

ОБЗОРЫ/REVIEWS

УДК 616-002.5

doi: <https://dx.doi.org/10.22328/2413-5747-2025-11-1-7-26>**ТАРГЕТНОЕ СЕКВЕНИРОВАНИЕ ГЕНОВ ЛЕКАРСТВЕННОЙ
УСТОЙЧИВОСТИ *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS***¹И. К. Ковров*, ¹Ю. А. Попова, ¹И. А. Попова, ¹Е. И. Никишова, ^{1,2}А. О. Марьяндышев¹Северный государственный медицинский университет, г. Архангельск, Россия²Северный арктический федеральный университет, г. Архангельск, Россия

ВВЕДЕНИЕ. Лекарственно-устойчивые формы туберкулеза и их распространение являются актуальной проблемой современной медицины. Генетические механизмы возникновения лекарственной устойчивости – ключ к пониманию возможностей методов диагностики резистентного к терапии туберкулеза. В настоящее время определяются как фенотипические признаки устойчивости возбудителя к противотуберкулезным препаратам, так и генетические маркеры резистентности. Широкий спектр тематических публикаций и исследований, посвященных мутациям генов, связан с резистентностью к противотуберкулезным препаратам.

ЦЕЛЬ. Провести анализ наиболее эффективных молекулярно-биологических технологий и методов, позволяющих определить устойчивость возбудителя туберкулеза к препаратам, рекомендованным Всемирной организацией здравоохранения (ВОЗ) в режимах лечения. Представить наибольшие частоты отдельных мутаций, ассоциированных с генами антибиотикорезистентности, формирующих значимый уровень устойчивости к противотуберкулезным препаратам. Рассмотреть спектр мутаций генов лекарственной устойчивости, обеспечивающих наибольший вклад в ее формирование.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ. Использованы материалы отечественных и зарубежных авторов, рекомендации ВОЗ, связанные с тематикой распространенности и оценки значения мутаций отдельных генов антибиотикорезистентности в разных странах и регионах. Проанализированы периодические литературные источники из международных и российских свободных баз данных: PubMed, сайт ВОЗ (<https://www.who.int>), международная база данных туберкулеза – Tuberculosis Drug Resistance Mutation Database (TbDRMDB) (<http://www.tbdreamdb.com>), MDPI, eLIBRARY, КиберЛенинка, а также выборка статей по ключевым словам за 20 лет (с 2004 по 2024 г.).

РЕЗУЛЬТАТЫ. Представлены наиболее эффективные молекулярно-биологические технологии, дающие возможность определить мутации в генах лекарственной устойчивости. Таргетное секвенирование позволяет при целевом выборе праймеров к фрагментам генов, связанных с лекарственной устойчивостью, получить результаты, необходимые для оценки уровня резистентности микобактерий к основным препаратам, входящим в схему лечения. Систематизированы наиболее частые локализации мутаций в генах *Mycobacterium tuberculosis*, ассоциированные со значимыми уровнями лекарственной устойчивости.

ОБСУЖДЕНИЕ. Распространенность лекарственно-устойчивых штаммов варьирует в странах и регионах и может быть сопоставлена только с использованием надежного и верифицируемого генетического метода. Целевое секвенирование является методом эффективного надзора за лекарственно-устойчивым туберкулезом, а для валидации этой информации используют фенотипическое исследование в системе Bactec MGIT. Результаты распространенности однонуклеотидных полиморфизмов, полученные с помощью методов секвенирования, должны дополнять и уточнять данные, выявленные с помощью метода ПЦР.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ. Таргетное секвенирование генов лекарственной устойчивости по Сенгеру занимает достойное место в ряду других молекулярно-генетических методов исследования туберкулеза. Особую роль целевое секвенирование имеет при анализе генов, ассоциированных с лекарственной устойчивостью к давно используемым препаратам 1-го ряда при нетипичных локализациях мутаций; оно также является единственным методом для исследования генов, связанных с резистентностью к новым и разрабатываемым препаратам. Для результативности сенгеровского секвенирования ключевую роль играет адекватный выбор наборов ряда праймеров к участкам генов лекарственной устойчивости, кодирующим критические для правильного формирования глобулярной структуры положения полипептидной цепи в ферментных комплексах *M. tuberculosis*.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: морская медицина, лекарственная устойчивость микобактерий туберкулеза, гены, ассоциированные с лекарственной устойчивостью, таргетное секвенирование, сенгеровское секвенирование, точечная мутация

© Авторы, 2025. Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Научно-исследовательский институт промышленной и морской медицины Федерального медико-биологического агентства». Данная статья распространяется на условиях «открытого доступа» в соответствии с лицензией CCBY-NC-SA 4.0 («Attribution-NonCommercial-ShareAlike» / «Атрибуция-Некоммерчески-Сохранение Условий» 4.0), которая разрешает неограниченное некоммерческое использование, распространение и воспроизведение на любом носителе при указании автора и источника. Чтобы ознакомиться с полными условиями данной лицензии на русском языке, посетите сайт: <https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/deed.ru>

*Для корреспонденции: Ковров Игорь Константинович, e-mail: ingmar-kov@yandex.ru

*For correspondence: Igor K. Kovrov, e-mail: ingmar-kov@yandex.ru

Для цитирования: Ковров И.К., Попова Ю.А., Попова И.А., Никишова Е.И., Марьяндышев А.О. Таргетное секвенирование генов лекарственной устойчивости *Mycobacterium tuberculosis* // *Морская медицина*. 2025. Т. 11, № 5. С. 7–26, doi: <https://dx.doi.org/10.22328/2413-5747-2025-11-1-7-26>; EDN: <https://elibrary.ru/PKFIDR>

For citation: Kovrov I. K., Popova Yu. A., Popova I. A., Nikishova E. I., Mariandyshev A. O. Targeted sequencing of drug resistance genes *mycobacterium tuberculosis* // *Marine Medicine*. 2025. Vol. 11, № 1. P. 7–26, doi: <https://dx.doi.org/10.22328/2413-5747-2025-11-1-7-26>; EDN: <https://elibrary.ru/PKFIDR>

TARGETED SEQUENCING OF DRUG RESISTANCE GENES *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS*

¹Igor K. Kovrov*, ¹Yuliya A. Popova, ¹Irina A. Popova, ¹Elena I. Nikishova, ^{1,2}Andrei O. Mariandyshev

¹ Northern State Medical University, Arkhangelsk, Russia

² Northern Arctic Federal University, Arkhangelsk, Russia

INTRODUCTION. Drug-resistant forms of tuberculosis and their prevalence are an urgent problem of modern medicine. Genetic mechanisms of drug resistance are the key to understanding the possibilities of diagnostic methods for therapy-resistant tuberculosis. Currently, both phenotypic signs of pathogen resistance to TB drugs and genetic markers of resistance are being identified. A wide range of thematic publications and studies on gene mutations is associated with resistance to TB drugs.

OBJECTIVE. Analyze the most effective molecular biological technologies and methods allowing to determine resistance of the tuberculosis pathogen to drugs recommended by the World Health Organization (WHO) in treatment regimens. To present the highest incidence of individual mutations associated with antibiotic resistance genes, which form a significant level of resistance to antituberculosis drugs. Consider the spectrum of mutations of drug resistance genes that provide the greatest contribution to its formation.

MATERIALS AND METHODS. Materials of Russian and foreign authors, WHO recommendations related to the prevalence and assessment of the significance of mutations of individual antibiotic resistance genes in different countries and regions were used. Periodical literature sources from international and Russian free databases were analyzed: PubMed, WHO website (<https://www.who.int>), international tuberculosis database - Tuberculosis Drug Resistance Mutation Database (TBDReaMDB). (<http://www.tbdreamdb.com>), MDPI, eLIBRARY, CyberLeninka, and a sample of articles by keywords for 20 years (from 2004 to 2024).

RESULTS. The most effective molecular biological technologies that enable the detection of mutations in drug resistance genes are presented. Targeted sequencing allows the targeted selection of primers to fragments of genes associated with drug resistance to obtain the results necessary to assess the level of resistance of mycobacteria to the main drugs included in the treatment regimen. The most frequent localizations of mutations in *Mycobacterium tuberculosis* genes associated with significant levels of drug resistance have been systematized.

DISCUSSION. The prevalence of drug-resistant strains varies across countries and regions and can only be compared using a reliable and verifiable genetic method. Targeted sequencing is a method for effective surveillance of drug-resistant TB, and phenotypic testing in the Bactec MGIT system is used to validate this information. Results of the prevalence of single nucleotide polymorphisms obtained by sequencing methods should complement and clarify the data detected by PCR methods.

CONCLUSION. Targeted Sanger sequencing of drug resistance genes occupies a worthy place among other molecular genetic methods of tuberculosis research. Targeted sequencing has a special role in the analysis of genes associated with drug resistance to long-standing first-line drugs with atypical localization of mutations; it is also the only method for the study of genes associated with resistance to new and emerging drugs. Adequate selection of primer sets for the regions of drug resistance genes encoding polypeptide chain positions in *M. tuberculosis* enzyme complexes that are critical for the correct formation of the globular structure plays a key role in the efficiency of Sanger sequencing.

KEYWORDS: marine medicine, drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*, drug resistance associated genes, target sequencing, Sanger sequencing, point mutation

Введение. Несмотря на положительную эпидемиологическую динамику по туберкулезу, в последнее десятилетие в Российской Федерации сохраняются неблагоприятные факторы, влияющие на распространенность заболевания [1–3]. Важнейшими из них являются поздняя

диагностика легочного туберкулеза, широкая трансмиссия штаммов возбудителя с множественной устойчивостью к противотуберкулезным препаратам (МЛУ), низкая эффективность лечения лекарственно-резистентных случаев заболевания [1–8]. В настоящее время

успешные результаты лечения больных туберкулезом (МЛУ-ТБ) составляют менее 60 %, а у больных с широкой лекарственной устойчивостью (ШЛУ-ТБ) – 40 % [9, 10]. Элиминация из популяции резистентных штаммов микобактерий туберкулеза, обусловленных устойчивостью к препаратам первого и второго ряда, для лечения МЛУ и пре-ШЛУ/ШЛУ составляет важнейшую задачу, способствующую контролю за распространением: снижению заболеваемости и ликвидации туберкулеза [1, 4].

Возникновение лекарственной устойчивости микобактерий обусловлено неточностями при репликации кольцевой бактериальной хромосомы с образованием однонуклеотидных замен в смысловой кодирующей последовательности или в регуляторных элементах, а также более редкого перемещения и встраивания и/или потери коротких инсерционных последовательностей в ДНК *M. tuberculosis* [11]. Мутации часто происходят в генах, которые кодируют мишени для противотуберкулезных препаратов или механизмы их метаболизма, что влияет на эффективность проводимой терапии [12, 13]. В обширной и активно делящейся популяции возбудителя туберкулеза всегда присутствует небольшое количество бактерий-мутантов со спонтанной лекарственной устойчивостью. При условии недостаточной эффективности терапии низкими дозами действующих препаратов или неправильно подобранным режимом лечения, а также под действием иммунной системы больного, такие штаммы проходят селективный клональный отбор с накоплением мутаций. Мутантные микобактерии получают преимущество над «дикими» природными штаммами с лекарственной чувствительностью к большинству антибактериальных препаратов [11]. Для подбора эффективной схемы лечения приоритетной является информация о чувствительности возбудителя к противотуберкулезным препаратам.

Для выявления лекарственно-устойчивого туберкулеза требуются быстрые молекулярные методы секвенирования, которые могут заменить фенотипические исследования. Стандартное фенотипическое тестирование лекарственной чувствительности, основанное на культивировании микобактерий на жидких и плотных средах, может занять от нескольких недель до месяца [13, 14]. Кроме того, для некоторых препаратов оно

имеет ограничения, связанные с надежностью и воспроизводимостью методов тестирования.

Цель. Показать эффективные молекулярно-биологические технологии и методы, позволяющие определить резистентность возбудителя туберкулеза к противотуберкулезным препаратам. Представить наибольшие частоты отдельных мутаций, ассоциированных с генами антибиотикорезистентности, формирующими значимый уровень устойчивости к противотуберкулезным средствам. Рассмотреть спектр задействованных в мутациях генов лекарственной устойчивости с наибольшим вкладом в ее формирование.

Материалы и методы. Использованы материалы отечественных и зарубежных авторов, рекомендации Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), связанные с тематикой распространенности и оценки значения мутаций отдельных генов антибиотикорезистентности в разных странах и регионах. Проанализированы периодические литературные источники из международных и российских свободных баз данных: PubMed, сайт ВОЗ (<https://www.who.int>), MDPI, eLIBRARY, КиберЛенинка, а также выборка статей по ключевым словам за 20 лет (с 2004 по 2024 г.).

Результаты. Быстрое определение лекарственной чувствительности микобактерии на современном этапе развития диагностики решается молекулярно-биологическими методами, важнейшими из которых являются классическая мультиплексная ПЦР, картриджная технология, микрочипные гибридизационные технологии и секвенирование генов лекарственной устойчивости¹ [2, 3, 6, 15].

