958 лет (Merker M. et al., 2015) В этом случае, время распространения предковых форм генотипа S на территории Канады и Якутии приближается к 300 годам и соответствует известным историческим событиям (Pepperell C. et al., 2011; Dabernat H. et al., 2014). Можно с большой долей уверенности утверждать, что распространение МБТ генотипа S на территории Якутии и Канады произошло независимо друг от друга с волнами миграций европеоидов. В нашем случае эпидемическую модель возникновения “реликтового” генотипа S можно сформулировать следующим образом. В период первых контактов славянского населения с аборигенами Якутии (17-18 век) произошло распространение генотипов микобактерий туберкулеза, которые были наиболее хорошо представлены на европейской части Российской империи. С этой точки зрения, “реликтовый” генотип S, относящийся к Евро-Американской линии, является отражением спектра “европейских” генотипов (Евро-Американская линия), бывших, по всей вероятности, общими для всей Европы, включая европейскую часть России (Kinander W. et al., 2009; Groenheit R. et al., 2012).

Несколько более сложной является задача объяснения происхождения эндемичного для Бурятии субтипа Beijing BL7 (MIT 642), распространенного в Восточной Азии и Северной Америке (Merker M. et al., 2015). По всей видимости, ограничение этого субтипа территорией Бурятии не несет отражения глобальных процессов, подобных распространению генотипа S на территории современной Якутии. Наиболее вероятно, что распространение субтипа Beijing BL7 (MIT 642) на территории Бурятии в известной мере носит случайный характер, поскольку ни в европейской части России, ни на территории соседней Монголии доминирования этого генотипа не наблюдается.

Сравнительный молекулярно-эпидемиологический анализ структуры популяции возбудителя туберкулеза в Монголии и граничащих с ней регионах России позволил определить степень взаимного влияния на развитие эпидемического процесса инфекции в изучаемых странах и оценить вероятность возникновения штаммов Beijing CC2/W148 за пределами России. Проведенные исследования свидетельствуют об обособленности действующих резервуаров инфекции ТБ, несмотря на активность исторически сформировавшегося миграционного потока между Монголией и Россией: на изучаемых территориях генотипический спектр МБТ качественно отличается. Анализ генетических профилей показал, что в Монголии преобладает пандемический генотип Beijing (228/309 – 73,8 %). Остальные штаммы МБТ принадлежали к генетическим семействам: LAM – 33 (10,7 %), T – 30 (9,7 %), H – 9 (2,9 %) изолятов. Микст генотипы встречались в 5,8% случаев (18/309). Не удалось классифицировать используемыми методами (orphan) 2,9 % – (9/309)

штаммов. Обнаруженное распределение доминирующих и минорных генотипов МБТ согласуется с недавно опубликованными данными о генотипической структуре популяции МБТ в Монголии (Gurjav U. et al., 2016). На основе данных UPGMA-древа профилей монгольских штаммов выявлены 122 (39,5 %) уникальных паттернов и 21 кластер, объединяющий 187 штаммов (Таблица 11).

**Таблица 11 – Генетические кластеры *M. tuberculosis*, циркулирующие в Монголии**

Генотип	24-MIRU-VNTR профиль	Количество изолятов в кластере
Beijing	244233352544425173353823	58
	244233352534425173353823	33
	244233362544425173353823	32
	244233352544425173353923	6
	244233352534425173353923	6
	244233362544425173353923	4
	244233342644425173353823	4
	244233352644425173343823	3
	244233342544425173353823	3
	244233352634425153353823	3
	244233352534425153353823	3
	244233352644425173363723	2
	244233352544425183353823	2
	244233342644425153353833	2
	244233351534425173353823	2
	244233352544425173353323	2
LAM	132244332224125153322622	9
	142244332224125153322622	6
	142244332224125153322522	3
T	224243222334225153333622	2
	224243122334225153333522	2

Обнаруженная высокая частота кластеризации (53,7 %) штаммов МБТ в Монголии обусловлена преимущественно вариантами генотипа Beijing (частота кластеризации - 58,0%). Значительное количество генетических клонов (82/187 – 43,9 %) обнаружены от больных ТБ, проживающих в г. Улан-Батор, что свидетельствует о наличии крупного резервуара инфекции и условий для его стабильного существования. Эти данные согласуются с результатами исследований, представляющих доказательства активной передачи МЛУ вариантов возбудителя ТБ в крупных населенных пунктах Монголии, и прежде всего в Улан-Баторе, где проживает 45 % от населения (Gurjav U. et al., 2015). Сравнение с референсными профилями из базы данных Merker M. et al. (2015), обнаружило полную идентичность 24-MIRU-VNTR профилей 147 монгольских штаммов субтипа CC4 генотипа Beijing, объединенных в самые крупные генетические кластеры размером 58, 33 и 32 штамма – (кластеры № 1, 2, 3 в Таблице 11). Эти профили совпадают с данными изолятов МБТ, обнаруженных в Европе, Африке и Восточной Азии соответственно (Merker et al., 2015).



Штаммы субтипа CC4 по полногеномным данным могут быть дифференцированы Asian Africa 1 и Asian Africa 2, то есть быть общими для азиатских и африканских регионов. Учитывая исторически сложившиеся отношения Монголии со странами Восточной Азии, можно предположить, что на территорию Монголии эти штаммы могли быть занесены из восточноазиатских стран, возможно, из Китая или ближайших стран Юго-Восточной Азии, но не России.

Субтипы Beijing CC1 и Beijing CC2 широко распространены в азиатской части России и являются основными возбудителями лекарственно-устойчивых форм туберкулёза, однако в Монголии Beijing CC1 кластер представлен единичными случаями, а Beijing CC2 вообще не обнаружен. Оценка распространения делеции в *kdpD* гене свидетельствует об отсутствии клоновой группы CC2/W148 среди монгольских штаммов генотипа Beijing. Кроме того, 24-MIRU-VNTR профили российских изолятов МБТ, вошедших в Beijing CC4 (6,3% – 41/657), имели отличия от монгольских представителей этого субтипа. Таким образом, внутригенотипическая вариация доминирующего генотипа возбудителя на территории Монголии и России имеет различия, свидетельствующие о значительной изолированности циркулирующих в изучаемых странах популяций МБТ. Это позволяет предположить, что между монгольской и юго-восточной российской популяциями возбудителя практически отсутствует трансмиссия, несмотря на тесную связь популяций хозяина.

Представленные в настоящей работе результаты соответствуют ранее описанным M. Merker et al. (2015) данным о превалировании штаммов Beijing CC4, 24-MIRU-VNTR профили которых отличаются от российских. Поэтому несостоятельной оказывается гипотеза о трансграничном распространении МЛУ-ТБ вдоль Транссибирской магистрали с последующей диссеминацией по территории Монголии (Gurjav U. et al., 2016). Проведенный анализ 24-MIRU-VNTR профилей из «горячих» точек МЛУ-ТБ монгольских аймаков, представляющих собой важные остановки в пути на железнодорожной магистрали, связывающей Монголию, Россию и Китай, не выявил значимых отличий от генетических характеристик других провинций. Доминирование Beijing CC4, высокая частота его кластеризации и равномерное распределение на территории центральной и пограничной Монголии свидетельствуют об устойчивом резервуаре инфекции, сконцентрированном в Улан-Баторе и, наиболее вероятно, распространяющемся на другие провинции Монголии. В качестве источника распространения штаммов субтипа Beijing CC4 на территорию Монголии может выступать Восточная Азия, в частности Китай или другие ближайшие страны Юго-Восточной Азии. В России активность эпидемического процесса туберкулеза, как уже описано выше, определяется отличными от монгольских вариантов возбудителя -

преимущественно штаммами клональных кластеров Beijing CC1 и CC2, распространение которых ограничено государственными границами.

