© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2016 УДК 579.873.21:579.25]-083

DOI 10.21292/2075-1230-2017-95-7-40-47

# МОДЕЛИРОВАНИЕ ЭПИДЕМИЧЕСКОГО PACПРОСТРАНЕНИЯ ГЕНОТИПА BEIJING MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS В РЕСПУБЛИКЕ CAXA (ЯКУТИЯ)

C. H. ЖДАНОВА $^{1},$  O. Б. ОГАРКОВ $^{1},$  M. K. ВИНОКУРОВА $^{3},$   $\Gamma.$  И. АЛЕКСЕЕВА $^{3},$  A.  $\Phi.$  КРАВЧЕНКО $^{3},$  E. Д. САВИЛОВ $^{1,2}$ 

<sup>1</sup>ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», г. Иркутск, Россия

<sup>2</sup>ГБО ДПО «Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования», г. Иркутск, Россия

<sup>3</sup>ГБУ РС (Я) НПЦ «Фтизиатрия», г. Якутск, Россия

**Цель:** реконструкция эпидемического распространения штаммов генотипа Beijing *Mycobacterium tuberculosis* на территории с ограниченными миграционными событиями на основе сравнительного изучения 153 изолятов, полученных от больных разных поколений из Республики Саха (Якутия).

**Материалы и методы.** Путем MIRU-VNTR-генотипирования, субтипирования по участкам генома RD105/RD207, классификации паттернов по клональным комплексам Merker M. et al. (2015) и филогенетического моделирования была описана и проанализирована структура популяции *Mycobacterium tuberculosis*.

**Результаты.** Показано, что высокотрансмиссивные субтипы генотипа Beijing, несущие высокий потенциал формирования антибиотикорезистентности, значимо чаще ( $\chi^2 = 8,3, p < 0.01$ ) встречаются у молодых (после 1990 года рождения), чем в старшем поколении (до 1959 года рождения). Определен сдвиг в структуре популяции возбудителя, который произошел во время предыдущих пяти десятилетий.

**Заключение.** Полученные данные подтверждают предположение более позднего заноса эпидемических субтипов генотипа Beijing (около пятидесяти лет назад) на территорию Республики Саха (Якутия) по сравнению с другими регионами России.

Ключевые слова: M. tuberculosis, MIRU-VNTR, эпидемические генотипы, Beijing

**Для цитирования:** Жданова С. Н., Огарков О. Б., Винокурова М. К., Алексеева Г. И., Кравченко А. Ф., Савилов Е. Д. Моделирование эпидемического распространения генотипа Beijing *Mycobacterium tuberculosis* в Республике Caxa (Якутия) // Туберкулёз и болезни лёгких. – 2017. – Т. 95, № 7. – С. 40-47. DOI: 10.21292/2075-1230-2017-95-7-40-47

# SIMULATION OF EPIDEMIC TRANSMISSION OF *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* IN THE SAKHA REPUBLIC (YUKUTIA)

S. N. ZHDANOVA', O. B. OGARKOV', M. K. VINOKUROVA', G. I. ALEKSEEVA', A. F. KRAVCHENKO', E. D. SAVILOV<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Research Center of Family Health and Reproduction Problems, Irkutsk, Russia

<sup>2</sup>Irkutsk State Medical Academy for Postgraduate Training, Irkutsk, Russia

<sup>3</sup>Scientific Practical Phthisiology Center, Yakutsk, Russia

**Goal:** reconstruction of epidemic transmission of Beijing genotype of *Mycobacterium tuberculosi*s on the territory with limited migration based on the comparative study of 153 isolates isolated from patients of different generations in the Sakha Republic (Yakutia).

**Materials and methods.** The structure of *Mycobacterium tuberculosis* population was described and analyzed through MIRU-VNTR-genotyping, subtyping of the parts of RD105/RD207 genome, pattern classification as per clonal pattern of Merker M. et al (2015), and phylogenetic simulation.

**Results.** It was found out that highly transmissive subtypes of Beijing genotype having a high potential of developing drug resistance was confidently more prevalent ( $\chi^2 = 8.3$ , p < 0.01) among younger people (born after 1990) compared to the older generation (born before 1959). It was also found out that during previous five decades a certain shift occurred in the structure of *M. tuberculosis* population.