В настоящее время ВОЗ для быстрой молекулярно-биологической диагностики рекомендует применять следующие три класса методов, которые систематизированы по сложности их внедрения в практику лаборатории:

1. Автоматизированные методы амплификации нуклеиновых кислот низкой сложности для выявления устойчивости к Изониазиду и Рифампицину (картриджная технология GeneXpert MTB/HDR);

¹Use of Xpert MTB/RIF and Xpert MTB/RIF Ultra on GeneXpert 10-colour instruments: WHO policy statement/WorldHealthOrganization, 2021, 17p. Эл. ресурс: <https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/350154/9789240040090-eng.pdf?sequence=1> (дата обращения: 18.11.2024)

2. Автоматизированные методы амплификации нуклеиновых кислот средней сложности для выявления туберкулеза и устойчивости к Рифампицину и Изониазиду (ПЦР – Abbott RealTime MTB, Abbott RealTime MTB RIF/INH, BD MAX MDR-TB, cobas MTB, cobas MTB-RIF/INH, FluoroType MTBDR, FluoroType MTB);

Методы высокой диагностической сложности для обнаружения резистентности к противотуберкулезному препарату Пиразинамиду, основанные на обратной гибридизации (метод линейных зондов – Genoscholar PZA-TB II)^{1,2} [15, 16].

Более других требованиям, предъявляемым к лабораторной экспресс-диагностике туберкулеза «у постели больного» («Point-of-Care Testing»), удовлетворяют исследования, выполняемые на генетическом анализаторе GeneXpert. В соответствии с клиническими рекомендациями «Туберкулез у взрослых» (2024), при обнаружении резистентности возбудителя к Рифампицину молекулярно-генетическим методом с помощью GeneXpert (или иным валидированным способом) лечение проводится согласно режиму химиотерапии МЛУ-ТБ по индивидуальной схеме, содержащей эффективные препараты, к которым лабораторно доказано отсутствие устойчивости и гетерорезистентности^{2,3} [3, 6, 15].

Практическое применение GeneXpert и GeneXpertUltra, даже учитывая все очевидные их преимущества (скорость выполнения исследования и возможность предварительного анализа на МЛУ), показывает, что картриджные технологии имеют несколько недостатков, главными из которых являются высокая стоимость прибора и замены совместимых картриджей, а также ограниченность исследования в GeneXpert MTB/HDR Рифампицином (RIF).

В новой версии GeneXpertUltra5 проводятся тесты лекарственной чувствительности к RIF, INH, этионамиду, фторхинолонам (FQ), амикацину^{1,2} [3]. Тесты Xpert MTB/RIF и XpertUltra^{1,2} и линейные зондовые анализы [17] сыграли важную роль в увеличении выявления лабораторно подтвержденного Рифампицин-устойчивого туберкулеза и МЛУ-ТБ с 41 тыс. пациентов в 2009 г. до более чем 166 991 пациента в 2021 г.⁴

С другой стороны, молекулярные генотипические тесты лекарственной чувствительности, такие как GeneXpert и Geno Type MTBDRplus, MTBDRplusv2.0, при высокой специфичности по Рифампицину (98 %) и Изониазиду (92 %) исследуют широкий перечень изученных мутаций, но для более точного определения устойчивости могут потребоваться дополнительные тесты и анализы⁵ [1, 18–20]. Наличие этапа гибридизации длительностью от 2 до 18 ч и риска возникновения контаминации (при нанесении на матрицу продуктов амплификации) являются недостатками микрочипных гибридизационных технологий [19].

Отечественные и зарубежные праймеры, разработанные для ПЦР-тестов лекарственной чувствительности (ТЛЧ), обеспечивают чувствительность и специфичность на уровне 94–95 % и 98 % соответственно [14, 19]. Мультиплексная классическая ПЦР выгодно отличается от технологий, основанных на микрочипах тем, что в ней отсутствует этап гибридизации, а также есть возможность оценки результатов в режиме реального времени, что позволяет снизить риск контаминации и незамедлительно принять меры для дезактивации ампликонов [19].

В настоящее время наиболее информативной и практичной является технология целевого секвенирования следующего поколения (NGS – next generation sequencing), объединяющая ам-

²WHO operational handbook on tuberculosis. Module 3: diagnosis - rapid diagnostics for tuberculosis detection, 2021 update ISBN 978-92-4-003058-9 (electronic version)/ World Health Organization, 2021, 162 p. Эл. ресурс: <https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/376155/9789240089501-eng.pdf?sequence=1> (дата обращения: 18.11.2024)

³Клинические рекомендации. Туберкулез у взрослых [Электронный ресурс]. Разработчик: Общероссийская общественная организация «Российское общество фтизиатров»; Национальная ассоциация некоммерческих организаций фтизиатров «Ассоциация фтизиатров». Год утверждения: 2024. – 151 с. Эл. ресурс: https://cr.minzdrav.gov.ru/preview-cr/16_3 (дата обращения: 05.12.2024)

⁴Use of targeted next-generation sequencing to detect drug-resistant tuberculosis: rapid communication, July 2023 ISBN 978-92-4-007637-2 (electronic version) World Health Organization 2023, 4 p. Эл. ресурс: <https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/371687/9789240076372-eng.pdf?sequence=1> (дата обращения: 18.11.2024)

⁵Use of targeted next-generation sequencing to detect drug-resistant tuberculosis: rapid communication, July 2023 ISBN 978-92-4-007637-2 (electronic version) World Health Organization 2023, 4 p. Эл. ресурс: <https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/371687/9789240076372-eng.pdf?sequence=1> (дата обращения: 18.11.2024)

плификацию выбранных генов с технологией секвенирования следующего поколения для обнаружения устойчивости ко многим препаратам с помощью одного теста. Для определения нуклеотидной последовательности генома в одной биохимической реакции используют высокопроизводительный метод секвенирования – NGS [21]. Он выполняется с помощью технологий, которые могут параллельно определять последовательности нескольких фрагментов ДНК; затем последовательности собирают в библиотеку и сопоставляют с референтным геномом с использованием биоинформатических анализов.

В настоящее время доступные платформы NGS (Illumina, SOLiD) и целевое NGS используют схожий рабочий процесс, который включает извлечение ДНК из микобактерий, выделенных из клинического образца или культуры, затем обработку ДНК для создания библиотеки фрагментов ДНК (включая целевую амплификацию в таргетном NGS), секвенирование библиотеки и, наконец, использование инструментов биоинформатики для сборки последовательностей и сравнения их с последовательностью эталонного штамма, чтобы идентифицировать «варианты» или мутации относительно референтного штамма *M. tuberculosis H37Rv* [5, 15, 16, 21, 22].

Поскольку каждая позиция в геноме секвенируется много раз, можно обнаружить смеси мутантных и неизменных диких последовательностей. Кроме того, NGS способен исследовать полную последовательность генов для выявления специфических мутаций, связанных с устойчивостью, что может обеспечить более высокую точность по сравнению с существующими быстрыми диагностическими тестами. Целевые тесты на основе NGS могут обнаружить устойчивость к новым и ранее используемым препаратам, которую в настоящее время невозможно определить никакими другими молекулярными методами. Например, NGS обладает большим потенциалом для обеспечения комплексного обнаружения устойчивости к лекарственным препаратам, входящим в современные схемы лечения⁴ [22].

В 2003 г. ВОЗ провела оценку эффективности целевого NGS при исследовании образцов мокроты для определения устойчивости к RIF, INH, Левофлоксацину (Lfx), Моксифлоксацину (Mfx), Пиразинамиду (Z) и Этамбутолу (E). В большом исследовании изучено около 12 тыс.

образцов из 13 стран, неблагополучных по туберкулезу. Тесты лекарственной чувствительности на основе NGS преодолели многие проблемы бактериологического фенотипического надзора за лекарственно-устойчивым туберкулезом и ограничения других молекулярных методов ТЛЧ, предоставляя профили устойчивости для большего диапазона препаратов за меньшее время и для большего количества стран⁵.

Результаты исследования были определены как точные для всех препаратов, включенных в оценку, с объединенной чувствительностью $\geq 95\%$ для RIF, INH, Mfx и E, 94% для Lfx и 88% для Z. Специфичность составила $\geq 96\%$ для всех препаратов. Референтным стандартом был фенотипический ТЛЧ на основе культуры для Изониазида, Левофлоксацина и Моксифлоксацина. Доля полученных данных с неопределенными результатами варьировала от 9% (Lfx и Mfx) до 18% (Z) при более высоких показателях неопределенности в образцах с более низкой бактериальной нагрузкой⁵.

Полученные результаты позволили оценить высокую эффективность методов секвенирования и рекомендовать их для использования в системах надзора за лекарственно-устойчивым туберкулезом, поскольку они могут предоставить надежную информацию для многих противотуберкулезных препаратов в одном тесте и выявить мутации, которые могут быть пропущены другими молекулярными анализами⁴. В зависимости от пропускной способности и количества тестируемых препаратов NGS может быть экономически более эффективным, чем другие методы ТЛЧ. В то же время стоимость приобретения, установки и обслуживания приборов-секвенаторов NGS весьма значительна и становится экономически оправданной только при длительном применении⁶.

Эффективность секвенирования нового поколения позволяет сравнить его с более ранним методом изучения последовательности ДНК – методом таргетного секвенирования по Сенгеру. Секвенирование по Сенгеру — ме-

⁴The use of next-generation sequencing technologies for the detection of mutations associated with drug resistance in Mycobacterium tuberculosis complex: technical guide. Geneva: World Health Organization; 2018, 112 p. Эл. ресурс: <https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/274443/WHO-CDS-TB-2018.19-eng.pdf?sequence=1> (дата обращения: 18.11.2024)

тод, основанный на включении ДНК-полимеразой завершающих цепь дидезоксинуклеотидов в процессе репликации ДНК в лабораторных условиях⁶. Анализ фрагментов ДНК по Сенгеру является одним из первых разработанных методов секвенирования нуклеиновых кислот. Несмотря на низкую пропускную способность и возможность обрабатывать относительно короткие последовательности ДНК до 750–820 пар оснований (п.о.), определяемых с относительной точностью 98,5–99 % в одном анализе [25, 26], автоматизированный метод Сенгера с анализом последовательности нуклеотидов в варианте капиллярного электрофореза остается лучшим методом идентификации коротких tandemных повторов и секвенирования фрагментов отдельных генов [23–27].

Преимущества метода NGS по сравнению с сенгеровским заключается в его большей пропускной способности за счет одновременного секвенирования большого количества относительно коротких перекрывающихся участков – контигов, а также с возможностью намного более широкого покрытия последовательности гена, связанного с лекарственной чувствительностью [15, 28, 29]. С 2011 г. появились технологии NGS (PacBio и Oxford Nanopore), имеющие возможность определять значительно более длинные нуклеотидные последовательности с длиной более 5000 п.о., в среднем для платформ PacBio длина прочтения составляет 8500 п.о. В этих платформах отсутствует такой недостаток, как короткая последовательность определения единичного сиквенса при низкой точности прочтения отдельных оснований [22]. Однако платформы таргетного секвенирования, осуществляющие «чтение» более коротких последовательностей, предпочтительнее в использовании, так как они дают возможность детально и точно определить последовательность любого из генов, ассоциированных с лекарственной чувствительностью [15].

Метод Сенгера имеет важное преимущество, позволяющее использовать его как референсный. Малое количество ошибок, возникающих в процессе секвенирования, позволяет с относительно меньшими затратами и меньшей глубиной покрытия подвергнуть сиквенсному анализу достаточно протяженный участок гена [30]. При этом автоматизированный метод демонстрирует хорошую специфичность для конкретных последовательностей с минимальной

возможностью перекрестной контаминации [30]. Данный метод позволяет с высокой точностью определить наличие в регуляторных последовательностях фрагментов генов мутации, отвечающие за лекарственную чувствительность *M. tuberculosis* [23].

Лекарственная устойчивость штаммов *M. tuberculosis* возникает в результате мутаций функциональных генов. Эти мутации часто приводят к изменениям специфических участков белка, например сайтов связывания лекарств, или возникают в промоторных участках генов (инициаторах), что приводит к усилению или ослаблению транскрипции, или ее прерыванию при нонсенс-мутациях в экзоне⁶ [20, 31].

Изучение методом секвенирования минимальных изменений последовательности ДНК от наиболее частых точечных мутаций – *однонуклеотидных полиморфизмов* (*SNP – single nucleotide polymorphism*), представляющих собой замену одной пары азотистых оснований в локальной последовательности ДНК в пределах одного гена, до относительно редких *инсерций* (вставок однонуклеотидных участков ДНК) и *делеций* (потери однонуклеотидных участков ДНК, объединяемых термином *indel*), определяет чувствительность возбудителя туберкулеза к конкретному антибактериальному средству.