В рамках настоящего исследования также сформулирована и обоснована концепция возникновения и создания резервуара инфекции «успешными» субтипами *M. tuberculosis* в Северной Азии. Филогенетическое моделирование, проведенное для штаммов МБТ, полученных из контрастных по возрасту групп больных ТБ на территориях РС (Я) и Иркутской области, позволило выявить значительно отличающиеся характеристики резервуара инфекции в регионах с разным уровнем миграционной активности.

В основу исследования положена гипотеза о том, что датировать время эпидемического распространения основных субтипов генотипа Beijing можно путем сравнения популяционной структуры штаммов МБТ в контрастных по возрасту группах больных туберкулезом (например, до 25-ти лет и после 60-ти лет). Представленное исследование позволило выявить изменения, которые произошли в популяции штаммов МБТ во время предыдущих десятилетий. Эти изменения выявлены при сравнении когорты штаммов, выделенных от «пожилых» больных ТБ (эти штаммы представляют структуру популяции, которая сформировалась более пяти десятилетий назад) и «молодых» больных ТБ (эти штаммы отражают ситуацию с распространенными в настоящее время штаммами). Четыре десятилетия активных миграционных событий, связанных с освоением северных территорий (Сукнёва С., 2008; Сивцева С., 2013) в 40-80-е годы – приток пришлого населения и его отток в начале 1990-годов (Сивцева С., 2013), кардинально изменили как качественно, так и количественно существующую ранее структуру популяции МБТ в РС(Я). Снижение в более чем три раза внешнего миграционного оборота с середины 1990-х годов и преобладание (63%) внутрирегиональных передвижений населения (Сукнёва С., 2008) способствовали закреплению нового соотношения в популяции МБТ.

Низкий уровень частоты кластеризации изолятов МБТ от «пожилых» людей (значимо отличается от частот «молодых» пациентов,  $\chi^2=8,3$ ;  $p<0,01$ ) поддерживает концепцию, что большинство штаммов отражают случаи реактивации, а не результаты активной передачи возбудителя, и, таким образом, представляют прошлое эпидемического процесса ТБ на исследуемой территории. Время инфицирования этой группы больных, которое первоначально могло происходить в возрасте 2–10 лет (Marais V. et al., 2004) в основном приходится на послевоенный период, когда туберкулез имел наиболее широкое распространение в России в середине XX века. Кроме того, частота кластеризации штаммов генотипа Beijing среди «молодых» пациентов – выше (0,54), чем среди «пожилых» (0,28) ( $\chi^2=3,1$ ;  $p<0,05$ ). Эти данные свидетельствуют о более «эффективной» передаче МБТ, принадлежащих генотипу Beijing, среди молодого населения РС(Я).

Проявления географической специфики и градиентов эпидемических субтипов Beijing в сравниваемых группах РС(Я) носят особый динамический характер. Субтип Beijing CC2, имеющий глобальное распространение, менее распространен, чем субтип Beijing CC1. Доминирующий в России и странах бывшего СССР, субтип Beijing CC1, ответственный, как и субтип Beijing CC2, за случаи первичного ТБ с МЛУ, в рассматриваемой когорте «молодых» и «пожилых» пациентов был чувствителен ко всем противотуберкулезным препаратам.

В представленной выборке изоляты Beijing CC2 имели одни из самых высоких уровней первичной МЛУ (45,5 % – 5/11). Несмотря на «успешность» распространения CC2 и в РС(Я), наибольшую часть генотипа Beijing составили изначально чувствительные к антибиотикам штаммы, отнесенные к CC1. По всей видимости, относительно низкий уровень заболеваемости ТБ у пришлого населения по сравнению с аборигенами (Тырлыгин М., 2008) позволил сохраниться следам прежних экспансий эпидемических генотипов возбудителя.

Предполагается, что широкое распространение среди «пожилых» пациентов штаммов возбудителя ТБ генотипа T также отражает иное соотношение генотипов МБТ в начале – середине XX века. Широкая вариация T профилей дает представление о долговременности существования изолятов этого генетического семейства на изучаемой территории (как минимум в течение XX века). Отсутствие значимых отличий среди «пожилых» пациентов пришлого (37,8 % – 14/37) и местного (25,5% – 9/36) населения, может свидетельствовать о широкой распространенности штаммов генотипа T не только в РС (Я), но и на территории СССР в начале XX века, аналогично странам Северной Европы (Smit P. et al., 2011; Groenheit R. et al., 2012).

Кроме того, обнаруженная на территории РС(Я) исторически и географически сформировавшаяся часть популяции МБТ, и представленная штаммами генотипа S, тоже может свидетельствовать о "недавнем" заносе генотипа Beijing. Анализ полученных данных и разных гипотез распространения генотипа Beijing в современной России и Сибири: средневековый занос с ордой Чингисхана (Mokrousov I., 2005) или более поздний – в середине 20 века (Синьков В. и др., 2011) – дает возможность предположить недавний (около пятидесяти лет назад) занос МБТ эпидемических субтипов генотипа Beijing на территорию Якутии по сравнению с другими регионами России. Модель распространения эпидемических штаммов МБТ в РС(Я) по всей видимости будет во многом повторять эпидемические события уже произошедшие в большинстве регионов России. На основании полученных данных можно прогнозировать эпидемическую экспансию CC2/W148 субтипа генотипа Beijing, который в процессе взросления популяции «молодых» будет теснить как уже

имеющиеся эпидемические варианты (генотип S, субтип CC1 генотипа Beijing), так и штаммы МБТ, не имеющие широкого распространения.

В Иркутской области наблюдается иная картина результатов сравнительного анализа спектра МБТ у больных ТБ из контрастных по возрасту групп. Не обнаружены какие-либо кластеры, состоящие исключительно из штаммов, принадлежащих «пожилым» больным ТБ. К тому же, в рассматриваемой популяции МБТ среди «молодых» больных не было ожидаемого увеличения частоты субтипа Beijing CC2. Уровень его встречаемости не имел значимых различий в когорте «молодых» (11/59) и «пожилых» (24/101) пациентов ( $\chi^2=0,311$ ,  $p=0,288$ ). Частота кластеризации штаммов среди «пожилых» пациентов оказалась достаточно высокой (CR=0,39), не имеющей значимых отличий от показателя «молодых» пациентов (CR=0,36), ( $\chi^2=0,949$ ,  $p=0,165$ ). В сравниваемых возрастных группах, как и в общей выборке, кластеризующиеся штаммы значительно чаще обнаруживались среди субтипов генотипа Beijing ( $\chi^2=39,6$ ,  $p<0,01$ ), их CR была наивысшей в общей структуре МБТ – 0,70, на этом фоне CR штаммов non-Beijing равна 0,10. Внутри выборки штаммов генотипа Beijing среди «молодых» пациентов CR была незначительно ниже (0,48), чем среди «пожилых» (0,55).