**Conclusion.** The obtained data confirm the hypothesis that epidemic sybtypes of Beijing genotype were brought to the territory of the Sakha Republic (Yakutia) fairly recently (approximately fifty years ago) compared to the other regions of Russia.

Key words: M. tuberculosis, MIRU-VNTR, epidemic genotypes, Beijing

For citations: Zhdanova S.N., Ogarkov O.B., Vinokurova M.K., Alekseeva G.I., Kravchenko A.F., Savilov E.D. Simulation of epidemic transmission of *Mycobacterium tuberculosis* in the Sakha Republic (Yukutia). *Tuberculosis and Lung Diseases*, 2017, Vol. 95, no. 7, P. 40-47. (In Russ.) DOI: 10.21292/2075-1230-2017-95-7-40-47

Эпидемическое распространение штаммов пандемического генотипа Beijing Mycobacterium tuberculosis на территории России и стран СНГ делает необходимым поиск сценариев его возникновения в связи с проявлениями отдельных вариантов повышенной вирулентности и трансмиссивности [10, 12]. Ранее проведенные исследования позволили сформулировать концепцию о том, что

эпидемическое распространение штаммов пандемического генотипа Beijing на территории СССР произошло в XX в. Была предложена модель, предполагающая взрывообразное распространение штаммов этого генотипа после их заноса бывшими строителями КВЖД и членами их семей с территории Китая в систему ГУЛАГ и в дальнейшем в гражданское общество СССР [5]. Однако наиболее трансмис-

сивный субтип генотипа Beijing B0/W148 (СС2) [10] не мог попасть в страну в рамках предложенного сценария, поскольку не встречается в Китае [13]. Предполагается, что этот субтип возник на территории Сибири, а его первичное распространение произошло с волнами миграции населения в СССР в 60-80-е гг. ХХ в., после освоения целинных земель [12]. В то же время обнаружено значимо меньшее распространение штаммов генотипа Веіјіпд (включая субтип В0/W148) на территории Республики Саха (Якутии) [РС (Я)] [1].

В основу исследования положена гипотеза о том, что датировать время эпидемического распространения основных субтипов генотипа Веіјіпд на территории России можно путем сравнения популяционной структуры штаммов микобактерий туберкулеза (МБТ) в контрастных по возрасту группах больных туберкулезом (например, до 25 и после 55 лет). Спектр генотипов у пожилых людей в целом будет отражать генетическое разнообразие возбудителя туберкулеза, сформировавшегося на изучаемой территории полвека назад, в то время как штаммы, выделенные от молодых пациентов, будут соответствовать текущей эпидемической ситуации.

Цель исследования: изучение изменений в структуре популяции МБТ, циркулировавших на территории Якутии в предыдущие десятилетия, и прогноз дальнейших тенденций в этой области.

# Материалы и методы

Исследование одобрено этическим комитетом Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека». В анализ включена выборка из 153 эпидемически не связанных штаммов МБТ, то есть с отсутствием цепи передачи инфекции, установленным в ходе эпидемиологического расследования заболевания туберкулезом. Образцы собирали случайным образом, при этом отслеживали возможные родственные связи и совместное проживание. Критерием включения в выборку исследования образцов культур, полученных от больных из контрастных возрастных групп, было получение культурального подтверждения диагноза туберкулеза у пациента, подходящего по возрастным характеристикам. Таким образом, в анализ были включены все случаи бактериологически подтвержденного туберкулеза среди больных соответствующего возраста, проходивших стационарный курс лечения в НПЦ «Фтизиатрия» с января 2010 по 2014 г. Когорту молодых составляли 80 пациентов, родившихся с 1990 г., а группу пожилых – 73 человека, родившихся до 1959 г. включительно. В выборку вошли преимущественно впервые выявленные случаи туберкулеза как в группе молодых пациентов (64/73), так и пожилых больных (77/80). В обеих группах были случаи неоднократных (от одного до трех) эпизодов лечения туберкулеза (7/73 в когорте пожилых и 2/80 — молодых), а также рецидивов (2 пациента из группы до 1959 года рождения и 1 — после 1990 года рождения). Все случаи рецидивов и эпизодов повторного лечения анализировали персонифицированно, исходя из гипотезы исследования. Контрастные по возрасту группы значимо не отличались по национальной принадлежности. Штаммы выделены преимущественно от лиц якутской (83 штамма) и славянской (56 штаммов) национальностей. Большинство штаммов (92 образца) выделены от мужчин.