В классификации *SNP*-мутаций выделяют *транзиции*, происходящие при замене пуриновых азотистых оснований на пуриновые А→Г, или пиримидиновых азотистых оснований на пиримидиновые Т→С, и *трансверсии*, возникающие при замене пуриновых оснований на пиримидиновые или пиримидиновых на пуриновые Г→Т или Г→С, а также инсерции и делеции. Инсерции и делеции вызывают сдвиг рамки считывания, если встраиваемый или удаляемый фрагмент цепи ДНК не кратен трем группам нуклеотидов, что приводит к ошибкам считывания последовательности и остановке синтеза белка на рибосомах *M. tuberculosis* или запускает формирование нефункциональной третичной структуры белка с потерей его функции, если белок представлял собой мишень для лекарственного препарата. В результате дефектный нефункционирующий белок избегает взаимодействия с противотуберкулезным средством.

SNP-мутации классифицируют на синонимичные и несинонимичные полиморфизмы,

имеющие различные функциональные характеристики. Несинонимичные *SNP*-мутации ведут к замене аминокислоты в белковой цепи на другую и подвергаются давлению естественного отбора *in vivo* и *in vitro*. Этот вид мутаций ответственен за формирование устойчивости туберкулезной микобактерии к противотуберкулезным лекарствам. Синонимичные *SNP*-мутации функционально и биологически нейтральны, не вызывают замены аминокислот и не играют роли в мутационной изменчивости и изменении чувствительности *M. tuberculosis* к лекарственным препаратам [32].

Одним из наиболее эффективных инструментов оценки биологического значения устойчивости МБТ к противотуберкулезным препаратам может стать анализ спектра мутаций, ассоциированных с резистентностью. Известно, что разные виды мутаций с определенной локализацией и их сочетания в геноме микобактерии могут приводить к высокому, промежуточному или низкому уровню резистентности к фармакологическому препарату, а частота распространения мутантных штаммов МБТ у впервые выявленных больных туберкулезом показывает влияние мутаций на трансмиссивность изолятов^{6, 7} [1, 31]. Существует необходимость установить связи между конкретными *SNP*-типами и другими мутациями в экзонных и регуляторных последовательностях генов, связанных с лекарственной устойчивостью [14, 33].

Устойчивость к противотуберкулезным препаратам и установление правильной ассоциации с определенными мутациями должна быть подтверждена стандартизованными лабораторными методами, в первую очередь фенотипическими тестами лекарственной чувствительности методом Bactec MGIT [35]. Уровень лекарственной устойчивости к определенному препарату обуславливается значением минимальной ингибирующей концентрации (МИК), показатели которой отличаются у штаммов микобактерий со специфичным спектром му-

таций, выделенных от разных пациентов⁸. Исследование The CRyPTIC Consortium (2024) показали, что существуют многочисленные мутации, различающиеся фенотипически разными уровнями МИК противотуберкулезных препаратов, в том числе к такому показательному для лечения туберкулезной инфекции лекарственному средству, как Рифампицин [36].

Для уменьшения расхождения результатов исследования лекарственной чувствительности МБТ фенотипическими и молекулярно-генетическими методами критические концентрации препаратов регулярно пересматриваются. Например, для Рифампицина МИК была уменьшена с 1 до 0,5 мг/л при применении метода Bactec MGIT, что позволяет более точно соотнести изученный спектр мутаций и ассоциировать каждую из мутаций с разными уровнями резистентности⁹.

ВОЗ систематизировала многочисленные данные исследований в «Каталоге мутаций *M. tuberculosis complex* и их связи с лекарственной устойчивостью»⁷. В Каталоге объединена информация по перечню ассоциативных с препаратами мутаций; по положению продукта мутации в структуре полипептидной цепи белка; по абсолютным количествам обнаруженных восприимчивых и устойчивых изолятов микобактерий (с мутацией и без нее); по частоте обнаружения, истинной положительной и отрицательной скорости мутации; прогностической ценности мутации (единственной и в сочетании с другими); в отношении шансов единственной мутации [22, 34].

Ввиду появления в схемах лечения туберкулеза новых противотуберкулезных препаратов: Бедаквилина (Bdq), Деламанида (Dlm), Претоманида (Pa), Линезолида (Lzd), Клофазимины (Cfz), показавших свою эффективность в режимах, рекомендованных ВОЗ, необходимо рас-

⁶Catalogue of mutations in Mycobacterium tuberculosis complex and their association with drug resistance. Geneva: World Health Organization; Second edition, 2023, 129 p. licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO; <https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/3.0/igo>. Эл. ресурс: <https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/374061/9789240082410-eng.pdf?sequence=1> (дата обращения: 18.11.2024)

⁸The use of next-generation sequencing for the surveillance of drug-resistant tuberculosis: an implementation manual. Geneva: World Health Organization; 2023, 120 p. Эл. ресурс: <https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/373419/9789240078079-eng.pdf?sequence=1> (дата обращения: 18.11.2024)

⁹Technical report on critical concentrations for drug susceptibility testing of isoniazid and the rifamycins (rifampicin, rifabutin and rifapentine). Geneva: World Health Organization; 2021. 87 p. Эл. ресурс: <https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/339275/9789240017283-eng.pdf?sequence=1> (дата обращения: 18.11.2024)

смотреть наиболее распространенные мутации, способные привести к развитию резистентности. Метод сегнеровского секвенирования позволяет провести таргетное секвенирование лекарственной устойчивости ко всем противотуберкулезным препаратам при условии целевого подбора праймеров к участкам, статистически наиболее подверженным мутациям, а при подборе праймеров с перекрывающимися участками амплификации – надежно определить полную последовательность гена [29].

Обсуждение. В отечественных и зарубежных публикациях подробно рассмотрены вопросы частоты выявления лекарственно-устойчивых штаммов МТБ к противотуберкулезным препаратам первого ряда (Рифампицин, Изониазид, Пиразинамид, Этамбутол) и несколько меньше – к препаратам второго ряда (Fq), еще меньше информации – по чувствительности к новым препаратам второго ряда (Bdq, Dlm, Pa, Lzd, Cfz). Рассмотрение генных мутаций, связанных с устойчивостью к противотуберкулезным препаратам в рекомендованных ВОЗ режимах терапии туберкулеза, имеет важное практическое значение для выбора праймеров при проведении секвенирования по Сенгеру.

Рифампицин – один из самых эффективных противотуберкулезных антибиотиков, который вместе с изониазидом составляет основу многокомпонентной схемы лечения туберкулеза [38–40]. Наиболее часто мутации, формирующие резистентность к RIF, обнаруживаются в гене *rpoB* в 531-м (по альтернативной номенклатуре – в 450) положении полипептидной цепи белка Ser450Leu – 64,4 %, реже обнаруживаются мутации в 516 (по альтернативной номенклатуре – в 435) положении с заменой Аспарагина на Валин (Asp435Val) – 6,9 %, еще более редкой является мутация в 526 (по альтернативной номенклатуре – в 445) положении с заменой Гистидина на Аспарагин (His445Asp) – 3,6 %⁷.

При этом показатели распространенности отдельных мутаций, доминирующих в разных странах, различаются. Наиболее распространенными однонуклеотидными мутациями в гене *rpoB*, ответственных за устойчивость к RIF, представлены в табл. 1.

Распространенность однонуклеотидных мутаций Ser531(450)Leu в Санкт-Петербурге, Иркутской области и Республике Саха (Якутия) [33] составила 42,3–42,9 % от всех рифам-

пицин-резистентных штаммов туберкулеза. В Москве этот показатель составил 82,9 % [50].

Наиболее ранние исследования распространенности мутаций генов лекарственной устойчивости к Рифампицину (*rpoB*), которые проводили в 2001–2004 гг. в Архангельской области, обнаружили доминирующие мутации Ser531(450)Leu – 70,3 %, His526(445)Ser – 9,9 %, Asp516(435)Val – 6,3 %¹⁰ [51]. В Ярославской и Омской областях распространенность мутации Ser531(450)Leu составила от 40 до 50 % [1], в Саратовской области – 21,3 % [6, 7]. В республике Марий Эл выявленная частота распространенности мутации Ser531(450)Leu составила 83,7 %¹¹, в Ямало-Ненецком автономном округе – 70,4 % [52]. В Западно-Сибирском регионе РФ выявленная частота распространенности мутации Ser531(450)Leu составила 52,5 %¹².

Исследования по секвенированию ДНК показали, что 95 % штаммов *M. tuberculosis*, устойчивых к RIF, имеют мутацию в области «горячей точки» длиной 81 п.н. (кодоны 507–533) гена субъединицы РНК-полимеразы (*rpoB*) [40]. Таким образом, наиболее распространенная мутация в положении Ser531(450)Leu в гене *rpoB*, встречающаяся во многих странах (включая Российскую Федерацию), может быть исследована методом секвенирования.

Вторым основным препаратом для медикаментозной терапии лекарственно-чувствительного туберкулеза является Изониазид, который используется в лечении более 70 лет. В отличие от Рифампицина Изониазид эффективен только против метаболически активных реплицирующихся бацилл. Устойчивость к этому препарату связана с мутациями в нескольких генах, таких как *katG*, *inhA*, *ahpC*, *kasA* и *ndh* [2, 4, 34, 38, 39].

Основной ген, определяющий устойчивость к INH, – *katG*. Любая мутация, нарушающая

¹⁰Тунгусова О.С. Молекулярно-генетические аспекты развития лекарственной устойчивости в условиях угрозы развития эпидемии туберкулеза в Архангельской области: автореф. дисс. д.м.н. Архангельск, 2004. 34 с.

¹¹Петрова Л.В. Характеристика биологических свойств микобактерий, выделенных в республике Марий Эл, оптимизация алгоритма их выявления: автореф. дисс. к.м.н. М., 2023., 177 с.

¹²Филипенко М.Л. Молекулярно-генетическое типирование *Mycobacterium tuberculosis*, выявление мутаций генома, вызывающих резистентность к противотуберкулезным препаратам: автореф. дисс. д.б.н., Новосибирск, 2022. 30 с.

Таблица 1

Наиболее распространенные мутации в гене *rpoB*, отвечающие за устойчивость к Рифампицину, в разных странах за период с 2004 по 2019 г.

Table 1

The most common mutations in the *rpoB* gene responsible for rifampicin resistance in different countries between 2004 and 2019

Страна	Период исследования, годы	Доминирующие мутации	Изменение в белковой цепи	Доминирующие мутации, %	Литературный источник
Россия	1997–2005	Ser531(450) Leu	Серин 531→Лейцин	62,80	[1]
Китай	1999–2004	Ser531(450) Leu	Серин 531→Лейцин	35,75	[1]
США	2000–2008	Ser531(445) Leu His526(445) Tyr Asp516(435) Val	Серин 531→Лейцин, Гистидин 526→Тирозин, Аспарагиновая кислота 516→Валин	62,1 11,5 6,9	[45]
Бразилия	2003–2004	Ser531(450) Leu	Серин 531→Лейцин	74,4	[46]
Перу	2003–2004	Ser531(450) Leu	Серин 531→Лейцин	73,5	[46]
Аргентина	2003–2004	Ser531(450) Leu	Серин 531→Лейцин	71,4	[46]
Польша	2004	Ser531(450) Leu Asp516(435) Tyr Asp516(435) Val	Серин 531→Лейцин, Аспарагиновая кислота 516→Тирозин, Аспарагиновая кислота 516→Валин	37,5 9,4 4,7	[40]
Белоруссия	2003–2010	Ser531(450) Leu Asp516(435) Val His526(445) Tyr	Серин 531→Лейцин, Аспарагиновая кислота 516→Валин, Гистидин 526→Тирозин	66,7 15,9 9,5	[41]
Киргизия	2008	Ser531(450) Leu Asp516(435) Tyr Leu511(430) Pro	Серин 531→Лейцин, Аспарагиновая кислота 516→Тирозин, Лейцин 511→Пролин	56 7,6 6,8	[43]
Россия	2008–2011	Ser531(450) Leu Asp516(435) Val Asp516(435) Tyr	Серин 531→Лейцин, Аспарагиновая кислота 516→Валин, Аспарагиновая кислота 516→Тирозин	84,75 3,57 1,81	[1]
Бразилия	2008–2012	Ser531(450) Leu Ser531(450) Trp His526(445) Tyr	Серин 531→Лейцин, Серин 531→Триптофан, Гистидин526→Тирозин	58,5 20,8 5,7	[47]
Казахстан	2012	Ser531(450) Leu His526(445) Leu His526(445) Tyr	Серин 531→Лейцин, Гистидин526→Лейцин, Гистидин526→Тирозин	77,5 5 3,75	[42]
Уганда	2013– 2016	His526(445) Asp Leu511(430) Pro Ser531(450) Leu	Гистидин526→Аспарагиновая кислота, Лейцин 511→Пролин, Серин 531→Лейцин	91,1 4,44 4,44	[10]
Эфиопия	2015– 2016	Ser531(450) Leu His526(445) Tyr Asp516(435) Val	Серин 531→Лейцин, Гистидин 526→Тирозин, Аспарагиновая кислота 516→Валин	67 10 4,4	[49]
Малави	2016	His526(445) Tyr Ser531(450) Leu Asp516(435) Val	Гистидин526→Тирозин, Серин 531→Лейцин, Аспарагиновая кислота 516→Валин	29,7 27,0 16,2	[44]

Продолжение табл. 1 см. на стр. 16

Страна	Период исследования, годы	Доминирующие мутации	Изменение в белковой цепи	Доминирующие мутации, %	Литературный источник
Гана	2013–2016	His526(445) Tyr Ser531(450) Leu Leu533(452) Pro	Гистидин 526→Тирозин, Серин 531→Лейцин, Лейцин 533→Пролин	22,2 22,2 22,2	[10]
Кения	2013–2016	His526(445) Tyr Asp516(435) Val	Гистидин 526→Тирозин, Аспарагиновая кислота 516→Валин	90,91 9,09	[10]
Замбия	2013–2016	His526(445) Asp Asp516(435) Val	Гистидин526→Аспарагиновая кислота, Аспарагиновая кислота 516→Валин	75,0 25,0	[10]
Мексика	2017	Ser531(450) Leu Ser512(431) Trn His526(445) Asp Arg529 (448) Gln	Серин 531→Лейцин, Серин 531→Треонин, Гистидин526→Аспарагиновая кислота, Аргинин529→Глутамин	53 20 3 13	[28]
Индия	2018–2019	Ser531(450) Leu	Серин 531→Лейцин	> 80	[48]

способность *katG* окислять изониазид, приводит к устойчивости⁷ [2, 4]. Ген *ahpC* (*oxyR*) кодирует алкилгидропероксидазу и отвечает за дополнительную защиту микробной клетки от пероксидов [2]. В генах *inhA*, *ahpC* гораздо реже встречаются клинически значимые мутации; многие однонуклеотидные замены в них не формируют резистентности к INH.