Такая ситуация может свидетельствовать об устойчивом резервуаре инфекции за счет уже сформировавшейся популяции МБТ, отличающейся разнообразием циркулирующих вариантов в основном за счет субтипов Beijing, среди которых ведущую роль в активной передаче и распространении МЛУ играет один из клонов Beijing CC1. Филогенетический анализ профилей Beijing CC1 из Иркутской области в сопоставлении с данными глобальной базы Merker M. et al (2015) позволил установить, что подобные иркутским профили циркулируют в Центральной Азии и Европе, где описано эпидемическое распространение МЛУ-ТБ, вызванного Beijing CC1 штаммами (Mokrousov I. et al. 2012; Mokrousov I., 2015). Вместе с тем, присутствующие в глобальной базе российские профили Beijing CC1 по одному-двум вариабельных локусам имеют отличия от полученных в Иркутской области, что может указывать на возникшее разнообразие в процессе недавней эволюции этого субтипа на обширной территории России после вероятного заноса из Северного Китая и эпидемического распространения его во второй половине 20 века (Синьков В. и др., 2012).

Штаммы Beijing CC2/W148, одинаково часто встречающиеся у больных ТБ разных поколений, являются филогенетически самыми молодыми представителями Beijing. Недавнее распространение штаммов Beijing CC2/W148 в иркутской популяции подтверждается низким разнообразием профилей на фоне более высокой кластеризации по сравнению с Beijing CC1. При этом самый большой кластер с идентичными характеристиками по MIRU-VNTR 24 имел полное сходство с Европейским CC2 (244233352644425173353723) – 109/134. Значительно меньшие по величине два кластера

Beijing CC2 из Иркутской области (4/134 и 5/134 изолятов) отвечали профилям CC2 из Центральной Азии. В совокупности полученные данные согласуются с гипотезой массовой трансмиссии Beijing CC2/W148 по всей территории бывшего СССР. Отсутствие полностью совпадающих с российскими Beijing CC2 представителями в базе Merker M. et al (2015) может свидетельствовать, как и в случае Beijing CC1, о возникшей вариации, носящей незначительный характер и вместе с тем, давшей самостоятельный очаг инфекции на изучаемой территории.

На основании полученных в настоящем исследовании результатов может быть расширена ранее сформулированная концепция распространения эпидемических вариантов генотипа Beijing в России: на фоне повсеместного доминирования ранее возникшего и закрепившегося субтипа CC1, на некоторых территориях вызвавшего эпидемическое распространение МЛУ-ТБ, активно происходит экспансия субтипа CC2, особенно наиболее успешного варианта CC2/W148. На территориях с высокой миграционной активностью Северной Азии (Иркутская область, Республики Бурятия) наблюдается стабилизация эпидемического потенциала генотипа Beijing в виде превалирования его "успешных" субтипов. В регионах более низкой миграции – Саха (Якутия) – происходит динамическое вытеснение субтипом Beijing CC2/W148 других эпидемических вариантов возбудителя.

### **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Контроль резервуара инфекции при туберкулезе в условиях напряженной эпидемической ситуации в азиатской части России, требует многостороннего изучения этой проблемы. Совершенствование эпидемиологического надзора за туберкулезом невозможно без информационной базы о каждой из составляющих эпидемического процесса инфекции. С целью комплексной оценки результатов мониторинга популяции возбудителя – диагностического раздела эпидемиологического надзора – проведено исследование, включающее общую оценку напряженности ситуации по туберкулезу и изучение генетической гетерогенности МБТ. В совокупности полученные результаты позволили не только обеспечить информационный блок эпидемиологического надзора о пространственной распространенности современных вариантов *M. tuberculosis* на ранее малоизученной территории азиатской части России, но и проверить ряд гипотез о возникновении и экспансии эпидемически значимых генотипов и субтипов МБТ. Основная концепция диссертации заключается в том, что использование методов молекулярной эпидемиологии как уникального инструмента мониторинга позволяет оценивать динамику эпидемического процесса туберкулеза в ретроспективном, оперативном и проспективном режимах.

Ретроспективный эпидемиологический анализ проявлений заболеваемости населения туберкулезом позволил охарактеризовать территории, на которых проводился мониторинг

гетерогенности популяции возбудителя. Исследование охватывает весь диапазон колебаний эпидемического процесса ТБ в азиатской части России – от относительно благополучных территорий (Забайкальский край), регионов типичной эпидемиологической ситуации (республики Саха (Якутия) до крайне неблагополучных (Иркутская область и республика Бурятия).

Проведенное исследование расширило сформулированную ранее концепцию недавнего увеличения резервуара инфекции на территории России и стран постсоветского пространства за счет эпидемических штаммов генотипа Beijing. Оценена структура популяции возбудителя туберкулеза на территории Северной Азии (Иркутская область, Республики Бурятия, Саха (Якутия), Забайкальский край) и Монголии, а также выявлены основные генотипы и их субтипы, ответственные за эпидемическое распространение инфекции и формирование множественной лекарственной устойчивости. Обнаружены два “реликтовых” генотипа, отражающих спектр эпидемических штаммов МБТ в прошлом на исследуемой территории.

Филогенетическая реконструкция эволюционных событий, связанных с распространением генотипов МБТ в изучаемых регионах, позволила уточнить время последнего заноса эпидемических генотипов на исследуемую территорию. На основании полученных данных предложена эпидемиологическая модель распространения генотипов возбудителя туберкулеза на исследуемых территориях и всей территории России в период освоения Сибири, начиная с XVII в., определено время последней эпидемической экспансии субтипа CC2/W148 генотипа Beijing на территории России. Получены доказательства активного вытеснения субтипом CC2/W148 генотипа Beijing других эпидемических вариантов возбудителя туберкулеза на изучаемых территориях. Сформулирован прогноз дальнейшего нарастания доли субтипа CC2/W148 генотипа Beijing в распространении множественной лекарственной устойчивости возбудителя туберкулеза в России. Разработан ПЦР-РВ метод для выявления наиболее трансмиссивного субтипа CC2/W148 генотипа Beijing, пригодный для применения в практике эпидемиологического надзора ТБ.

Предложена и научно обоснована концептуальная схема эпидемиологической диагностики туберкулеза молекулярно-генетическими методами. Для эпидемиологической оценки распространенности различных генотипов и субтипов в локальных популяциях *M. tuberculosis*, их ретроспективного изучения и построения прогнозов на будущее требуется валидированная схема генетической идентификации. Генотипирование микобактерий туберкулеза (дополнительно к регламентированным микробиологическим методам) с целью выявления и отслеживания эпидемически значимых вариантов может быть осуществлено в том числе и экспресс методами. Полученные в настоящей работе результаты молекулярно-

эпидемиологической оценки популяции возбудителя позволяют скорректировать программу эпидемиологического мониторинга туберкулеза.

## ВЫВОДЫ

1. В Азиатской части Российской Федерации по сравнению с ее Европейской территорией регистрируется наиболее неблагоприятная эпидемиологическая ситуация по туберкулезу. Имеет место более высокий уровень заболеваемости ТБ на фоне низких темпов ее отрицательного прироста.

2. Максимальные показатели распространения пандемического генотипа Beijing в РФ приходятся на Северную Азию (62,0%), но носят неоднородный характер за счет исторически сформировавшейся структуры популяции *M. tuberculosis* на территориях с различной миграционной активностью. На изучаемых территориях генотип Beijing имеет близкие показатели распространения (Иркутская область – 70,8%, Бурятия – 64,5% и Агинский АО – 62,1%) и лишь на территории Республики Саха (Якутия) он встречается значительно реже (43,0%) и активная эпидемическая экспансия генотипа Beijing происходит лишь в настоящее время.