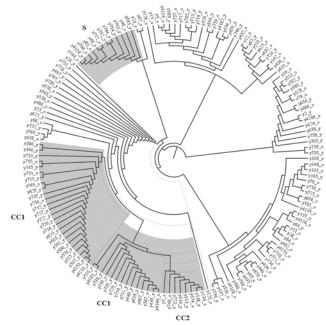
Экстракцию ДНК штаммов МБТ проводили из убитых культур, как описано ранее [15]. Перед выделением образцы центрифугировали, ДНК выделяли из осадка набором ДНК-сорб В (Интерлабсервис, Россия) согласно протоколу производителя. MIRU-VNTR-генотипирование проводили по протоколу сайта MIRUVNTRplus [11]. С помощью пакета филогенетических программ сайта осуществляли первичное определение генотипов МБТ. Для уточнения распространенности штаммов также использовали ресурс открытой БД SITVIT с установлением MIT – MIRU международного типа (MIRU international type) [17]. Генотипы семейства Beijing дополнительно субтипировали по участкам генома RD105/RD207, как описано ранее [2]. Профили штаммов, верифицированные как генотип Beijing вышеуказанными методами, по 24 локусам MIRU-VNTR сравнивали с базой данных, приведенной в статье Merker M. et al. [10]. В качестве референсных профилей генотипа Beijing использовали 1 550 уникальных MIRU-VNTR-паттернов, распределенных по семи клональным комплексам (clonal complexes – CCs) [10]. Уровень кластеризации (Clustering Rate) оценивали по формуле:  $CR = (n_c - c)/n$  [19], где  $n_c$  — общее количество кластеризованных штаммов, с - количество кластеров, n — общее количество штаммов. При этом кластером считали филогенетическую группу, состоящую из двух идентичных по 24 локусам штаммов или более. Для филогенетических построений профили 153 штаммов по 24 MIRU-VNTR-локусам с помощью программы MS Excel 2007 были перекодированы в бинарный формат и использованы для построения NJ-древа программами Ugene [16] и FigTree [14]. Статистическую обработку данных проводили в редакторе электронных таблиц MS Excel 2007 и пакете статистических программ Statistica для Windows (версия 6.0). Значимость различий между параметрами оценивали с помощью непараметрического критерия  $\chi^2$ , половозрастные различия в группах устанавливали с помощью критерия Манна – Уитни. Различия считали статистически значимыми при p < 0.05.

# Результаты

Исследованы ДНК 153 изолятов МБТ от больных туберкулезом легких. Всего по 24 локусам вы-

явлено 110 уникальных MIRU-VNTR-профилей, 99 из которых соответствовали единичным штаммам, остальные сформировали 11 кластеров, содержащих от 2 до 16 идентичных профилей (рис.). Средняя частота кластеризации (CR) составила 0,28. Среди молодых пациентов частота кластеризации (CR = 0,34) была выше ( $\chi^2$  = 8,3, p < 0,01), чем среди пожилых больных туберкулезом (CR = 0,11) (табл. 1). У пациентов с туберкулезом, вызванным кластеризующимися МБТ, значительно чаще обнаруживали штаммы, принадлежащие субтипам генотипа Beijing ( $\chi^2 = 30.1, p < 0.01$ ). Средняя частота кластеризации штаммов генотипа Beijing составила 0,53, а штаммов non-Beijing – 0,09. Внутри выборки штаммов генотипа Beijing среди молодых пациентов CR была выше (0.54), чем среди пожилых (0.28) $(\chi^2 = 3.1; p < 0.05)$ . Эти данные свидетельствуют о более «эффективной» передаче МБТ, принадлежащих генотипу Beijing, среди молодого населения PC(A). Это указывает также на то, что в последние десятилетия широкое распространение эпидемических штаммов генотипа Beijing могло привести к случаям суперинфекции у пожилых пациентов, у которых также были выявлены редкие случаи кластеризации профилей этого генотипа, а в одном случае – микст-инфекции туберкулеза.