В «Каталоге мутаций» ВОЗ наиболее частыми мутациями, формирующими устойчивость к изониазиду, являются: 1) в гене *katG* – Ser315Thr, с заменой Серина на Треонин в 315 положении (77,8 % от всех изолятов с мутацией в *katG*); 2) в гене *inhA* – мутация в области его промотора (*fabG1* C-15t), она же – *inhA* 777C > T – в 777 положении выше оперона в позиции цитозина с заменой его тиминном (21,3 % от всех изолятов с мутацией в *inhA*); 3) мутация промотора в гене *inhA* выше оперона 154G > A – в 154 положении в позиции гуанина с заменой его на аденин (3,6 % от всех изолятов).

Выявлено, что все мутации *katG* обеспечивают высокий уровень устойчивости к Изониазиду, тогда как мутации *inhA* приводят к низкому уровню резистентности, если они возникали изолированно. Однако генетически связанные мутации *inhA* имеют суммирующий эффект и обуславливают высокую устойчивость к INH⁷.

В европейских странах, США и большинстве стран Азии показатель обнаружения мутации Ser315-Thr (с мутацией замены в кодоне

AGC→ACC) был гораздо ниже: в США – 42,2 %, в Италии – 64,8 %, в Великобритании – 58,4 %, в Корее – 31,1% в Гонконге – 45,2 %, в Китае – 56,6 %. Частота данной мутации, наиболее близкая к российскому показателю, встречалась в Германии – 84,5 % [1]. Выявлено, что повсеместно встречаемость мутаций Ser315-Thr (с мутацией замены в кодоне AGC→ACA) низкая (≤ 2 %), исключением являлись США: в этой стране частота мутаций составляла 20,4 %. А вот очень редко встречающаяся в странах Европы, Азии и Америки мутация в промоторной области *ahpC*-46(G>A) с резистентностью к INH обнаружена в Великобритании – у 23,8 % штаммов [1].

В России мутации (*katG* – Ser315Thr, *inhA* – 777C > T) также доминировали в 2011–2018 гг. с распространенностью 93,28 % и 19,16 % соответственно [1]. В Казахстане (2012) мутацию Ser315Thr в *katG* также обнаруживали с подавляющей частотой – 97,5 % [42], в других странах СНГ (2011–2018 гг.) – 77 % и выше¹¹.

Исследования, проведенные в Архангельской области (2001–2004 гг.), показали, что наиболее часто (92,0 %) устойчивость к Изониазиду в гене *katG* формирует мутация Ser315Thr (с мутацией замены в кодоне AGC→ACC); в 2,7 % случаев – Ser315Ile (с мутацией замены в кодоне AGC→ATC); в 5,4 % – мутации в других генах (*inhA*, *ahpC*-*oxyR*)¹⁰.

Два основных молекулярных механизма резистентности к Изониазиду связаны с мутаци-

ями генов в *katG* и *inhA* или его промоторной области. Многочисленные исследования обнаружили мутации в этих двух генах как наиболее часто связанные с резистентностью к Изониазиду [39].

Изучение МБТ позволило установить, что мутация Ser315Thr является наиболее неблагоприятной и распространенной из мутаций в гене *katG* и приводит к продукту трансляции INH, недостаточному для образования аддукта изониазида-НАД, необходимого для проявления его антимикробной активности. Микобактерии туберкулеза с этой мутацией сохраняют свою вирулентность, обладают высоким уровнем лекарственной устойчивости с МИК > 1 мкг/мл, а также наибольшим потенциалом к широкому распространению в качестве изолятов с МЛУ⁶ [39, 53].

Вторая по частоте мутация происходит в промоторной области *inhA*, вызывая сверхэкспрессию белка InhA (еноил-АСР-редуктаза) или, реже, мутацию в его активном сайте, что снижает его сродство к аддукту изониазида-НАД [45]. Мутации в *inhA* вызывают устойчивость не только к INH, но и к структурно связанному препарату Этионамиду, который имеет ту же цель [39]. В *M. tuberculosis* *ahpC* кодирует алкилгидропероксидазоредуктазу, которая участвует в устойчивости к реактивным кислородным промежуточным продуктам.

Первоначально предполагалось, что мутации в промоторе *ahpC* могут использоваться в качестве прокси-маркеров устойчивости к INH [39]. Сравнительно недавно показано, что мутации в промоторе *ahpC* являются компенсаторными мутациями для потери активности каталазы/пероксидазы, а не причиной устойчивости к INH [39]. Более того, усиление экспрессии *ahpC* не обеспечивает устойчивость к Изониазиду [39]. В нескольких исследованиях были обнаружены однонуклеотидные полиморфизмы в других генах в клинических изолятах *M. tuberculosis*, устойчивых к Изониазиду, включая *kasA* и межгенные области *oxyR-ahpC* и *furA-katG* [45]. Эти две мутации: *katG*315 и *inhA* -777C > T (fabG1c-15t), в сочетании с десятью наиболее часто выявляемыми мутациями в промоторе *inhA* и межгенной области *ahpC-oxyR*, объясняют 84 % глобальных фенотипических резистентностей к INH [40].

Распространенность мутаций, определенных на данный момент, различается для штаммов

M. tuberculosis, полученных из разных стран. Создание международной базы данных туберкулеза Drug Resistance Mutation Database (TBDRaMDB) значительно упростило получение информации о мутациях, ассоциированных с устойчивостью к различным противотуберкулезным препаратам, обнаруженных у штаммов МБТ, выделенных в различных регионах мира¹³ [60]. В базе данных доступна информация по следующим регионам:

– для мутаций, с высокой достоверностью приводящих к устойчивости к RIF: Россия (1997–2005) – 709 устойчивых к RIF штаммов, Италия (2002–2005) – 142, Германия (2001) – 103, Китай (2005–2006) – 214, Гонконг (1994–2004) – 437, Тайвань (1998–2008) – 472, Корея – 115, Индия (2001–2003) – 149, Тайланд (2003–2005) – 154, Вьетнам (2005) – 104 устойчивых штамма;

– для мутаций, с высокой достоверностью приводящих к устойчивости к INH: Россия (1997–2005) – 217 устойчивых к INH штаммов, Казахстан (2004) – 142, Великобритания (1998) – 202, Италия (2002–2005) – 176, Германия (2001) – 103, Китай (1999–2004) – 106, Гонконг (1994–2004) – 241, Корея – 119, США (1999–2004) – 147 устойчивых штаммов.

Указанные выше мутации, характерные для Российской Федерации (*katG* –Ser315Thr; *katG* – Ser 315Ile, *inhA*-777C > T; *inhA*-154G > A), необходимо определять при проведении таргетного секвенирования.

Другое эффективное противотуберкулезное средство – Пиразинамид стал применяться в начале 1950-х годов и в настоящее время является частью стандартной схемы первой линии для лечения туберкулеза [39]. Он обладает свойством ингибировать нереплицирующиеся персистирующие бациллы, находящиеся в кислой среде туберкулезных гранулем [39]. Пиразинамид также является пролекарством, которое необходимо преобразовать в активную форму – пиразиновую кислоту – ферментом пиразинамидазой/никотинамидазой, кодируемым геном *pncA* [38, 39, 54].

Препарат эффективен при резистентности микобактерий к Рифампицину и Изониазиду.

¹³International Tuberculosis Database (Международная база данных туберкулеза) – Drug Resistance Mutation Database (TBDRaMDB). Эл. ресурс: <http://www.tbdreamdb.com/> (дата обращения: 18.11.2024).

В «Каталоге мутаций» ВОЗ наиболее распространенными мутациями в гене *pncA* являются мутации сдвига рамки считывания с потерей функции LoF, расположенные в области промотора, покрывающей область 82 п.н., что составляет 13,0 % от мутаций в гене. Второй по распространенности мутацией в гене *pncA* является His57Asp. Третья по распространенности мутация состоит в изменении кодона инициатора в промоторе гена *pncA* и определяется как 11A > G. Данные мутации в гене *pncA* ассоциированы с высоким уровнем резистентности к Z⁷. Распространенность мутаций гена *pncA* в разных странах, согласно литературным данным, такова:

- в Эфиопии (2015–2016) – мутация промотора в межгенной области в позиции 65fs – инсерция аденина в 193 положении (27,9 %); менее распространена мутация замены Val130Gly (7,4 %); еще реже встречаются мутации замены Thr76Pro, Ala102Val, Val139Ala – по 5,9 % каждая [49];

- в США наиболее частой является мутация со сдвигом рамки считывания с потерей функции LoF – 23,1 %; второй по распространенности является мутация Gln10Pro – 6,2 % [45].

В Российской Федерации опубликованы данные (Иркутская область, 2023) по исследованию мутаций фрагментов гена *pncA*, формирующих устойчивость к Пиразинамиду. Методом секвенирования по Сенгеру из 16 исследованных культур *M. tuberculosis* 3 образца определены как резистентные; 3 образца отнесены к резистентным, с мутациями, вызывающими сдвиг рамки считывания гена *pncA* (инсерции и делеции); 5 образцов с миссенс-мутациями в *pncA* отнесены к изолятам с промежуточной резистентностью к Пиразинамиду; 5 образцов определены как чувствительные, но с выявленными миссенс-мутациями, неассоциированными с резистентностью к препарату [61].

Из препаратов второго ряда, используемых в лечении МЛУ-туберкулеза, наиболее эффективные, входящие в основные схемы лечения и требующие выбора праймеров, определяющих генные мутации в целевом секвенировании, – это Bdq, Lzd, Cfz, Dlm, Pa и группа Fq – Lfx и Mfx.

Бедаквилин – препарат класса диарилхинолонов, который был создан после тридцатилетнего периода отсутствия новых лекарств против микобактерии. В клинические рекомендации

по диагностике и лечению МЛУ/ШЛУ туберкулеза был включен Bdq. Бедаквилин продемонстрировал высокую бактерицидную и стерилизующую активность против МЛУ/пре-ШЛУ штаммов *M. tuberculosis*. Согласно «Каталогу мутаций» ВОЗ наиболее распространенной мутацией гена *Rv0678 (mmpR)*, формирующей высокий уровень перекрестной резистентности между Bdq и Cfz, является мутация сдвига рамки считывания с потерей функции LoF, обнаруженная в 41,0 % штаммов; с меньшей частотой наблюдаются нонсенс-мутации сдвигов рамки считывания в гене *Rv0678* в положении Glu49 – в 13,7 %; в положении Asp47 – в 5,9 % случаев. Наиболее часто устойчивость вызывают мутации сдвига рамки считывания в 6-гуаниновом гомополимере в позициях 192–198 или в областях с низкой сложностью последовательности в позициях 138–144 или 212–216 гена *Rv0678*. Меньшие уровни резистентности к Bdq и Cfz получают изоляты микобактерий, имеющие мутации сдвига рамки считывания с потерей функции в гене *perQ* (0,8 %) и мутации замены азотистых оснований в гене *atpE* в 61 и 28 положениях полипептидной цепи Glu61Asp, Asp28Ala, Asp28Gly, Asp28Val с формированием промежуточной устойчивости⁷ [37].