3. Эпидемические варианты генотипа Beijing имеют существенные различия на территории Северной Азии. Иркутская область характеризуется наличием стойкого очага инфекции и активной трансмиссии двух эпидемических вариантов генотипа Beijing - субтипов CC1 (30,4% – 219/719) и CC2 (19,6% – 141/719). В Бурятии и Забайкальском крае, кроме указанных субтипов (CC1 (21,7% – 73/337) и CC2 (14,2% – 48/337), эпидемическими является штаммы Beijing BL7 (MIT 642) (15,1% – 51/337). Республика Саха (Якутия) - уникальный регион Северной Азии, где выявлено наименьшее распространение штаммов CC2 (10,6% – 40/378) на фоне незначимого уменьшения CC1 (21,4% – 81/378).

4. Сформулирована концепция экспансии генотипа Beijing в России, где последним событием этого процесса было быстрое распространение субтипа CC2/W148 во второй половине XX века. В Иркутской области и республике Бурятия определена стабилизация эпидемического потенциала генотипа Beijing, в Саха (Якутия) – динамическое его увеличение.

5. В Республике Саха (Якутия) методами филогенетического моделирования выявлена значимое увеличение за последние 50 лет частоты наиболее «агрессивного» субтипа CC2/W148. Эпидемическая экспансия указанного субтипа выражается в виде увеличения частоты его выявления у "молодого поколения" (родившихся в 1990 году и позже) больных ТБ, по сравнению с показателями коренного населения "пожилых" (родившихся в 1955 году и ранее) пациентов ( $\chi^2=4,7$ ;  $p<0,05$ ).

6. МЛУ штаммы МБТ в Северной Азии представляют генетически неоднородную группу, в которую преимущественно входят как эпидемические для России варианты возбудителя (СС1 и СС2 генотипа Beijing), так и эндемичные (генотип S - в Саха (Якутии), субтип Beijing MIT BL7 (MIT 642) – в Бурятии и Забайкальском крае.

7. На территории Саха (Якутии) выявлен эндемичный резервуар МЛУ-ТБ, образованный редким по величине и разнообразию кластером генотипа S (13,5%), который распространен среди всех этнических групп населения без значимых различий по этническому признаку ( $\chi^2=0,309$ ;  $p>0,05$ ). Он содержал в большинстве случаев (74,5% - 38/51) идентичный MIRU-VNTR профиль – 233325153325141344222372, идентифицируемый по 12-ти локусам как MIT256.

8. На основе результатов филогенетического моделирования установлено, что феномен присутствия эндемичного для Саха (Якутии) эпидемического варианта МБТ генотипа S (MIT 256) возможно является отражением спектра генотипов МБТ, характерного для России до XX века, т.е. до начала “взрывообразного” распространения эпидемических субтипов СС1 и СС2/W148 генотипа Beijing по территории СССР.

9. Частота ТБ, вызванного МБТ эпидемических вариантов генотипа Beijing, не имеет значимых отличий у больных с сочетанной патологией ВИЧ/ТБ от распределения их в общей популяции населения Восточносибирского региона. Микст-генотипы МБТ среди ВИЧ/ТБ больных встречаются значительно более часто, чем среди остальных групп больных ТБ – в 7,8% случаев.

10. Разработанный в рамках настоящей работы метод ПЦР-РВ пригоден для выявления эпидемического субтипа СС2/W148 генотипа Beijing и может быть использован в практике мониторинга популяции возбудителя ТБ.

### **ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ**

1) Включить в систему эпидемиологического надзора за туберкулезом скрининговый мониторинг эпидемического субтипа СС2/W148 генотипа Beijing, обладающего наиболее высоким потенциалом эпидемического распространения МЛУ/ШЛУ на азиатской территории России. Для проведения мониторинга эпидемического субтипа СС2/W148 генотипа Beijing достаточно выявление в ПЦР-РВ одного специфического маркера (динуклеотидной делеции в гене *kdpD*).

2) Дополнить раздел эпидемиологического мониторинга популяции возбудителя туберкулеза в республике Саха (Якутия) динамическим наблюдением за штаммами субтипа СС2/W148 генотипа Beijing, активно распространяющимся в настоящее время по территории этого региона среди больных туберкулезом молодого возраста (до 25 лет).

3) Расширить раздел эпидемиологического мониторинга популяции возбудителя туберкулеза в республике Саха (Якутия) динамическим наблюдением штаммов генотипа S, как эндемичного резервуара МЛУ-ТБ. Достаточным уровнем идентификации МБТ генотипа S является MIRU-VNTR типирование по 12 локусам. Для эпидемиологического расследования цепи случаев заражения МБТ генотипа S достаточным уровнем является



MIRU-VNTR типирование по 24 локусам в дополнении к данным о лекарственной устойчивости штаммов и материалам эпидемиологического анамнеза.

4) Включить в эпидемиологический надзор за туберкулезом в Забайкальском крае и республике Бурятия мониторинг эндемичного для этого региона субтипа Beijing MIT BL7 (MIT 642), обладающего высоким риском развития МЛУ/ШЛУ при хронизации инфекционного процесса. Достаточным уровнем идентификации МБТ субтипа Beijing MIT BL7 (MIT 642) является MIRU-VNTR типирование по 12 локусам.

5) Обеспечить включение в раздел эпидемиологического мониторинга туберкулеза в приграничных с Монголией регионах России наблюдение за разнообразием субтипов генотипа Beijing для обеспечения контроля трансграничной передачи туберкулеза. В качестве маркера рекомендуется оценка частоты выявления субтипов CC4 генотипа Beijing, характерных для Монголии, но встречающихся на уровне спорадических случаев в России. Достаточным уровнем идентификации МБТ субтипов CC4 Beijing является MIRU-VNTR типирование по 24 локусам.

6) Включить в систему эпидемиологического надзора в областных противотуберкулезных учреждениях России мониторинг эпидемического субтипа CC2/W148 генотипа Beijing в качестве маркера наиболее частого микст инфицирования больных ВИЧ-ассоциированным туберкулезом и выявления случаев нозокомиального заражения.

7) Использовать для оценки динамики изменения структуры популяции возбудителя туберкулеза в регионах России результаты выборочных скрининговых исследований штаммов МБТ от впервые выявленных больных из контрастных по возрасту групп (до 25 лет и старше 60 лет).

8) Включить в методологию эпидемиологического мониторинга популяции возбудителя туберкулеза сравнительные исследования на территориях с разным уровнем внутри- и межрегиональной миграции для оценки активности распространения эпидемических вариантов МБТ.

### **ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ**

1. Изучение геномных последовательностей эпидемических вариантов основных генотипов МБТ в глобальных и локальных популяциях, поиск уникальных SNPs с целью использования их в качестве специфических маркеров для эпидемиологического и клинического мониторинга. Разработка и апробация ПЦР-РВ методов экспресс выявления эпидемических вариантов основных генотипов возбудителя туберкулеза из ДНК культур и клинического материала для обеспечения быстрого и эффективного эпидемиологического мониторинга и оценки динамических изменений популяции возбудителя туберкулеза.

2. Доведение метода выявления эпидемического субтипа CC2/W148 генотипа Beijing до уровня тест-системы, используемой в системе эпидемиологического надзора за туберкулезом и фтизиатрической практике.