В целом штаммы генотипа Beijing присутствовали только в 42,5% (65/153) случаев, что качественно отличает популяцию МБТ РС (Я) от других регионов России, где вышеуказанная генетическая линия занимает более выраженные доминирующие позиции [20]. Две трети выборки популяции МБТ представлены non-Beijing штаммами, собранными в пять крупных групп. Подробная информация о генетических данных всех штаммов приведена в табл. 1.



**Рис.** Филогенетическое NJ-древо штаммов из Республики Саха (Якутия), по данным MIRU-VNTR по 24 локусам. Серым отмечены высокоэпидемические группы CC1 и CC2 по M. Merker et al., 2015 и семейство S. Штаммы, выделенные от молодых пациентов, отмечены у (young), от пожилых о (old)

Fig. Phylogenetic NJ-tree of strains from Sakha Republic (Yakutiya) as per MIRU-VNTR data for 24 loci. High epidemic groups of CC1 and CC2 as per M. Merker et al., 2015, and S family are marked by gray. Strains isolated in young patients are marked as y (yound) and in old ones as o (old).

При анализе полученного распределения генотипов выявлен факт преобладания среди пожилых пациентов штаммов возбудителя генотипа Т, который присутствовал в трети анализируемых случаев

Таблица 1. Генотипы МБТ, выделенных от больных туберкулезом легких в РС (Я) (%)

Table 1. Genotypes of M. tuberculosis, isolated from pulmonary tuberculosis patients in the Sakha Republic (Yukutia) (%)

| Генотип (субтип)       | Доля изолятов<br>в общей выборке | Пациенты, рожденные до 1959 г., пожилые |         |                    |                                 |                           | Пациенты, рожденные с 1990 г., молодые |         |                    |                                 |                           |
|------------------------|----------------------------------|---|---------|--------------------|---------------------------------|---------------------------|--|---------|--------------------|---------------------------------|---------------------------|
|                        |                                  | Мужчины                                 | Женщины | Число<br>кластеров | Число<br>изолятов<br>в кластере | Число<br>штаммов<br>с МЛУ | Мужчины                                | Женщины | Число<br>кластеров | Число<br>изолятов<br>в кластере | Число<br>штаммов<br>с МЛУ |
| Beijing                | 42,5                             | 32,6                                    | 23,3    | 2                  | 3-5                             | 8                         | 58,4                                   | 50,1    | 3                  | 3-15                            | 6                         |
| (Beijing MIT16)        | 22,2                             | 7,0                                     | 6,7     | 1                  | 3                               | 0                         | 45,9                                   | 21,9    | 2                  | 9-15                            | 0                         |
| (Beijing MIT17)        | 7,9                              | 11,6                                    | 6,6     | 1                  | 5                               | 5                         | 6,3                                    | 6,3     | 1                  | 3                               | 2                         |
| Другие субтипы Beijing | 12,4                             | 14,0                                    | 10,0    | 0                  | 0                               | 3                         | 6,3                                    | 21,9    | 0                  | 0                               | 4                         |
| Т                      | 19,0                             | 27,9                                    | 36,7    | 1                  | 2                               | 2                         | 8,3                                    | 3,1     | 0                  | 0                               | 0                         |
| Ural                   | 6,5                              | 9,3                                     | 10,0    | 0                  | 0                               | 0                         | 6,3                                    | 0,0     | 1                  | 2                               | 0                         |
| LAM                    | 7,8                              | 4,7                                     | 13,3    | 0                  | 0                               | 0                         | 8,3                                    | 6,3     | 0                  | 0                               | 0                         |
| S                      | 9,8                              | 11,6                                    | 0,0     | 1                  | 2                               | 3                         | 6,3                                    | 21,9    | 2                  | 2-4                             | 8                         |
| Haarlem                | 6,5                              | 7,0                                     | 6,7     | 0                  | 0                               | 0                         | 4,2                                    | 9,4     | 0                  | 0                               | 0                         |
| Uganda                 | 3,9                              | 4,7                                     | 6,7     | 0                  | 0                               | 1                         | 2,1                                    | 3,1     | 0                  | 0                               | 1                         |
| Н                      | 3,3                              | 2,2                                     | 0,0     | 0                  | 0                               | 0                         | 6,3                                    | 3,1     | 0                  | 0                               | 0                         |
| H37Rv                  | 0,7                              | 0,0                                     | 3,3     | 0                  | 0                               | 0                         | 0,0                                    | 0,0     | 0                  | 0                               | 0                         |
| Общее количество       | 153                              | 43                                      | 30      | 4                  | 2-5                             | 14                        | 48                                     | 32      | 6                  | 2-15                            | 15                        |