В недавних работах 2023–2024 гг. по исследованию мутаций в генах *atpE* и *Rv0678 (mmpR)*, связанных с устойчивостью *M. tuberculosis* к Бедаквилину в России, показано, что в генах лекарственной устойчивости, в немногочисленных изученных МЛУ-штаммах с бактериологической резистентностью к Бедаквилину широко распространены множественные мутации со сдвигом рамки считывания между положениями кодонов 15 и 434 (15, 133, 138, 141, 175, 176, 192, 274, 288, 291, 337, 359, 418, 434), а также мутаций с нуклеотидными заменами между кодонами 106 и 425 (106, 119, 136, 193, 341, 425). Меньше выявлено единичных мутаций со сдвигом рамки считывания в 141, 359 и 418 кодонах. Также мутации обусловлены сдвигом рамки считывания в двух положениях гена *mmpR*, а также комбинацией сдвига рамки считывания и однонуклеотидной замены. Единичные мутации однонуклеотидной замены в *atpE* фиксировались крайне редко ввиду немногочисленности изученных бедаквиллин-устойчивых штаммов [12, 55]. Наиболее распространенными мутациями в гене *atpE*, обнаруженными у изолятов, устойчивых к Bdq, является Ala63Pro – 0,7 %

и Пе66Met – 0,7 % случаев. Последняя вносит модификацию, которая мешает правильному связыванию Бедаквилина с его мишенью⁷ [57].

Антибиотик Линезолид (класс оксазолидиноны) рекомендован к использованию при пре-ШЛУ-ТБ и МЛУ-ТБ. Включение Lzd в режим терапии пре-ШЛУ-ТБ позволяет достигнуть эффективного лечения у 87 % пациентов (по данным бактериологических методов исследования).

Фармакокинетические свойства Lzd, включая скорость и полноту всасывания при пероральном приеме и хорошее распределение в жидкости эпителиальной выстилки легких, позволяют предполагать, что препарат способен проникать в малодоступные толстостенные полости легких и туберкулезных каверн, где обычно располагаются очаги поражения МБТ [19, 39]. В «Каталоге мутаций» ВОЗ зарегистрированы наиболее распространенные мутации генов *rplC* и *rrl*: в гене *rplC* в положении Cys154Arg рибосомного белка L3 при замене в позиции t460c (в 27,3 % исследованных мутаций генов, ассоциированных с высоким уровнем резистентности); в гене *rrl* в области некодирующего транскрипта 2814G > T замена гуанина тиминном в 2814-м положении в экзоне (в 5,1 % исследованных мутаций генов, ассоциированных со средним уровнем резистентности); в гене *rrl* в области некодирующего транскрипта 2270G > T замена гуанина тиминном в 2270-м положении в экзоне (в 3,5 % исследованных мутаций генов, ассоциированных со средним уровнем резистентности)⁷ [37, 58]. Устойчивость *M. tuberculosis* к Линезолиду является редким явлением, но исследование, анализировавшее 210 штаммов с множественной лекарственной устойчивостью, показало, что 1,9 % штаммов с МЛУ устойчивы к Lzd [39].

Фторхинолоны (Lfx и Mfx), также как Bdq и Lzd, относятся к группе А выбора препаратов при лечении МЛУ-ТБ. Левофлоксацин и Моксифлоксацин являются синтетическими производными исходного соединения налидиксовой кислоты, обнаруженной как побочный продукт противомаларийного хлорохина¹⁴ [39]. Основным механизмом развития резистентности *M. tuberculosis* к Fq являются хромосомные мута-

ции в областях *gyrA* или *gyrB*, определяющих резистентность к хинолонам [39].

В «Каталоге мутаций» ВОЗ наиболее распространенными мутациями, вызывающими устойчивость к Fq являются: для *gyrA* – мутация, вызывающая замену в цепи белка Asp94Gly (36,4 % от всех мутаций гена *gyr* для Lfx и 42,3 % от всех мутаций гена *gyr* для Mfx); затем следует мутация, меняющая структуру полипептида в положении Ala90Val (22,4 % от мутаций *gyr* для Lfx, и 18,0 % от всех мутаций гена *gyr* для Mfx); третьей по распространенности является мутация, приводящая к замене Asp94Ala (7,5 % от мутаций *gyr* для Lfx и 7,4 % от мутаций *gyr* для Mfx). Мутации в гене *gyrB*, вызывающие резистентность к Левофлоксацину и Моксифлоксацину, встречаются гораздо реже, чем в гене *gyrA*: так, для мутации Asp461Asn частота равна 0,8 %, для Asn499Thr – 0,4 %, для Asn499Asp – 0,3 % у Lfx; для Glu501Asp – 1,5 %, для Asn499Thr – 0,6 %, для Ala504Val – 0,3 % у Mfx⁷.

Регионарное распределение наиболее часто встречающихся мутаций гена *gyrA* *Mycobacterium tuberculosis*, ассоциированных с резистентностью к фторхинолонам, таково: в России (2011–2019) Asp94Gly – 44,64 %, Ala90Val – 21,21 %, Asp94Ala – 10,94 %, Asp94Asn – 8,71 %, Ser91Pro – 7,14 %, Asp94Tyr – 5,80 %, Asp94His – 1,34 %, Gly88Cys – 0,22 % [9]; в Белоруссии (2014–2015) Asp94Gly – 35,19 %, Ala90Val – 27,78 %, Asp94Tyr+Asp94His – 14,81 %, Asp94Ala – 12,96 %, Ser91Pro – 7,41 %, *gyrA*90+*gyrA*94 – 1,85 %, [41]; в Гане (2013–2016) Asp94Gly – 14,29 % [10], в Кении (2013–2016) Asp94Gly – 85,71 % [10].

Наиболее частые мутации, вызывающие устойчивость к фторхинолонам, обнаруживаются в позициях 90 и 94 *gyrA*, реже мутации выявляют в позициях 74, 88 и 91¹⁴ [39]. В 2012 г. был опубликован систематический обзор мутаций гиразы, связанных с резистентностью к фторхинолонам у *M. tuberculosis*. SNP-замены (мутации), связанные с устойчивостью *M. tuberculosis* к Fq, чаще возникают в регионе, определяющем устойчивость к фторхинолонам, – в консервативной области генов *gyrA* (320 п.н.) и *gyrB* (375 п.н.). В регионе гена *gyrA*, определяющем устойчивость к Fq, сосредоточено преобладающее большинство мутаций (45–85 %). Мутации однонуклеотидного полиморфизма в гене *gyrB* встречаются как са-

¹⁴Хахалина А.А. Молекулярно-генетический анализ мутаций в генах *gyrA* и *gyrB*, связанных с устойчивостью *M. tuberculosis* к фторхинолонам: автореф. дисс. к.б.н., М., 2014. 26 с.

мостоятельно, так и в сочетании с геном *gyrA*. Доля штаммов *M. tuberculosis*, резистентных к Fq, составляет около 7 %, однако роль некоторых из них в развитии устойчивости до конца не ясна. Кроме того, не все мутации в генах *gyrA* и *gyrB* связаны с перекрестной устойчивостью *M. tuberculosis* ко всей группе Fq¹⁴ [39].

Клофазимин – соединение риминофеназина – антимикробный, первоначально применяемый в качестве противолепрозного лекарственного средства препарат, используемый при лечении пре-ШЛУ-ТБ в составе комбинированной терапии в безальтернативных случаях, когда обнаружена устойчивость возбудителя к другим компонентам противотуберкулезного лечения или при их применении развились нежелательные побочные реакции [19, 37, 39]. Препарат обладает высокой противотуберкулезной активностью, демонстрирует синергический эффект при приеме с другими противотуберкулезными препаратами, а также обнаруживает низкую частоту формирования резистентности к нему изолятов МБТ.

Однако его эффективность снижает низкая растворимость в воде, а большая липотропность ведет к сильной кумуляции в тканях и последующим нежелательным эффектам, включая выраженную окраску кожных покровов. В настоящее время он рассматривается во 2-й группе ВОЗ для лечения МЛУ-ТБ [19, 39]. «Каталог мутаций» ВОЗ показывает у Клофазимина и Бедаквилина в гене *Rv0678* наиболее частую мутацию (29,4 %) сдвига рамки считывания с потерей функции LoF. С меньшей частотой наблюдаются нонсенс-мутации сдвигов рамки считывания в гене *Rv0678* в положении Glu49 (в 4,3 % исследованных мутаций генов, ассоциированных с высоким уровнем резистентности) и мутация замены в гене *Rv0678* в положении Gly121Arg, связанная с промежуточным уровнем устойчивости к Cfz⁷ [56, 59].

Новые высокоактивные противотуберкулезные препараты – Деламамид и Претоманид – относятся к классу нитроимидазолов, традиционно использующихся для лечения анаэробных и паразитарных инфекций [19].

Производным нитро-дигидро-имидазооксазола является Dlm. Он обладает высокоактивным химиотерапевтическим действием против *M. tuberculosis*, особенно в отношении внутриклеточных возбудителей, локализующихся в макрофагах. В комбинации с другими пре-

паратами он показал хорошую переносимость и значительную терапевтическую широту, а также высокую эффективность в комплексной терапии туберкулеза [19, 39]. Препарат отличается сильной бактерицидной активностью против энергично делящихся микобактерий, сравнимой с активностью RIF [39]. Отсутствует перекрестная устойчивость с каким-либо противотуберкулезным препаратом.

Претоманид представляет собой бициклическое производное нитроимидазола, которое показало специфическую активность против *M. tuberculosis*, и проходит клинические испытания в составе новых режимов химиотерапии, призванных сократить сроки лечения МЛУ-ТБ до 4 (Претоманид – Моксифлоксацин – Пиразинамид) или 3 мес (Бедаквилин – Претоманид – Пиразинамид) [19, 39].

У резистентных к Dlm и Ра микобактерий была обнаружена мутация в гене *Rv3547*, что предполагает его роль в активации препаратов⁷ [19, 39, 59]. В первом издании ВОЗ «Каталога мутаций *M. tuberculosis complex* и их связи с лекарственной устойчивостью» замена аминокислоты в гене *ddn Leu49Pro* – единственная мутация, которая была достаточно частой (4,4 % от всех мутаций в данном гене), чтобы классифицировать ее как мутацию, ассоциированную с промежуточной резистентностью к Dlm и Ра. Эта мутация сохранилась и во втором издании «Каталога». Вместе с тем объединенные мутации области гена *ddn LoF* сдвига рамки считывания с потерей функции, соответствовали критериям для группы промежуточной резистентности.

Кроме этих мутаций сдвига рамки считывания с потерей функции (LoF), в оставшихся пяти генах, связанных с устойчивостью к Деламамиду, мутации были ассоциированы с промежуточной и низкой резистентностью к препаратам для Dlm и Ра на основе лабораторных исследований по индуцированному мутагенезу (*fbiA* – 0,8 %, *fbiC* – 1,2 %, *fgd1* – 0,8 %, *fbiB* – 0,0 %, *Rv2983* – 0,0 %). При этом две мутации генов *fbiB* и *Rv2983* с потерей функции в лабораторных исследованиях клинических изолятов до настоящего времени не обнаруживались, мутации по гену *fbiB* связаны с низкой устойчивостью к Деламамиду⁷ [19].

Чтобы установить критическую концентрацию для Претоманида, ВОЗ ожидает последующие научные публикации. Из-за различной

внутренней восприимчивости различных линий микобактериального комплекса критическая концентрация препарата не установлена. Было получено достаточно доказательств, что мутации сдвига рамки считывания с потерей функции (LoF) в *ddn*, *fbiA*, *fbiB*, *fbiC*, *fgd1* и *Rv2983* вызывают перекрестную резистентность к Деламамиду и Претоманиду и, следовательно, должны интерпретироваться как мутации временной резистентности и для деламанида, и для претоманида. Мутации LoF также были описаны по крайней мере в некоторых из этих генов в клинических изолятах, которые не подвергались воздействию нитроимидазолов, что указывает на возможность внутренней гетерорезистентности к Деламамиду и Претоманиду, хотя это, по-видимому, встречается очень редко⁷ [19].

Заключение. Изучение связей мутаций в генах, ассоциированных с развитием лекарственной резистентности различного уровня, с фенотипическими тестами лекарственной чувствительности позволит создать и использовать эффективные алгоритмы лечения, способные по полному спек-

тру мутаций изолятов *M. tuberculosis* определить наиболее действенную схему терапии и предотвратить широкое распространение лекарственной устойчивости туберкулеза.

Молекулярно-генетические методы определения лекарственной чувствительности являются критически важными для начала адекватной терапии туберкулеза. Целевое секвенирование, в том числе и по Сенгеру, должно применяться наряду с хорошо зарекомендовавшими себя методами картриджной, стриповой технологии, мультиплексной и других ПЦР-технологий диагностики туберкулеза и тестов лекарственной чувствительности. Очевидно, что в сложных случаях МЛУ-ТБ и ШЛУ-ТБ-секвенирование будет иметь приоритетную значимость.

Выбор ключевых генов, ассоциированных с высоким уровнем резистентности к наиболее важным противотуберкулезным препаратам, указанным в литературном обзоре, имеет важное значение для формирования набора ряда праймеров при проведении таргетного секвенирования по Сенгеру.