3. Доведение экспресс-методов выявления эпидемических субтипов возбудителя туберкулеза до уровня тест-систем, используемой в системе эпидемиологического надзора за туберкулезом и фтизиатрической практике.

4. Оценка применимости разработанных тестов для отдельных территорий России, утверждение списка наиболее опасных генотипов и/или субтипов возбудителя туберкулеза, адаптированного к конкретному региону.

5. Расширение ареала эпидемиологических мониторинговых исследований популяции возбудителя ТБ в Сибирском и Дальневосточном федеральном округе с использованием расширенной методологии (изучение структуры популяции МБТ, полученных от больных из контрастных по возрасту групп и на территориях с разным уровнем внутри- и межрегиональной миграции).

6. Проспективные клинико-эпидемиологические исследования исходов туберкулеза, вызванного разными эпидемическими генотипами/субтипами МБТ с целью прогнозирования эффективности лечения. Переход к персонализированным моделям лечения туберкулеза

легких с учетом генотипической характеристики возбудителя. Профилактика нозокомиальной передачи высоко трансмиссивных вариантов возбудителя в стационарах путем клинико-эпидемиологического мониторинга на уровне противотуберкулезного учреждения.

### СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

*В научных изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ*

1. Применение делеционного анализа по RD105 для выявления генотипа Пекин *Mycobacterium tuberculosis* / **С.Н.Жданова**, О.Б. Огарков, Л.А.Степаненко, А.А. Лац, В.В. Синьков, Л.С. Унтанова, Г.И. Алексеева, Е.Д. Савилов // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2011. – № 2. – С. 194-197.
2. Характеристика лекарственно устойчивых штаммов *Mycobacterium tuberculosis* с помощью молекулярно-генетических методов / **С.Н. Жданова**, Е.Ю. Зоркальцева, О.Б. Огарков, О.А. Воробьева, Унтанова Л.С., Алексеева Г.И., Савилов Е.Д. // Сибирский медицинский журнал (Иркутск). – 2011. – № 6. – С. 228-230.
3. Применение пакета прикладных программ MIRU-VNTRplus в молекулярно-эпидемиологической оценке трасмиссивности генотипов *Mycobacterium tuberculosis* / О.Б. Огарков, **С.Н. Жданова**, Л.А. Степаненко, А.А. Лац, В.В. Синьков, Е.Д. Савилов. //Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2011. – № 2. – С. 159-162.
4. Лекарственная устойчивость различных генотипов *Mycobacterium tuberculosis* у больных туберкулёзом в Иркутской области / А.А.Лац, **С.Н.Жданова**, О.Б.Огарков, С.И. Алексеева //Известия Иркутского государственного университета. Серия: Биология. Экология. – 2011. –Т. 4, № 4. – С. 58-62.
5. Делеционный анализ по RD181, RD150, RD142 штаммов генотипа Пекин *Mycobacterium tuberculosis* у больных туберкулезом в Иркутской области / А.А. Лац, **С.Н. Жданова**, О.Б.Огарков, Е.Д. Савилов //Сибирский медицинский журнал (Иркутск). – 2012. –№ 6 – С. 88-90.
6. Характеристика мутаций, ответственных за резистентность к противотуберкулезным препаратам первого и второго ряда у штаммов *Mycobacterium tuberculosis*, циркулирующих на территории Иркутской области и Республики Саха (Якутия) /**С.Н.Жданова**, О.Б.Огарков, S.Pholwat, А.А. Лац, Г.И. Алексеева, А.Ф. Кравченко, Е.Ю. Зоркальцева, Е. Нопрт, Е.Д. Савилов //Сибирский медицинский журнал (Иркутск). – 2012. – № 6. – С. 64-67.
7. Оценка эпидемической ситуации по туберкулезу в республике Бурятия / А.Н. Зарбуев, В.А. Астафьев, Е.Д. Савилов, Л.С. Унтанова, О.Б.Огарков, **С.Н. Жданова**, Е.Ю. Зоркальцева // Сибирский медицинский журнал (Иркутск). – 2012. – № 7 – С. 87-89.
8. Полиморфизм *Mycobacterium tuberculosis* s, выделенных от больных туберкулезом в пенитенциарной системе Бурятии: высокая распространенность генотипа Пекин / О.Б. Огарков, **С.Н. Жданова**, А.Н. Зарбуев, М.В. Бадлеева, Л.С. Унтанова, И.В. Темирбаева, А.А. Лац, Е.Д. Савилов // Сибирский медицинский журнал (Иркутск). –2012. – № 6 . –С. 54-57.
9. Исследование генетического разнообразия *Mycobacterium tuberculosis* при сочетанной патологии с ВИЧ-инфекцией в Восточно-Сибирском регионе. / **С. Н. Жданова**, О. Б. Огарков, А. Н. Зарбуев, Унтанова Л.С., Савилов Е.Д.. // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2012. – № 5, Ч. 1. – С. 47-50.
10. ‘Lethal’ combination of *Mycobacterium tuberculosis* Beijing genotype and human CD209 - 336G allele in Russian male population. / O. Ogarkov, I. Mokrousov, V. Sinkov, **S. Zhdanova**, S. Antipina, E. Savilov //Infect. Genet. Evol. – 2012. – V.12. – P732-736.
11. Сравнительный анализ генотипов *Mycobacterium tuberculosis* в Республике Саха (Якутия) и Иркутской области./ **С.Н. Жданова**, Г.И. Алексеева, О.Б. Огарков, А.Ф.