туберкулеза (31,5% - 23/73), что было значительно выше, чем среди молодых пациентов ( $\chi^2 = 12,807$ ; p < 0.01). Если генотипическая структура МБТ молодых больных была наиболее близка картине, описываемой на других территориях России (доминирование генотипа Beijing достигает 55,0% случаев), то ситуация с пожилыми пациентами сходна с описываемым ретроспективно спектром в Северной Европе [8, 18]. Наличие кластеризующихся штаммов семейства Т у пожилых пациентов с туберкулезом может быть частично объяснено хорошо сохранившейся структурой штаммов якутской популяции. Эти результаты также означают, что передача МБТ различных сублиний может быть дифференцирована по времени заражения, что в свою очередь предполагает большую динамичность структуры популяции возбудителя туберкулеза, которая циркулирует сейчас в Якутии, чем ранее. Отсутствие эпидемии ВИЧ-инфекции и волнообразные, но ограниченные миграционные потоки в течение пятидесяти лет позволили сохранить во многом следы прежних экспансий возбудителя туберкулеза в Якутии.

Доля туберкулеза с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ) штаммов, в общей выборке составившая 19,0% (29/153), существенно не отличалась между штаммами Веіјіпд и поп-Веіјіпд в целом ( $\chi^2=0,491;$  P=0,483) (табл. 1). Тем не менее среди доминирующих субтипов штаммы Веіјіпд МІТ17 (СС2) преобладали по уровню МЛУ над Веіјіпд МІТ16 (СС1) ( $\chi^2=19,1;$  p<0,01), не отличаясь у молодых и пожилых больных туберкулезом

 $(\chi^2 = 0.947; P = 0.330)$ . При этом превалирующий субтип Beijing MIT16 не был связан с первичной МЛУ ни в одном наблюдаемом случае в PC (Я) из контрастных по возрасту групп больных, что качественно отличает их от структуры МБТ других регионов РФ [12].

Co штаммами Beijing MIT17 наиболее часто связывают не только активную трансмиссию МБТ, в том числе с первичной МЛУ, но и формирование резистентности в процессе лечения [12]. Эти факты были обнаружены и в настоящем исследовании. Все случаи туберкулеза с МЛУ возбудителя, вызванные штаммами Beijing MIT17, у молодых и пожилых пациентов были зарегистрированы у впервые выявленных больных туберкулезом. При этом частота встречаемости Beijing MIT17 не имела отличий среди пожилых и молодых пациентов ( $\chi^2 = 3.2; p < 0.01$ ), в том числе и при сравнении места их жительства. На этом фоне чувствительный к противотуберкулезным препаратам субтип Beijing MIT16 более часто встречался среди молодых больных туберкулезом, достигая значимого превышения среди жителей г. Якутска (табл. 2). Иная ситуация была при туберкулезе с МЛУ МБТ, вызванном штаммами Sи Т-семейства. Наблюдалось отсутствие различий частоты первичной и вторичной резистентности к противотуберкулезным препаратам первого ряда как для S-штаммов ( $\chi^2=0,331;$  P=0,564), так и для T-штаммов ( $\chi^2=0,105;$  P=0,746).