Сведения об авторах:

Ковров Игорь Константинович – врач-бактериолог, лаборант-исследователь Центральной научно-исследовательской лаборатории; Северный государственный медицинский университет; 163069, г. Архангельск, пр. Троицкий, д. 51; SPIN: 9231-3017; ORCID:0009-0005-5096-112X; e-mail: ingmar-kov@yandex.ru

Попова Юлия Алексеевна – аспирант кафедры фтизиопульмонологии, Северный государственный медицинский университет; 163069, г. Архангельск, пр. Троицкий, д. 51; SPIN: 8735-4220; ORCID: 0000-0003-1684-6636; e-mail: yuliapopova0422@yandex.ru

Попова Ирина Алексеевна – студент факультета медико-профилактического дела и медицинской биохимии, Северный государственный медицинский университет; 163069, г. Архангельск, пр. Троицкий, д. 51; ORCID: 0009-0003-7897-0680; e-mail: popova.irina.2754@gmail.com

Никишова Елена Ильинична – доктор медицинских наук, профессор кафедры фтизиопульмонологии; Северный государственный медицинский университет; 163069, г. Архангельск, пр. Троицкий, д. 51; SPIN: 8011-1683; ORCID: 0000-0002-1542-6958; e-mail: e.nikishova@mail.ru

Марьяндышев Андрей Олегович – доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, заведующий кафедрой фтизиопульмонологии; Северный государственный медицинский университет; 163069, г. Архангельск, пр. Троицкий, д. 51; SPIN: 4006-6117; ORCID: 0000-0002-8485-5625; e-mail: maryandyshv@mail.ru

Information about the authors:

Igor K. Kovrov – Bacteriologist, Laboratory Researcher at the Central Research Laboratory, Northern State Medical University; 163069, Arkhangelsk, Troitsky Ave., 51; SPIN: 9231-3017; ORCID: 0009-0005-5096-112X; e-mail: ingmar-kov@yandex.ru

Yuliya A. Popova – Postgraduate Student of the Department of Phthisiopulmonology; Northern State Medical University; 163069, Arkhangelsk, Troitsky Ave., 51; SPIN: 8735-4220; ORCID: 0000-0003-1684-6636; e-mail: YuliaPopova0422@yandex.ru

Irina A. Popova – Student of the Faculty of Medical Biochemistry; Northern State Medical University; 163069, Arkhangelsk, Troitsky Ave., 51; ORCID: 0009-0003-7897-0680; e-mail: popova.irina.2754@gmail.com

Elena I. Nikishova – Dr. of Sci. (Med.), Professor of the Department of Phthisiopulmonology; Northern State Medical University; 163069, Arkhangelsk, Troitskiy ave., 51; SPIN: 8011-1683; ORCID: 0000-0002-1542-6958; e-mail: e.nikishova@mail.ru

Andrei O. Mariandyshv – Dr. of Sci. (Med.), Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Head of the Department of Phthisiopulmonology; Northern State Medical University; 163069, Arkhangelsk, Troitskiy ave., 51; SPIN: 4006-6117; ORCID: 0000-0002-8485-5625; e-mail: maryandyshv@mail.ru

Вклад авторов. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства, согласно международным критериям ICMJE (все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочитали и одобрили финальную версию перед публикацией).

Наибольший вклад распределен следующим образом: концепция и план исследования – А.О. Марьяндышев, И.К. Ковров; сбор данных – И.К. Ковров, Ю.А. Попова, И.А. Попова; подготовка рукописи – И.К. Ковров, Ю.А. Попова, И.А. Попова, Е.И. Никишова, А.О. Марьяндышев

Author contribution. All authors according to the ICMJE criteria participated in the development of the concept of the article, obtaining and analyzing factual data, writing and editing the text of the article, checking and approving the text of the article.

Special contribution: AOM, IKK contribution to the concept and plan of the study. IKK, IAP, YuAP contribution to data collection. SBN, SAN, KOB, GVD, ASK, IAS contribution to data analysis and conclusions. IKK, IAP, YuAP, EIN, AOM contribution to the preparation of the manuscript.

Потенциальный конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Disclosure. The authors declare that they have no competing interests.

Финансирование: финансирование подготовки обзора литературы осуществлялась в рамках государственного задания «Использование результатов молекулярно-эпидемиологических исследований и новых лекарственных средств, режимов в ликвидации туберкулеза в Архангельской области и Ненецком автономном округе» Министерства Здравоохранения Российской Федерации, №056-03-2024-072 от 24.01.2024.

Funding: funding for the preparation of the literature review was carried out within the framework of the state assignment “Use of the results of molecular epidemiological studies and new drugs, regimens in the elimination of tuberculosis in the Arkhangelsk region and the Nenets Autonomous Okrug”, №056-03-2024-072 от 24.01.2024

Поступила/Received: 25.01.2025

Принята к печати/Accepted: 15.03.2025

Опубликована/Published: 30.03.2025

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Андреевская С. Н., Смирнова Т. Г., Ларионова Е. Е., Андриевская И. Ю., Севастьянова Э. В., Черноусова Л. Н., Эргешов А. Э. Мутации в геноме *Mycobacterium tuberculosis*, ассоциированные с генотипической МЛУ: доминирующие варианты в современной (2011–2018 гг.) популяции Российских штаммов и метаанализ мировых данных // *Уральский медицинский журнал*. 2018. № 08 (163). С. 5–9 [Andreevskaya S. N., Smirnova T. G., Larionova E. E., Andrievskaya I. Yu., Sevastyanova E. V., Chernousova L. N., Ergeshov A. E. Mutations in the *M. tuberculosis* genome associated with genotypic MDR: dominant variants in the modern (2011–2018) population of Russian strains and meta-analysis of global data. *The Ural medical journal*, 2018, No. 08 (163), pp. 5–9 (In Russ.)].
2. Журавлев В. Ю., Арчакова Л. И., Маничева О. А., Виноградова Т. И., Елькин А. В., Левашев Ю. Н. Молекулярно-генетические методы в диагностике и терапии туберкулеза легких // *Методы диагностики и технологии*. 2009. Т. XXVI, № 5. с. 100–105 [Zhuravlev V. Yu., Archakova L. I., Manicheva O. A., Vinogradova T. I., Elkin A. V., Levashev Yu. N. Molecular and genetic methods in diagnostics and therapy of tuberculosis of lungs. *Methods of diagnostics and technology*, 2009, Vol. XXVI, No. 5, pp. 100–105 (In Russ.)].
3. Хромова П. А., Огарков О. Б., Жданова С. Н., Синьков В. В., Моисеева Е. Я., Цыренова Т. А., Кошечев М. Е., Зоркальцева Е. Ю., Савилов Е. Д. Выявление высокотрансмиссивных генотипов возбудителя в клиническом материале для прогноза неблагоприятного течения туберкулеза // *Клиническая лабораторная диагностика*. 2017. Т. 62, № 10. С. 622–627 [Khromova P. A., Ogarkov O. B., Zhdanova S. N., Sinkov V. V., Moiseyeva E. Ya., Tsyrenova T. A., Koshcheev M. E., Zorkaltseva E. Yu., Savilov E. D. Identification of highly transmissible genotypes of the pathogen in clinical material for the prognosis of an unfavorable course of tuberculosis. *Clinical laboratory diagnostics*, 2017, Vol. 62, No. 10, pp. 622–627 (In Russ.)]. doi: <https://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2017-62-10-622-627>.
4. Бурмистрова И. А., Самойлова А. Г., Тюлькова Т. Е., Ваниев Э. В., Баласанянц Г. С., Васильева И. А. Лекарственная устойчивость *M. tuberculosis* (исторические аспекты, современный уровень знаний) // *Туберкулез и болезни легких*. 2020. Т. 98, № 1. С. 54–61 [Burmistrova I. A., Samoylova A. G., Tyulkova T. E., Vaniev E. V., Balasanyants G. S., Vasilyeva I. A. Drug resistance of *M. tuberculosis* (historical aspects, current level of knowledge). *Tuberculosis and Lung Diseases*, 2020, Vol. 98, No. 1, pp. 54–61 (In Russ.)]. doi: <http://doi.org/10.21292/2075-1230-2020-98-1-54-61>.
5. Кожамкулов У. А., Каиров У. Е., Рахимова С. Е., Ережепов Д. А., Ахметова А. Ж., Молкенов А. Б., Утюбаев А., Акильжанова А. Р. Идентификация генетических маркеров лекарственной устойчивости на основе полных геномов клинических изолятов *M. tuberculosis* // *KzNaU Bulletin. Biology series*. 2016. № 2 (67). С. 95–103 [Kozhamkulov U. A., Kairov C. U., Rakhimova S. E., Erezhepov D. A., Akhmetova A. Z., Molkenov A. B., Utyubayev A., Akilzhanova A. R. Identification of genetic of drug resistance based on complete genomes of clinical isolates of *M. tuberculosis*. *KzNaU Bulletin. Biology series*, 2016, No. 2 (67), pp. 95–103 (In Russ.)].
6. Салина Т. Ю., Морозова Т. И. Распространенность и спектр мутаций в генах, ассоциированных с лекарственной устойчивостью *M. tuberculosis* к Иониазиду и Рифампицину, у пациентов с разными клиническими проявлениями туберкулеза // *Туберкулез и болезни легких*. 2023. Т. 101, № 1. С. 28–33 [Salina T. Yu., Morozova T. I. Prevalence and Patterns of Gene Mutations Associated with *M. tuberculosis* Resistance to Isoniazid and Rifampicin in Patients with Different Clinical Manifestations of Tuberculosis. *Tuberculosis and Lung Diseases*, 2023, Vol. 101, № 1, pp. 28–33 (In Russ.)]. doi: <http://doi.org/10.58838/2075-1230-2023-101-1-28-33>.
7. Салина Т. Ю., Морозова Т. И. Распространенность мутаций в генах микобактерий туберкулеза, кодирующих лекарственную устойчивость к изониазиду и рифампицину, у больных туберкулезом в разных возрастных группах // *Туберкулез и болезни легких*. 2019. Т. 97, № 4. с. 12–18 [Salina T. Yu., Morozova T. I. Prevalence of mutations in