- Кравченко, Е.Ю. Зоркальцева, М.К. Винокурова, Е.Д. Савилов // Якутский медицинский журнал. – 2013. – № 1. – С. 68-71.
12. Исследование филогенетических взаимоотношений основных генотипов *Mycobacterium tuberculosis* по 24 локусам MIRU-VNTR / А.А. Лац, О.Б.Огарков, **С.Н. Жданова**, А.Н. Зарбуев, Л.С. Унтанова, М.В. Бадлеева Б.Д. Занаева, О.Ц. Цыдыпова // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. –2013. – № 2-2 (90). – С. 144-147.
13. Оценка эпидемиологической ситуации по туберкулезу среди представителей различных этнических групп республики Бурятия / В.А. Астафьев, Е.Д. Савилов, Л.А. Степаненко, А.Н. Зарбуев, О.Б. Огарков, **С.Н. Жданова**, Л.С. Унтанова // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2013. – № 4 (92). – С. 81-86.
14. Primary multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* in 2 regions, Eastern Siberia, Russian Federation / **S. Zhdanova**, E. Savilov, S.K. Heysell, G. Boyarinova, S. Pholwat, E.R. Houpt, O. Ogarkov, E. Zorkaltseva, G. Alexeeva // Emerging Infectious Diseases. – 2013. – Vol. 19, N 10. – P. 1649-1652.
15. Генотип LAM *Mycobacterium tuberculosis* в Бурятии / Е.Д. Савилов, **С.Н. Жданова**, О.Б. Огарков, А.А. Лац, А.Н. Зарбуев // Сибирский медицинский журнал (Иркутск). – 2013. – Т. 121, № 6. – С.140-142.
16. Выявление убиквитарных и эндемичных генотипов *Mycobacterium tuberculosis* на территории республики Бурятия. / **С.Н. Жданова**, О.Б. Огарков, А.А. Лац, А.Н. Зарбуев, М.В. Бадлеева, Л.С. Унтанова, Е.Д. Савилов // Молекулярная генетика, вирусология и микробиология. – 2014. – № 2. – С.12-16.
17. Сравнительное изучение генотипов *M. tuberculosis* из приграничных районов Монголии и республики Бурятия. / **С.Н. Жданова**, О.Б. Огарков, А.Д. Молонов, М.В. Бадлеева, Л.С. Унтанова, Е.Д. Савилов, Ю.А. Баранова, Л.В. Тейхриб, П.В. Корнилова //Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2014. – № 2(96). – С. 63-66.
18. Туберкулёз в основных социальных группах риска. / В.А. Астафьев, Е.Д. Савилов, **С.Н. Жданова**, О.Б. Огарков, А.Н. Зарбуев, Е.Л. Кичигина // Сибирский медицинский журнал (Иркутск). – 2014. –Т.129, № 6. – С.114-117.
19. Молекулярно-эпидемиологическая характеристика штаммов *M. tuberculosis* семейства S В Саха (Якутии) /О.Б. Огарков, **С.Н. Жданова**, И.В. Мокроусов, М.К. Винокурова, Г.И. Алексеева, Ю.А. Баранова, Л.В. Тейхриб, Е.Д. Савилов, А.Ф. Кравченко //Сибирский медицинский журнал (Иркутск). –2014. –Т.129, № 6. – С.109-111.
20. Генетическая характеристика и лекарственная устойчивость микобактерий туберкулеза у больных туберкулезом и ВИЧ-инфекцией в Иркутской области / Е.Ю. Зоркальцева, О.Б. Огарков, **С.Н. Жданова**, С.И. Алексеева //Туберкулез и болезни легких. – 2014. –Т. 91, № 6. –С. 42-45.
21. Integrated Microfluidic Card with TaqMan Probes and High Resolution Melt Analysis to Detect Tuberculosis Drug Resistance Mutations across 10 Genes / S. Pholwat, J. Liu, S. Stroup, J. Gratz, S. Banu, S.M. Rahman, S.S. Ferdous, S. Foongladda, D. Boonlert, O. Ogarkov, **S. Zhdanova**, G. Kibiki, S. Heysell, E. Houpt // mBio. – 2015. – V.24, № 6 (2). pii: e02273-14.
22. Основные генотипы *M. tuberculosis*, циркулирующие в республике Саха (Якутия)/ М.К. Винокурова, Н.Е. Евдокимова, Г.И. Алексеева, А.Ф. Кравченко, Е.Д. Савилов, О.Б. Огарков, **С.Н. Жданова** // Туберкулез и болезни легких. – 2015 . – № 6. – С. 38-39.
23. Генотипы *M. tuberculosis* у больных основных этнических групп в Восточной Сибири (республика Бурятия, Иркутская область и Забайкальский край) // М.А. Баранова, Л.В. Тейхриб, М.В. Бадлеева, **С.Н. Жданова**, О.Б. Огарков, Е.Д. Савилов //Сибирский медицинский журнал (Иркутск). – 2015. – Т.135, № 4. – С. 79-82.

24. Генетическое разнообразие изолятов микобактерий туберкулеза из Саха (Якутия), Россия / **С.Н. Жданова**, О.Б. Огарков, Г.И. Алексеева, М.К. Винокурова, В.В. Синьков, Е.Д. Савилов, А.Ф. Кравченко // Молекулярная генетика, вирусология и микробиология . – 2016. – Т.34, № 2. – С. 43-48.
25. Latin-American-Mediterranean lineage of *Mycobacterium tuberculosis*: Human traces across pathogen's phylogeography./ I. Mokrousov, A. Vyazovaya, T. Iwamoto, Y. Skiba, I. Pole, **S. Zhdanova**, K. Arikawa, V. Sinkov, T. Umpeleva, V. Valcheva, M. Alvarez Figueroa, R. Ranka, I. Jansone, O. Ogarkov, V. Zhuravlev, O.Narvskaya // Molecular Phylogenetics and Evolution. – 2016. – V.99. – P.133-143.
26. Эпидемиологическая ситуация по туберкулезу в Дальневосточном Федеральном округе и Республике Саха (Якутия) / Е.Д.Савилов, В.А. Астафьев, М.К. Винокурова, О.Б. Огарков, **С.Н. Жданова**, Г.И. Алексеева, А.Ф. Кравченко // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2016. – № 4. – С. 28-34.
27. Eis promoter c14G and c15G mutations do not confer kanamycin resistance in *Mycobacterium tuberculosis* / S. Pholwat, S. Stroup, S. Heysell, G. Ramakrishnan, E. Houpt, O. Ogarkov, **S. Zhdanova** // Antimicrobial Agents and Chemotherapy. – 2016. – Т. 60, № 12. – P. 7522-7523.
28. Undertreated HIV and drug-resistant tuberculosis at a referral hospital in Irkutsk, Siberia / S. Heysell, O. Ogarkov, **S. Zhdanova**, E. Zorkaltseva, S. Shugaeva J. Gratz, S. Vitko, E. Savilov, M. Koshcheyev, E. Houpt // International Journal of Tuberculosis and Lung Disease. – 2016. – V. 20, № 2. – P. 187-192.
29. Administrative interventions associated with increased initiation on antiretroviral therapy in Irkutsk, Siberia / O. Ogarkov , A. Ebers, **S. Zhdanova**, E. Moiseeva, M. Koshcheyev, E. Zorkaltseva, S. Shugaeva, S. Vitko, G. Lyles, E. Houpt, S. Heysell // Public Health Action. – 2016. – V. 6, № 4. – P. 252-254.
30. Высокая распространённость генотипа В0/W148 *Mycobacterium tuberculosis* у больных ВИЧ-инфекцией, сочетанной с туберкулёзом, в Пермском крае и Иркутской области. / О.Е. Микова, **С.Н.Жданова**, В.И.Сергеевич, О.Б.Огарков, Е.В.Сармометов, Т.А.Варецкая, О.Н. Новицкая, П.А. Хромова, Е.Д. Савилов, М.Е. Кошечев, Д.В. Шмагин //Бюллетень ВСНЦ. 2016. – № 5. – С.142-145.
31. Филогеография генотипа Beijing в Монголии / Е.А. Орлова, **С.Н. Жданова**, О.Б. Огарков, М.В. Бадлеева // Бюллетень ВСНЦ. – 2016. – Т. 1, № 5. – С. 146-149.
32. Моделирование распространения основных клонов возбудителя туберкулеза в Саха (Якутия). / **С.Н. Жданова**, О.Б.Огарков, М.К. Винокурова, Г.И. Алексеева, В.В. Синьков, А.Ф. Кравченко, Е.Д. Савилов // Туберкулез и болезни легких. – 2017. – Т.95, №7. – С. 40-47.
33. Prevalence and extent of heteroresistance by next generation sequencing of multidrug-resistant tuberculosis./ D. Operario, A. Koepfel, S. Turner, Y. Bao, S. Pholwat, S. Vanu, S. Foongladda, S. Mragama, J. Gratz, O. Ogarkov, **S. Zhdanova**, S. Heysell, E. Houpt // PLoS One. –2017 – V. 18, № 12(5):e0176522.
34. Филогеография *Mycobacterium tuberculosis* в центральной и пограничной Монголии. / Е.А. Орлова, М.В. Бадлеева, Э. Баасансурэн, Н. Эрдэнэгэрэл, Т. Оюунтуяа, Б. Буянхишиг, Б. Пунцаг, Д. Нямхуу, **С.Н. Жданова** //Acta Biomedica Scientifica. – 2017. – Т.2, № 5. – С. 180-186.
35. Особенности эпидемического процесса туберкулёза на отдельных территориях Российской Федерации / В.А. Астафьев, О.Б. Огарков, **С.Н. Жданова**, А.Ф. Кравченко, М.К. Винокурова, Н.Н. Чемезова, Е.Ю. Зоркальцева, С.Н. Шугаева, Е.Д. Савилов // Acta Biomedica Scientifica. – 2017. – Т. 2, № 5. – С.168-174.