Классификация штаммов, составленная недавно M. Merker et al. [10], позволяет соотнести идентифицируемые по базе данных SITVIT профили

 $Taблица\ 2$ . Структура генотипов штаммов MБT, выделенных от больных туберкулезом из контрастных по возрасту групп, по месту жительства в PC (Я) (%)

Table 2. Structure of genotypes of *M. tuberculosis* strains isolated from tuberculosis patients belonging to the opposite age groups, as per their place of residence in the Sakha Republic (Yukutia) (%)

| Группы/генотип                 | Пациенты | , рожденные<br>пожилые | до 1959 г., | Пациенты | ы, рожденные<br>молодые | ес 1990 г., | Общая выборка |       |       |  |
|--------------------------------|----------|------------------------|-------------|----------|-------------------------|-------------|---------------|-------|-------|--|
|                                | Якутск   | Улусы                  | Всего       | Якутск   | Улусы                   | Всего       | Якутск        | Улусы | Всего |  |
| Beijing:                       | 32,6     | 22,2                   | 28,8        | 60,7     | 41,7                    | 55,0        | 48,0          | 31,4  | 42,5  |  |
| (Beijing MIT16)                | 6,5*     | 7,4                    | 6,8         | 37,5*    | 33,3                    | 36,3        | 23,5          | 19,6  | 22,2  |  |
| (Beijing MIT17)                | 13,0     | 3,7                    | 9,6         | 5,4      | 8,3                     | 6,3         | 8,8           | 5,9   | 7,8   |  |
| Другие субтипы Beijing         | 13,0     | 11,1                   | 12,3        | 17,9     | 0,0                     | 12,5        | 15,7          | 5,9   | 12,4  |  |
| Т                              | 37,0     | 22,2                   | 31,5        | 3,6      | 16,7                    | 7,5         | 18,6          | 19,6  | 19,0  |  |
| Ural                           | 4,3      | 18,5                   | 9,6         | 5,4      | 0,0                     | 3,8         | 4,9           | 9,8   | 6,5   |  |
| LAM                            | 6,5      | 11,1                   | 8,2         | 5,4      | 12,5                    | 7,5         | 5,9           | 11,8  | 7,8   |  |
| S                              | 6,5      | 7,4                    | 6,8         | 10,7     | 16,7                    | 12,5        | 8,8           | 11,8  | 9,8   |  |
| Haarlem                        | 8,7      | 3,7                    | 6,8         | 8,9      | 0,0                     | 6,3         | 8,8           | 2,0   | 6,5   |  |
| Uganda                         | 4,3      | 7,4                    | 5,5         | 1,8      | 4,2                     | 2,5         | 2,9           | 5,9   | 3,9   |  |
| Н                              | 0,0      | 3,7                    | 1,4         | 3,6      | 8,3                     | 5,0         | 2,0           | 5,9   | 3,3   |  |
| H37Rv                          | 0,0      | 3,7                    | 1,4         | 0,0      | 0,0                     | 0,0         | 0,0           | 2,0   | 0,7   |  |
| Всего                          | 46       | 27                     | 73          | 56       | 24                      | 80          | 102           | 51    | 153   |  |
| Количество штаммов с МЛУ, абс. | 8        | 5                      | 13          | 11       | 5                       | 16          | 19            | 10    | 29    |  |

*Примечание*: \* — у молодых больных туберкулезом из группы пациентов г. Якутска более часто, чем у пожилых, обнаруживали штаммы Beijing MIT 16 ( $\chi^2 = 5,7, p < 0,05$ )

генотипа Beijing по филогеографическому и историческому происхождению. На рис. представлена структура выборки изучаемых изолятов, в том числе 65 выявленных штаммов генотипа Beijing. Наиболее представительными оказались клональные комплексы CC1 (58,5% - 38/65) и CC2 (16,9% - 11/65), в которые вошли преимущественно определяемые по SITVIT Beijing MIT 16 и Beijing MIT 17 соответственно. При этом оказалось, что СС2 в основном образуют штаммы, полученные от пожилых пациентов из некоренного населения (славяне) и молодых больных коренной популяции (якуты). Статистически подтверждаемое вышеописанное изменение ( $\chi^2 = 4.7$ ; p < 0.05), а также критически высокие уровни МЛУ среди этих штаммов могут свидетельствовать в пользу заноса на территорию РС (Я) пришлым населением эпидемически опасных штаммов генотипа Beijing, начавших в настоящее время активную экспансию среди молодой популяции.