- M. tuberculosis genes coding resistance to isoniazid and rifampicin in tuberculosis patients from different age groups. *Tuberculosis and Lung Diseases*, 2019, Vol. 97, No. 4, pp. 12–18 (In Russ.]. doi: <http://doi.org/10.21292/2075-1230-2019-97-4-12-18>.
8. Abubakar I., Zignol M., Falzon D., Raviglione M., Ditiu L., Masham S., Adetifa I., Ford N., Cox H., Lawn S. D., Marais B. J., McHugh T. D., Mwaba P., Bates M., Lipman M., Zijenah L., Logan S., McNerney R., Zumla A., Sarda K., Nahid P., Hoelscher M., Pletschette M., Memish Z. A., Kim P., Hafner R., Cole S., Migliori G. B., Maeurer M., Schito M., Zumla A. Drug-resistant tuberculosis: time for visionary political leadership. *Lancet Infectious Diseases*, 2013, Vol. 13, Issue 6 M, pp. 529–539. Published Online March 24, 2013. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099\(13\)70030-6](http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099(13)70030-6).
 9. Андреевская С. Н., Смирнова Т. Г., Черноусова Л. Н., Ларионова Е. Е., Киселёва Е. А. Эргешов А. Э. Особенности генотипической резистентности к фторхинолонам у Mycobacterium tuberculosis, циркулирующих в Российской Федерации // *Вестник РГМУ*. 2022. № 5. С. 15–22 [Andreevskaya S. N., Smirnova T. G., Chernousova L. N., Larionova E. E., Kiselyova E. A., Ergeshov A. E. Features of genotypic resistance to fluoroquinolones in Mycobacterium tuberculosis, circulating in the Russian Federations. *Messenger RGMU*, 2022, No. 5, pp. 15–22 (In Russ.]. doi: <https://doi.org/10.24075/vrgmu.2022.054>.
 10. Rowneki M., Aronson N., Du P., Sachs P., Blakemore R., Chakravorty S., et al. Detection of drug resistant M. tuberculosis by high-throughput sequencing of DNA isolated from acid fast bacilli smears. *PloS ONE*, 2020, Vol 15, No. 5, e0232343. 17 p. doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0232343>.
 11. Мокроусов И. В. Некоторые особенности структуры генома и эволюции M. tuberculosis // *Инфекция и иммунитет*. 2011. Т. 1, № 3. с. 211–220 [Mokrousov I. V. Some features of the genome structure and evolution of M. tuberculosis. *Infection and immunity*, 2011, Vol. 1, No. 3, pp. 211–220 (In Russ.].
 12. Синьков В. В., Кондратов И. Г., Огарков О. Б., Жданова С. Н., Носков А. П., Хромова П. А., Орлова Е. А., Лабьгина А. В., Рычкова Л. В., Колесникова Л. И. Онлайн-сервис для интерпретации результатов при прогнозировании устойчивости к бедаквилину по молекулярно-биологическим данным // *Acta biomedica scientifica*. 2023. Т. 8, № 6. С. 124–129 [Sinkov V. V., Kondratov I. G., Ogarkov O. B., Zhdanova S. N., Noskov A. P., Khromova P. A., Orlova E. A., Labygina A. V., Rychkova L. V., Kolesnikova L. I. Online service for interpretation of the resistance prediction results to bedaquiline by the molecular data. *Acta Biomedica Scientifica*, 2023, Vol. 8, No. 6, pp. 124–129 (In Russ.]. doi: <http://doi.org/10.29413/ABS.2023-8.6.11>.
 13. Seifert M., Catanzaro D., Catanzaro A., Rodwell T. C. Genetic mutations associated with isoniazid resistance in Mycobacterium tuberculosis: a systematic review. *PLoS ONE*, 2015, Vol. 10, No. 3, e0119628. 13 p. doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0119628>.
 14. Домотенко Л. В., Морозова Т. П., Шемякин И. Г., Шепелин А. П. Опыт использования ТБ тест-набора для ускоренного определения лекарственной чувствительности M. tuberculosis // *Клиническая лабораторная диагностика*. 2020. Т. 65, № 2. С. 122–130 [Domotenko L. V., Morozova T. P., Shemyakin I. G., Shepelin A. P. Experience of use of TB of test set for the accelerated determination of medicinal sensitivity of M. tuberculosis. *Clinical laboratory diagnostics*, 2020, Vol. 65, No. 2, pp. 122–130 (In Russ.]. doi: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2020-65-2-122-130>.
 15. Эргешов А. Э., Черноусова Л. Н., Андреевская С. Н. Новые технологии микробиологической диагностики лекарственно-устойчивого туберкулеза // *Вестник РАМН*. 2019. Т. 74, № 6. С. 413–422 [Ergeshov A. E., Chernousova L. N., Andreevskaya S. N. New technologies for the diagnosis of drug-resistant tuberculosis. *Annals of the Russian academy of medical sciences*, 2019, Vol. 74, No. 6, pp. 413–422 (In Russ.]. doi: <http://doi.org/10.15690/vramn1163>.
 16. Ezewudo M., Posey J., Schito M., Borens A., Chiner-Oms A., Miotto P., Chindelevitch L., Comas I., Rodwell T. C., Starks A. M., Hanna C. D., Liwski R., Zignol M., Gilpin C., Niemann S., Kohl T., Warren R. M., Crook D., Gagneux S., Hoffner S., Rodrigues C., Engelthaler D. M., Alland D., Rigouts L., Lange C., Hasan R., McNerney R., Cirillo D. M., Dheda K. Integrating standardized whole genome sequence analysis with a global M. tuberculosis antibiotic resistance knowledgebase. *Scientific reports*. 2018; 8(1): 15382. doi: <https://doi.org/10.1038/s41598-018-33731-1>.
 17. Mäkinen J., Marttila H. J., Marjamäki M., Viljanen M. K., Soini H. Comparison of two commercially available DNA line probe assays for detection of multidrug-resistant Mycobacterium tuberculosis. *Journal of clinical microbiology*, 2006, Vol. 44, No. 2, pp. 350–352. 0095-1137/06/\$08.00 0. doi: <http://dx.doi.org/10.1128/JCM.44.2.350-352>.
 18. Кушнир Н. П., Ложкин В. С., Ковалевич Н. Л., Коломеев А. Н. Сравнительный анализ результатов молекулярно-генетических и культуральных методов в определении лекарственной чувствительности микобактерий туберкулеза // *Туберкулез и болезни легких*. 2019. Т. 97, № 11. С. 65–66 [Kushnir N. P., Lozhkin V. S., Kovalevich N. L., Kolomeets A. N. Comparative analysis of results molecular and genetic and cultural methods in determination of drug sensitivity of Mycobacterium tuberculosis. *Tuberculosis and pulmonary diseases*, 2019, Vol. 97, No. 11, pp. 65–66 (In Russ.].
 19. Черноусова Л. Н., Андреевская С. Н., Смирнова Т. Г., Ларионова Е. Е., Ивахненко О. И., Новоселова Е. А., Шевкун Н. А. Лекарственно-устойчивый туберкулез: перспективы ускоренной диагностики и химиотерапии // *Бактериология*. 2017. № 2 (1). С. 25–34 [Chernousova L. N., Andreevskaya S. N., Smirnova T. G., Larionova E. E., Ivakhnenko O. I., Novoselova E. A., Shevkun N. A. Drug-resistant tuberculosis: prospects for accelerated diagnostics and chemotherapy. *Bacteriology*. 2017. No. 2 (1). pp. 25–34 (In Russ.]. doi: <http://doi.org/10.20953/2500-1027-2017-1-25-34>.
 20. Narang A., Marras S.A.E., Kurepina N., Chauhan V., Shashkina, E., Kreiswirth B., Varma-Basil M., Vinnard C., Subbian S. Ultrasensitive detection of multidrug-resistant M. tuberculosis using superselective primer-based real-time PCR assays. *International Journal Molecular Sciences*, 2022, Vol. 23, No. 19, p. 15752. doi: <https://doi.org/10.3390/ijms232415752>.
 21. Кожамкулов У. А., Каиров У. Е., Ережепов Д. А., Ахметова А. Ж., Молкенов А. Б., Акильжанова А. Р. Полногеномное секвенирование клинических изолятов M. tuberculosis с различным профилем лекарственной чувствительности // *Biotechnology theory and practice*. 2016. 12 с. [Kozhamkulov U. A., Kairov U. E., Erezhepov D. A., Akhmetova A. Zh.,

- Molkenov A. B., Akilzhanova A. R. Whole-genome sequencing of *M. tuberculosis* clinical isolates with different drug susceptibility profiles // *Biotechnology theory and practice*. 2016. 12 p. (In Russ.).
22. NGS: высокопроизводительное секвенирование / Д. В. Ребриков, Д. О. Коростин, Е. С. Шубина, В. В. Ильинский; под общ. ред. Д. В. Ребрикова. 5-е изд. М.: *Лаборатория знаний*. 2023. 232 с.: ил. [NGS: High Throughput Sequencing / D. V. Rebrikov, D. O. Korostin, E. S. Choubina, V. V. Ilyinsky; under a gen. edit. of D.V. Rebrikov. The 5th prod. Moscow: *Laboratory of knowledge*, 2023. 232 p.: ill. (In Russ.).]
23. Арустамова Т. Р. Устройство секвенирования ДНК «Нанофор 05» // *РЕМЕДИУМ Приволжье*. октябрь 2015. Т. 138, № 8. С. 31 [Arustamova T. R. DNA sequencing device “Nanofor 05” // *REMEDY ALLOWANCE Volga region*, 2015, Vol. 138, № 8, p. 31 (In Russ.).]
24. Белов Д. А., Белов Ю. В., Манойлов В. В., Курочкин В. Е. Способы обработки результатов генетических анализов // *Научное приборостроение*. 2014. Т. 24, № 3. С. 87–91 [Belov D. A., Belov Yu. V., Manoylov V. V., Kurochkin V. E. Ways of processing of results of genetic analyses. *Scientific instrument making*, 2014, Vol. 24, No. 3, pp. 87–91 (In Russ.).]
25. Бочарова Д. В., Алексеев Я. И., Волков А. А., Лавров Г. С., Плугов А. Г., Волков И. А., Чемигов А. А., Бардин Б. В., Курочкин В. Е. Определение максимальной длины ДНК, расшифровываемой с точностью 99 %, в полимере на основе линейного N, N- полидиметилакриламида методом капиллярного гель-электрофореза с лазер-индуцируемой флуоресценцией // *Журнал аналитической химии*. 2021. Т. 76, № 12. С. 1100–1106 [Bocharova D. V., Alekseev Ya. I., Volkov A. A., Lavrov G. S., Plugov A. G., Volkov I. A., Chemigov A. A., Bardin B. V., Kurochkin V. E. Determination of the maximum length of DNA deciphered with an accuracy of 99 % in polymer on the basis of linear N,N- polydimethylacrylamide by method capillary gel electrophoresis about the laser - the induced fluorescence. *The journal of analytical chemistry*, 2021, Vol. 76, No. 12, pp. 1100–1106 (In Russ.).]
26. Волков А. А., Волков И. А., Плугов А. Г., Кулябина Е. В., Мелкова О. Н., Лавров Г. С., Бочарова Д. В., Алексеева Я. И. Генетический анализатор «Нанофор 05» в качестве средства измерений при секвенировании ДНК // *Измерительная техника*. 2021. № 1. С. 60–65 [Volkov A. A., Volkov I. A., Plugov A. G., Kulyabina E. V., Melkova O. N., Lavrov G. S., Bocharova D. V., Alekseev Ya. I. Genetic analyzer Nanophore 05 as a measuring instrument for DNA sequencing. *Measuring equipment*. 2021. No. 1. pp. 60–65 (In Russ.).] doi: <https://doi.org/10.32446/0368-1025it.2021-1-60-65>.
27. Курочкин В. Е., Алексеев Я. И., Петров Д. Г., Евстропов А. А. Отечественные приборы для молекулярно-генетического анализа: разработки ИАП РАН и ООО «Синтол» // *Известия Российской военно-медицинской академии*. 2021. Т. 40, № 3. С. 69–74 [Kurochkin V. E., Alekseev Ya. I., Petrov D. G., Evstropov A. A. Domestic devices for molecular genetic analysis: developments of the IAP RAS and SINTOL LLC. *Russian Military Medical Academy Reports*, 2021, Vol. 40, No. 3, pp. 69–74 (In Russ.).] doi: <https://doi.org/10.17816/rmmar76918>.
28. Luna J. F., Montero H., Sampieri C. L., Muñiz-Salazar R., Zenteno-Cuevas R. Sequencing of the entire *rpob* gene and characterization of mutations in isolates of *M. tuberculosis* circulating in an endemic tuberculosis setting. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 2019, Vol. 19, pp. 98–103. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2019.03.001>.
29. Tafess K., Ng T. T. L., Lao H. Y., Leung K. S. S., Tam K. K. G., Rajwani R., Tam S. T. Y., Ho L. P. K., Chu C. M. K., Gonzalez D., Sayada C., Ma O. C. K., Nega B. H., Ameni G., Yam W. C., Siu G. K. H. Targeted-sequencing workflows for comprehensive drug resistance profiling of *M. tuberculosis* cultures using two commercial sequencing platforms: comparison of analytical and diagnostic performance, turnaround time, and cost. *Clinical Chemistry Infectious Disease*, 2020, Vol. 66, No. 6, pp. 809–820. doi: <https://doi.org/10.1093/clinchem/hvaa092>.
30. Sikkema-Raddatz B., Johansson L. F., de Boer E. N., Almomani R., Boven L. G., van den Berg M. P., van Spaendonck-Zwarts, K.Y., van Tintelen, J.P., Sijmons, R.H., Jongbloed, J.D.H., & Sinke, R.J. Targeted next-generation sequencing can replace Sanger sequencing in clinical diagnostics. *Human Mutation*, 2013, Vol. 34, No. 7, pp. 1035–1042. doi: <https://doi.org/10.1002/humu.22332>.
31. Iwamoto T., Murase Y., Yoshida S., Aono A., Kuroda M., Sekizuka T., et al. Overcoming the pitfalls of automatic interpretation of whole genome sequencing data by online tools for the prediction of pyrazinamide resistance in *M. tuberculosis*. *PLoS ONE*, 2019, Vol. 14, No. 2, 13 p. doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0212798>.
32. Муминов Т. А., Жакипбаева Б. Т., Бейсембаева Ш. А., Берикханова К. Е., Акильжанова А. Р., Терликбаева А. М., Даришева М. А. Молекулярно-генетический мониторинг популяционной вариабельности штаммов МБТ // *Медицина*. 2013. № 5. с. 40–45 [Muminov T. A., Zhakipbayeva B. T., Beysembayeva Sh. A., Berikhanova K. E., Akilzhanova A. R., Terlikbayeva A. M., Darisheva M. A. Molekulyarno-genetic monitoring population variabilities strains MBT // *Medicine*. 2013. № 5. pp. 40–45 (In Russ.).]
33. Жданова С. Н., Огарков О. Б., Pholwat S., Лац А. А., Алексеева Г. И., Кравченко А. Ф., Зоркальцева Е. Ю., Нопрт Е., Савилов Е. Д. Характеристика мутаций, ответственных за резистентность к противотуберкулезным препаратам первого и второго ряда у штаммов *M. tuberculosis* циркулирующих на территории Иркутской области и республики Саха (Якутия) // *Сибирский медицинский журнал*. 2012. № 6. С. 64–67 [Zhdanov S. N., Ogarkov O. B., Pholwat S., Lats A. A., Alekseeva G. I., Kravchenko A. F., Zorkaltseva E. Yu., Hopt E., Savilov E. D. Harakteristik of the mutations responsible for resistance to antitubercular medicines of the first and second row at strains *M. tuberculosis* circulating in the territory of the Irkutsk region and the Sakha (Yakutia) Republic. *The Siberian medical magazine*. 2012, No. 6, pp. 64–67 (In Russ.).]
34. Cabibbe A.M., Walker T.M., Niemann S. et al. Whole genome sequencing of *M. tuberculosis* // *European Respiratory Journal*, 2018, Vol. 52, No. 5, pp. 1801163. doi: [10.1183/13993003.01163-2018](https://doi.org/10.1183/13993003.01163-2018).
35. Timmins G. S., Deretic V. Mechanisms of action of isoniazid. *Molecular Microbiology*, 2006, Vol. 62, No. 5, pp. 1220–1227. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2006.05467.x>.