36. Молекулярно-генетические особенности туберкулеза в Монголии и граничащих с ней регионах России. / М.В. Бадлеева, **С.Н. Жданова**, Э. Баасансурэн, О.Б. Огарков, Н. Эрдэнэгэрэл, Е.А. Орлова, Т. Оюунтуяа, Е.Д. Савилов, Б. Буянхишиг, Б. Пунцаг, Д. Нямхуу // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. – 2017. – №. 5. – С.53-58.

Публикации в других изданиях

37. Изучение молекулярно-эпидемиологических особенностей туберкулеза в Восточной Сибири. / Е.Д.Савилов, **С.Н.Жданова**, О.Б.Огарков, Е.Ю. Зоркальцева, Л.Г. Слепцова // Этиологические эпидемиологические и клинические аспекты инфекционных болезней: материалы научной конференции с международным участием. – Иркутск 15-17 сентября 2010 г. //Журнал инфекционной патологии. – 2010. – Т. 17. – С.124-125.

38. **Жданова, С.Н.** Оценка распространенности различных генотипов микобактерий туберкулеза в Восточной Сибири //Актуальные вопросы фтизиатрии в Иркутской области: сборник статей, посвященный 20-летию кафедры туберкулеза Иркутского государственного института усовершенствования врачей. – Иркутск: РИО ИГИУВа, 2010. – С.10-12.

39. Современные эпидемиологические исследования туберкулеза на эпидемически неблагоприятных территориях Восточно-Сибирского региона и республики Саха (Якутия). / **С.Н. Жданова**, Е.Д. Савилов, О.Б. Огарков, Е.Ю. Зоркальцева, Г.И. Алексеева, Л.Г. Слепцова, Л.С. Унтанова // Труды II Сибирского конгресса по экологии с международным участием. МАНЭБ Иркутск-Байкал, 2010. – С. 17-19.

40. Клинические проявления туберкулеза и их связь с биологическими свойствами возбудителя / Е.Ю. Зоркальцева, Е.Д. Савилов, **С.Н. Жданова**, С.И. Алексеева, О.А. Воробьева, Т.Ю. Погребняк, Н.А. Сокольников, Л.Г. Зуенок // Труды II Сибирского конгресса по экологии с международным участием. МАНЭБ Иркутск-Байкал, 2010. – С. 22-24.

41. Молекулярно-генетическое изучение микобактерий туберкулеза, циркулирующих на территории Восточной Сибири и Республики Саха (Якутия) / **С.Н. Жданова**, Е.Д. Савилов, О.Б.Огарков, Г.И.Алексеева //Труды Третьего съезда военных врачей медико-профилактического профиля вооруженных сил Российской Федерации: Достижения науки и практики в обеспечении санитарно-эпидемиологического благополучия вооруженных сил Российской Федерации. 8-10 декабря, С.-Петербург, 2010. – С. 93.

42. Одновременное исследование MIRU-VNTR профилей *Mycobacterium tuberculosis* и SNP полиморфизма ДНК от пациентов с легочным туберкулезом в Иркутской области. / О.Б. Огарков, В.В. Синьков, И.В. Мокроусов, Е.Д. Савилов, **С.Н. Жданова**, С.Л. Антипина // Молекулярная диагностика -2010: материалы Всероссийской конференции. – Москва, 2010. – Т.1. – С.164-167.

43. Огарков, О.Б. Реинжиниринг лабораторной службы областного противотуберкулезного учреждения, анализ рисков / О.Б. Огарков, М.Е. Кошечев, **С.Н. Жданова** // Туберкулёз и болезни лёгких. – 2011. – № 5. – С.83-84.

44. Молекулярно-эпидемиологическая характеристика штаммов *Mycobacterium tuberculosis* из группы URAL, циркулирующих на территории Иркутской области. / О.Б. Огарков, **С.Н. Жданова**, В.В. Синьков, И.В.Мокроусов, Е.Д. Савилов // Туберкулез и болезни легких. – 2011. – Т. 88, № 4. – С. 140-141.

45. Эпидемиологический анализ: Методы статистической обработки материала (монография)/ Е.Д. Савилов, В.А. Астафьев, **С.Н.Жданова**, Е.А. Заруднев // Новосибирск: Наука-Центр, 2011. – 156с

46. The historical reconstruction of the “Beijing” genotype spreading of *Mycobacterium tuberculosis* in Russian Federation and former USSR countries by the methods of molecular epidemiology / О. Ogarkov, V. Sinkov, E. Savirov, **S. Zhdanova** //5th ICID Abstracts /Int. J. Infect. Dis. – 2012. –16S1: 47.027.