Анализ данных клонального комплекса CC1 – пандемического субтипа центрально-азиатского происхождения [10] – показал, что он распространен среди всех анализируемых групп, однако его преобладание среди молодых пациентов коренного и пришлого населения значительно выше, чем у пожилых больных туберкулезом ( $\chi^2 = 4.7, p < 0.05$ ). Этот факт, наряду с повышенными частотами CC1 у пожилых пришлых больных туберкулезом, по сравнению с коренными представителями нашей выборки дает основание предполагать также экзогенную природу возникновения и укоренения штаммов на территории PC (Я), однако имеющее более благоприятное развитие (отсутствие трансмиссии МЛУ вариантов МБТ).

Четверть штаммов генотипа Beijing (24,6%—15/65) составили изоляты, отнесенные к другим клональным комплексам, в том числе не имеющие аналогов в крупнейшей базе данных, приведенной в работе М. Merker et al. [10]. Следует отметить, что такие идентифицируемые по SITVIT профили, как Beijing MIT 16 и Beijing MIT 17, обнаруживались в единичных случаях и в ССЗ, и СС4 комплексах, что делает необходимым уточнение характеристики эпидемических вариантов МБТ, согласно не только SITVIT, но и клональным комплексам.

От пожилых больных туберкулезом якутов и славян в единичных случаях выявлены штаммы, принадлежащие BL7-комплексу, соответствующие древним атипичным вариантам генотипа Beijing [10]. Их присутствие, как и наличие уникальных профилей, может служить отражением волны односторонней внешней миграции в РС (Я), начавшейся в 30-е годы, приведшей к увеличению в 1959 г. доли населения славянской этнической группы до 44,2% по сравнению с 10,6% в 1926 г. [3].

Представленное исследование позволило выявить изменения, которые произошли в популяции штаммов МБТ во время предыдущих десятилетий.

Эти изменения выявлены при сравнении когорты штаммов, выделенных от пожилых больных туберкулезом (эти штаммы представляют структуру популяции, которая существовала более пяти десятилетий назад) и молодых больных туберкулезом (эти штаммы отражают ситуацию с распространенными в настоящее время штаммами). Четыре десятилетия активных миграционных событий, связанных с освоением северных территорий (40-80-е годы – приток пришлого населения и его отток в начале 1990-х) [3, 6], кардинально изменили как качественно, так и количественно существующую ранее структуру популяции МБТ в РС (Я). Снижение более чем в 3 раза внешнего миграционного оборота с середины 1990-х годов и преобладание (63%) внутрирегиональных передвижений населения [6] способствовали закреплению нового соотношения в популяции МБТ.

Низкий уровень частоты кластеризации изолятов от пожилых людей поддерживает концепцию, что большинство штаммов отражают случаи реактивации, а не результаты активной передачи возбудителя, и, таким образом, представляют прошлое эпидемического процесса на исследуемой территории. Время инфицирования этой группы больных, которое происходило в возрасте 2-10 лет [9], в основном приходится на послевоенный период, когда туберкулез имел наиболее широкое распространение в России в середине XX в.

Проявления географической специфики и градиентов эпидемических субтипов Веіјіпд в РС (Я) носят особый динамический характер. Так, субтип Веіјіпд МІТ17 (СС2), имеющий глобальное распространение, менее распространен, чем субтип Веіјіпд МІТ16 (СС1). Доминирующий в России и странах бывшего СССР субтип Веіјіпд МІТ16, ответственный, как и субтип Веіјіпд МІТ17, за случаи первичного туберкулеза с МЛУ, в рассматриваемой когорте молодых и пожилых пациентов был чувствителен ко всем противотуберкулезным препаратам.

Несмотря на значительное совпадение субтипов генотипа Beijing MIT16 и MIT17 по SITVIT с клональными комплексами СС1 и СС2 по классификации Merker et al. (2015), следует детально обсудить самый известный субтип МБТ B0/W148 (СС2). В представленной выборке изоляты СС2 комплекса имели одни из самых высоких уровней первичной МЛУ (45,5% - 5/11). Несмотря на «успешность» распространения СС2 и в РС (Я), наибольшую часть генотипа Beijing составили изначально чувствительные к антибиотикам штаммы, отнесенные к СС1. По всей видимости, относительно низкий уровень заболеваемости туберкулезом у прибывшего из других регионов населения по сравнению с аборигенами [3] позволил сохраниться следам прежних экспансий эпидемических генотипов возбудителя.