36. Quantitative measurement of antibiotic resistance in *M. tuberculosis* reveals genetic determinants of resistance and susceptibility in a target gene approach // The CRyPTIC Consortium. *Nature Communications*. 2024, Vol. 15, No. 1, pp. 1–13. doi: <https://doi.org/10.1038/s41467-023-44325-5>.
37. Kadura S., King N., Nakhoul M., Zhu H., Theron G., Köser C.U., Farhat M. Systematic review of mutations associated with resistance to the new and repurposed *M. tuberculosis* drugs bedaquiline, clofazimine, linezolid, delamanid and pretomanid. *Systematic review. Journal Antimicrobial Chemotherapy*, 2020, Vol. 75, pp. 2031–2043. doi: <https://doi.org/10.1093/jac/dkaa136>.
38. Abraham A. O., Nasiru A. U., Abdulazeez A. K., Seun O.O. and Ogbonna D. W. Mechanism of drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. *American Journal of Biomedical Science & Research*, 2020, Vol. 7, No. 5, pp. 378–383. MS.ID.001181. doi: <http://doi.org/10.34297/AJBSR.2020.07.001181>.
39. Palomino J. C., Martin A. Drug Resistance Mechanisms in *M. tuberculosis*. *Antibiotics*. 2014, No. 3, pp. 317–340. doi: <https://doi.org/10.3390/antibiotics3030317>. www.mdpi.com/journal-antibiotics.
40. Sajduda A., Brzostek A., Popławska M., Augustynowicz-Kopeck E., Zwolska Z., Niemann S., Dziadek J., Hillemann D. Molecular characterization of rifampin- and isoniazid-resistant *M. tuberculosis* strains isolated in Poland. *Journal of clinical microbiology*, 2004, Vol. 42, No. 6, pp. 2425–2431. doi: <https://journals.asm.org/journal/jcm>.
41. Сергейчик Д. В. Устойчивость *M. tuberculosis* к противотуберкулезным лекарственным средствам, актуальность их разработки и применения // сборник материалов 70-й Международной научно-практической конференции студентов и молодых ученых «Актуальные проблемы современной медицины и фармации – 2016». 2016. с. 866–870 [Sergeychik D. V. Stability *M. tuberculosis* to antitubercular medicines, relevance of their development and application // the collection of materials of the 70th International academic and research conference of students and young scientists «Current problems of modern medicine and pharmacy – 2016», 2016, pp. 866–870 (In Russ.)].
42. Ибраева А. Р., Ахметова А. Ж., Кожамкулов У. А., Бисмилда В. Л., Аленова А. Х., Чингисова Л. Т., Абилдаев А. Ш., Раманкулов Е. М. Генотипирование и определение лекарственной устойчивости клинических изолятов *M. tuberculosis* из различных областей Казахстана на основе ДНК-секвенирования и MIRU-VNTR анализа // *Биотехнология. Теория и практика*. 2012. № 2. с. 71–77 [Ibrayeva A. R., Akhmetova A. Zh., Kozhamkulov U. A., Bismilda V. L., Alenova A. H., Chingisova L. T., Abildayev A. Sh., Ramankulov E. M. Genotyping and definition of medicinal stability of clinical isolates *M. tuberculosis* from various areas of Kazakhstan on the basis of DNA sequencing and MIRU-VNTR analysis. *Biotechnology. Theory and practice*, 2012, No. 2, pp. 71–77 (In Russ.)].
43. Исакова Ж. Т. Мутации в генах *rhoB*, *katG*, *inhA* и *ahpC* в штаммах *M. tuberculosis*, циркулирующих в Кыргызской Республике // *Сибирский медицинский журнал*. 2008. Вып. 2, No. 3. С. 89–91 [Isakova Zh. T. Mutations in genes *rhoB*, *katG*, *inhA* and *ahpC* in *M. tuberculosis* strains, circulating in the Kyrgyz Republic. *The Siberian medical journal*, 2008, Release 2, No. 3, pp. 89–91 (In Russ.)].
44. Chikaonda T., Ketseoglou I., Nguluwe N., et al. Molecular characterisation of rifampicin resistant *M. tuberculosis* strains from Malawi. *African Journal of Laboratory Medicine*, 2017, Vol. 6, No. 2, pp. 463. doi: <https://doi.org/10.4102/ajlm.v6i2.463>.
45. Campbell P. J., Morlock G. P., Sikes R. D., Dalton T. L., Metchock B., Starks A. M., Hooks D. P., Cowan L. S., Plikaytis B. B., Posey J. E. Molecular detection of mutations associated with first- and second-line drug resistance compared with conventional drug susceptibility testing of *M. tuberculosis*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2011, Vol. 55, No. 5, pp. 2032–2041. doi: [10.1128/aac.01550-10](https://doi.org/10.1128/aac.01550-10).
46. Costa E. R. D., Ribeiro M. O., Silva M. S. N., Arnold L. S., Rostirrolla D. S., Cafrune P. I., Espinoza R. C., Palaci M., Telles M. A., Ritacco V., Suffys P. N., Lopes M. L., Campelo C. L., Miranda S. S., Kremer K., Almeida da Silva P. E., Fonseca L. de S., Ho J. L., Kritski A. L., Rossetti M. L. R. Correlations of mutations in *katG*, *oxyR-ahpC* and *inhA* genes and in vitro susceptibility in *M. tuberculosis* clinical strains segregated by spoligotype families from tuberculosis prevalent countries in South America. *BMC Microbiology*, 2009, No. 9, pp. 39. doi: [10.1186/1471-2180-9-39](https://doi.org/10.1186/1471-2180-9-39).
47. Prim R. I., Schörner M. A., Senna S. G., Nogueira C. L., Figueiredo A. C. C., de Oliveira J. G., Rovaris D. B., Bazzo M. L. Molecular profiling of drug resistant isolates of *M. tuberculosis* in the state of Santa Catarina, southern Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*. 2015, Vol. 110, No. 5, pp. 618–623.
48. Maqsood M., Farooq U., Nudrat S. Molecular detection of rifampicin and isoniazid resistant *M. tuberculosis* and their associated mutation pattern from smear positive sputum samples from a tertiary care centre of west U.P. *Asian Journal of Medical Research*. 2019, Vol. 8, Issue 2, pp. 5–8. doi: [10.21276/ajmr.2019.8.2.PM2](https://doi.org/10.21276/ajmr.2019.8.2.PM2).
49. Mesfin E.A., Merker M., Beyene D., Tesfaye A., Shuaib Y. A., Addise D. et al. Prediction of drug resistance by Sanger sequencing of *M. tuberculosis* complex strains isolated from multidrug resistant tuberculosis suspect patients in Ethiopia. *PLoS ONE*. 2022, Vol. 17, No. 8, pp. 17. doi: [10.1371/journal.pone.0271508](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0271508).
50. Краснова М. А., Белиловский Е. М., Борисов С. Е., Хахалина А. А., Михайлова Ю. Д., Носова Е. Ю. Мутации генов и лекарственная устойчивость *M. tuberculosis* у пациентов, находящихся под наблюдением в городе Москве // *Туберкулез и болезни легких*. 2019. Т. 97, No. 12, С. 34–44 [Krasnova M. A., Belilovsky E. M., Borisov S. E., Khakhalina A. A., Mikhaylova Yu. D., Nosova E. Yu. Gene mutation and drug resistance of *M. tuberculosis* in the patients followed up in the city of Moscow. *Tuberculosis and Lung Diseases*, 2019, Vol. 97, No. 12, pp. 34–44 (In Russ.)]. doi: [10.21292/2075-1230-2019-97-12-34-44](https://doi.org/10.21292/2075-1230-2019-97-12-34-44)].
51. Tounghoussova O. S., Caugant D. A., Sandven P., Mariandyshev A. O., Bjune G. Impact of drug resistance on fitness of *M. tuberculosis* strains of the W-Beijing genotype. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, 2004, No. 42, pp. 281–290.
52. Умпелева Т. В., Белоусова К. В., Голубева Л. А., Ботева Т. Ю., Еремеева Н. И., Вахрушева Д. В. Генетическое разнообразие *M. tuberculosis* в Ямало-Ненецком автономном округе // *Туберкулез и болезни легких*. 2019. Т. 97, № 6. С. 69

- [Umpeleva T. V., Belousova K. V., Golubeva L. A., Boteva T. Yu., Yeremeyeva N. I., Vakhrusheva D. V. Genetic diversity of *M. tuberculosis* in the Yamalo-Nenets autonomous okrug. *Tuberculosis and pulmonary diseases*, 2019, Vol. 97, No. 6, p. 69 (In Russ.)].
53. Jaiswal I., Jain A., Singh P., Verma S. K., Prakash S., Dixit P., Suryakant, Singh M. Mutations in *katG* and *inhA* genes of isoniazid-resistant and -sensitive clinical isolates of *M. tuberculosis* from cases of pulmonary tuberculosis and their association with minimum inhibitory concentration of isoniazid. *Clinical epidemiology and global health*, 2017, No. 5, pp. 143–147.
54. Liguó L., Fengting J., Lihong C., Bing Z., Jie D., Lilian S., Yafang Z., Bo L., Yang Z., Jian Y., Yanlin Z., Qi J. & Xiaobing Z. The impact of combined gene mutations in *inhA* and *ahpC* genes on high levels of isoniazid resistance amongst *katG* non-315 in multidrug-resistant tuberculosis isolates from China. *Emerging Microbes & Infections*. 2018, Vol. 183, No. 7, pp. 1–10. doi: 10.1038/s41426-018-0184-0.
55. Перетоккина И. В., Крылова Л. Ю., Фрейман Г.Е., Носкова Е. Ю., Зименков Д. В. Изучение мутаций в генах *mmpR* и *atpE*, ассоциированных с развитием устойчивости к *M. tuberculosis* к бемаквилину // *Туберкулез и социально значимые заболевания*. 2024. Т. 12, № 1. С. 4–8 [Peretokina I. V., Krylova L. Yu., Freyman G. E., Noskova E. Yu., Zimenkov D. V. Study of mutations in the *mmpR* and *atpE* genes associated with the development of resistance to bedaquiline in *M. tuberculosis*. *Tuberculosis and socially important disease*, 2024, Vol. 12, No. 1, pp. 4–8 (In Russ.)]. doi: 10.54921/2413-0346-2024-12-1-4-8.
56. Andries K., Vilellas C., Coeck N., Thys K., Gevers T., Vranckx L., Lounis N., de Jong B. C., Koul A. Acquired resistance of *M. tuberculosis* to bedaquiline. *PLoS ONE*, 2014, Vol. 9, Issue 7, pp. 11. doi: 10.1371/journal.pone.0102135.
57. Mokrousov I., Akhmedova G., Molchanov V., Fundovnaya E., Kozlova E., Ostankova Y., Semenov A., Maslennikova N., Leontev D., Zhuravlev V., Turkin E., Vyazovaya A. Frequent acquisition of bedaquiline resistance by epidemic extensively drug-resistant *M. tuberculosis* strains in Russia during long-term treatment. *Clinical Microbiology and Infection*, 2021, Vol. 27, pp. 478–480. doi: 10.1016/j.cmi.2020.08.030.
58. Heyckendorf J., Andres S., Köser C. U., Olaru I. D., Schön T., Sturegård E., Beckert P., Schleusener V., Kohl T. A., Hillemann D., Moradigaravand D., Parkhill J., Peacock S. J., Niemann S., Lange C., Merker M. What is resistance? Impact of phenotypic versus molecular drug resistance testing on therapy for multi- and extensively drug-resistant tuberculosis. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2018, Vol. 62, Issue 2, pp. 12. doi: 10.1128/AAC.01550-17.
59. Мартинович В. В. Современные возможности лечения туберкулеза со множественной лекарственной устойчивостью микобактерий // Сборник материалов LXXIII Международной научно-практической конференции студентов и молодых ученых «Актуальные проблемы современной медицины и фармации». Минск. 2019. с. 167–171 [Martynovich V. V. Modern possibilities of treating tuberculosis with multidrug resistance of mycobacteria. Collection of materials of the LXXIII International scientific and practical conference of students and young scientists “Actual problems of modern medicine and pharmacy”. Minsk, 2019, pp. 167–171 (In Russ.)].
60. Sandgren A., Strong M., Muthukrishnan P., Weiner B. K., Church G. M., Murray M. B. Tuberculosis Drug Resistance Mutation Database. *PLoS Med*, 2009, Vol. 6, Issue 2, pp. 0132–0136. doi: 10.1371/journal.pmed.1000002.
61. Sinkov V. V., Kondratov I. G., Ogarkov O. V., Zhdanova S. N., Sokolnikova N. A., Khromova P. A., Orlova E. A., Rychkova L. V., Kolesnikova L. I. Online service with automated *M. tuberculosis* interpretation of sequencing data and prediction of Pyrazinamide resistance in *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 2023, Vol. 174, No. 5, pp. 623–627. doi: 10.1007/s10517-023-05758-6.