47. Comparative investigation of molecular epidemiology *Mycobacterium tuberculosis* drug-resistant strains in two regions of Eastern Siberia. / **S. Zhdanova**, S. Pholwat, O. Ogarkov, G. Alekseeva, A. Lats, A. Kravchenko, E. Savilov, E. Zarudnev, E. Houpt // 15<sup>th</sup> ICID Abstracts / Int. J. Infect. Dis. –2012. – 16S1:47.048
48. Эпидемические генотипы *Mycobacterium tuberculosis* в республике Саха (Якутия)./ **С.Н. Жданова**, Г.И. Алексеева, О.Б. Огарков, А.Ф. Кравченко, Е.Д. Савилов / Молекулярная эпидемиология актуальных инфекций: международная конференция. – Санкт-Петербург, 5–7 июня 2013 г. // Инфекция и иммунитет. – 2013. –Т. 3, № 2. – С. 128.
49. Молекулярный мониторинг ДНК *Mycobacterium tuberculosis* для раннего прогнозирования неблагоприятных исходов больных ВИЧ/ТБ-инфекцией. / О.Б.Огарков, **С.Н. Жданова**, Е.Ю. Зоркальцева, Е.Д. Савилов / Молекулярная эпидемиология актуальных инфекций: международная конференция. Санкт-Петербург, 5–7 июня 2013 г. // Инфекция и иммунитет. – 2013. – Т. 3, № 2. – С. 158-159.
50. Эпидемические генотипы туберкулеза с множественной лекарственной устойчивостью в республике Саха (Якутия)/ **С.Н. Жданова**, Г.И. Алексеева, О.Б. Огарков, А.Ф. Кравченко, Е.Ю. Зоркальцева, М.К. Винокурова, Е.Д. Савилов // Совершенствование организации противотуберкулезных мероприятий в условиях Крайнего Севера и Дальнего Востока: материалы региональной научно-практической конференции. – Якутск, 2013. – С. 9-11.
51. Исследование филогенетических взаимоотношений основных генотипов *Mycobacterium tuberculosis* по 24 локусам MIRU-VNTR в Саха (Якутии) / **С.Н. Жданова**, М.В. Винокурова, О.Б. Огарков, И.В. Мокроусов, Г.И. Алексеева, Е.Д. Савилов, А.Ф. Кравченко // Молекулярная диагностика -2014: материалы VIII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, 18-20 марта 2014 г. – Москва, 2014. – Т. 1. – С. 95-96.
52. Эпидемические генотипы, циркулирующие на территории Восточной Сибири (Якутия, Бурятия и Иркутская область) / **С.Н. Жданова**, О.Б.Огарков, Е.Д. Савилов, Е.Ю. Зоркальцева, А.Ф. Кравченко, М.К. Винокурова, Г.И. Алексеева, А.Н. Зарбуев, М.В. Бадлеева // Эффективное решение проблем туберкулеза: от научной идеи до медицинской практики: материалы межрегиональной научно-практической конференции с международным участием, 18-20 июня 2014 г. – Новосибирск, 2014. – С. 69-72.
53. Туберкулез в пенитенциарной системе как основной фактор риска в развитии эпидемического процесса (монография) / А.Н. Зарбуев, Е.Д. Савилов, В.А. Астафьев, О.Б. Огарков, **С.Н. Жданова**, С.Ч. Гончикова // Новосибирск: Наука, 2014. – 235 с.
54. The effect of genetic polymorphisms on drug resistance and early treatment outcome in HIV patients with primary TB in Eastern Siberia / O. Ogarkov, **S. Zhdanova**, S. Heysell, E. Houpt, E. Zorkaltseva, V. Sinkov, E. Savilov // Abstracts of International Meeting on Emerging Diseases and Surveillance. Vienna, Austria. – October 31 – November 3, 2014. – P.170.
55. Филогенетическое моделирование распространения эндемичных штаммов туберкулеза на территории Республики Саха (Якутия) по сравнению с другими приполярными регионами мира /О.Б. Огарков, **С.Н. Жданова**, Г.И. Алексеева, М.К. Винокурова, В.В. Синьков, Е.Д. Савилов, А.Ф. Кравченко // Новые приоритеты противотуберкулезной работы в циркумполярных регионах Арктики: материалы симпозиума с международным участием, 2-3 сентября 2015 г. – Якутск, 2015. – С. 90-93.
56. Туберкулез: эпидемиология и организация борьбы в современных условиях Крайнего Севера (на примере Республики Саха (Якутия) (монография) / Г.И. Алексеева, В.А. Астафьев, И.И. Виноуров, М.К. Винокурова, **С.Н. Жданова**, С.П. Зорина //Новосибирск: Наука, 2015. – 196 с.
57. Phylogenetic reconstruction within *Mycobacterium tuberculosis* Beijing genotype in northeastern Russia. / **S.N. Zhdanova**, O.B.Ogarkov, G.I. Alexeeva, M.K. Vinokurova, E.D. Savilov, V.V. Sinkov // 10-я Международная мультikonференция по биоинформатике

регуляции и структуры геномов и системной биологии BGRS/SB-2016. – Novosibirsk, Russia. – Abstracts. – С. 349.

58. Частота распространения B0/W148 штаммов в популяции *Mycobacterium tuberculosis* из Иркутской области / С.Н. Жданова, О.Б. Огарков, П.А. Хромова, Е.Ю. Зоркальцева, М.В. Бадлеева, М.Е.Кошечев //Сборник трудов конференции «Молекулярная диагностика 2017» – 2017. – Т.1. – С. 514-515.

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

**ВОЗ** – Всемирная организация здравоохранения

**ДНК** – дезоксирибонуклеиновая кислота

**ДФО**- Дальневосточный федеральный округ

**ЛУ** – лекарственная устойчивость

**МБТ** – микобактерия туберкулеза

**МЛУ** – множественная лекарственная устойчивость

**ПЦР-РВ** – полимеразная цепная реакция с детекцией в реальном времени

**РС (Я)** – республика Саха (Якутия)

**СФО** – Сибирский федеральный округ

**ТБ** – туберкулез

**ПТП** - противотуберкулезные препараты

**ЛАМ** – Латино-Американско-Средиземноморское (англ. Latin American Mediterranean) семейство штаммов туберкулеза

**MIRU** – микобактериальные дисперегированные единицы переменного числа копий (англ. Mycobacterial Interspersed Repetitive Units)

**MIT** – международный номер MIRU-VNTR-профиля в базе данных SITVIT (англ. MIRU International Type)

**SITVIT** – глобальная база данных известных генотипов микобактерий, содержащая данные сполитотипирования (SpolDB4) и MIRU-VNTR генотипов

**UPGMA** – филогенетический метод на основе вычисления невзвешенного попарного арифметического среднего (англ. Unweighted Pair-Group Method Averages)

**VNTR** – переменное число tandemных повторов (англ. Variable Number Tandem Repeat)

**RR** – относительный риск (англ. relative risk)

**СС** – клональные комплексы MIRUVNTR-профилей штаммов генотипа Beijing, распределенные в семь групп (CC16 и BL7) по Merker M. et al. (2015) (англ. clonal complexes – CCs)

**CC1** – «клональный комплекс 1» штаммов генотипа Beijing, определяемый по результатам 24 MIRU-VNTR типирования (англ. clonal complex)

**CC2** – «клональный комплекс 2» штаммов генотипа Beijing, определяемый по результатам 24 MIRU-VNTR типирования (англ. clonal complex)

**CC2/W148** – клоновая группа штаммов клонального комплекса 2 генотипа Beijing, имеющих специфическую мутацию в гене *kdpD*

**CR** – уровень кластеризации (англ. clustering rate)

## СЛОВАРЬ ТЕРМИНОВ

**Изоляты** - выращенные из клинического материала на специализированных культуральных средах, идентифицированные *M. tuberculosis*.

**Кластер** – два и более изолята *M. tuberculosis*, имеющие идентичный профиль, полученный путем генотипирования.

**Эпидемический генотип/субтип МБТ** – совокупность штаммов *M. tuberculosis* одного генотипа/субтипа, имеющих минимальные генетические различия (не имеет генетических дериватов), в доминирующем количестве циркулирующих на определенной территории.

**Трансмиссивный генотип/субтип МБТ** – эпидемиологическая характеристика штаммов *M. tuberculosis* определенного генотипа/субтипа, широко распространенного в популяции больных ТБ, включающего как эпидемический генотип/субтип, так и возникшие как результат дивергенции его близкородственные варианты.

**ЖДАНОВА СВЕТЛАНА НИКОЛАЕВНА**

**МОЛЕКУЛЯРНО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОЕ  
ИССЛЕДОВАНИЕ РАСПРОСТРАНЕНИЯ ОСНОВНЫХ  
ГЕНОТИПОВ ВОЗБУДИТЕЛЯ ТУБЕРКУЛЕЗА В СЕВЕРНОЙ  
АЗИИ**

**14.02.02 – Эпидемиология**

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени  
доктора медицинских наук

Подписано в печать 06.03.2018. Формат 60x90/16  
усл. печ. л. 2,0 Тираж 100 экз. Заказ № 004-18  
Отпечатано в РИО ИНЦХТ.  
Иркутск, ул. Борцов Революции, 1.  
Тел. (3952) 29-03-37. E-mail: [arleon58@gmail.com](mailto:arleon58@gmail.com)