Предполагаем, что широкое распространение среди пожилых пациентов штаммов возбудителя

туберкулеза генотипа Т также отражает иное соотношение генотипов МБТ в начале — середине XX в. Широкая вариация Т-профилей дает представление о долговременности существования изолятов этого генетического семейства на изучаемой территории (как минимум в течение XX в.). Отсутствие значимых отличий среди пожилых пациентов прибывшего (37,8% — 14/37) и местного (25,5% — 9/36) населения может свидетельствовать о широкой распространенности штаммов генотипа Т не только в РС (Я), но и на территории СССР в начале XX в., аналогично странам Северной Европы [8, 18].

Кроме того, на территории РС (Я) обнаружена исторически и географически сформировавшаяся часть популяции МБТ, представленная штаммами генотипа S. В отличие от генотипа Т, изоляты только одного субтипа генотипа S – МІТ 256 получили пре-имущественное распространение (кластеризация профилей достигает 0,33), усугубляя эпидемическую ситуацию частыми случаями возникновения туберкулеза с МЛУ [20], также выявленную и в данном исследовании. О давности существования штаммов генотипа S можно судить по находкам древней ДНК МБТ [7]. Выявленные находки от-

ражают представителей генотипа S в популяции МБТ в XVII-XVIII вв. в Якутии в период после первых контактов местного населения со славянами. Анализ полученных данных и разных гипотез распространения генотипа Beijing в современной России и Сибири: средневековый занос с ордой Чингизхана [13] или более поздний – в середине XX в. [4], дает возможность предположить недавний (около пятидесяти лет назад) занос МБТ эпидемических субтипов генотипа Beijing на территорию Якутии по сравнению с другими регионами России. Модель распространения эпидемических штаммов МБТ в РС (Я), по всей видимости, будет во многом повторять эпидемические события, уже произошедшие в большинстве регионов России. На основании полученных данных можно прогнозировать эпидемическую экспансию B0/W148 клона генотипа Beijing (CC2, MIT17), который в процессе взросления популяции молодых будет теснить как уже имеющиеся эпидемические клоны (генотип S, субтип CC1 генотипа Beijing), так и штаммы МБТ, не имеющие клонального распространения.

Работа поддержана РФФИ (грант 15-04-00632 А)

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии у них конфликта интересов. **Conflict of Interests.** The authors state that they have no conflict of interests.

# ЛИТЕРАТУРА

- Жданова С. Н., Алексеева Г. И., Огарков О. Б., Кравченко А. Ф., Зоркальцева Е. Ю., Винокурова М. К., Савилов Е. Д. Сравнительный анализ генотипов Mycobacterium tuberculosis в Республике Саха (Якутия) и Иркутской области // Якутский медицинский журнал. – 2013. - № 1. - С. 68-71.
- Жданова С. Н., Огарков О. Б., Степаненко Л. А., Лац А. А., Синьков В. В., Унтанова Л. С., Алексеева Г. И., Савилов Е. Д. Применение делеционного анализа по RD105 для выявления генотипа Пекин Mycobacterium tuberculosis // Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра Сибирского отделения Российской академии медицинских наук. 2011. № 2. С. 194-197.
- Сивцева С. И. Население Якутии после войны: условия жизни и быта // Вестник СВФУ. – 2013. – Т.10. – С. 69-74.
- Синьков В. В., Савилов Е. Д., Огарков О. Б. Реконструкция эпидемической истории «пекинского» генотипа Mycobacterium tuberculosis в России и странах бывшего СССР по результатам сполиготипирования // Мол. генетика микробиол. вирусол. – 2011. – № 3. – С. 25-29.
- Синьков В. В., Савилов Е. Д., Огарков О. Б. Эпидемиология туберкулёза в России: молекулярные и исторические доказательства в пользу сценария распространения пекинского генотипа M. tuberculosis в XX в. // Туб. и болезни легких. - 2012. - № 3. - С. 057-062.
- Сукнёва С. А. Миграционные процессы в Республике Саха (Якутия) // Пространственная экономика. - 2008. - № 1. - С. 62-67.
- Dabernat H., Thèves C., Bouakaze C., Nikolaeva D., Keyser C., Mokrousov I., Géraut A., Duchesne S., Gérard P., Alexeev A. N., Crubézy E., Ludes B. Tuberculosis Epidemiology and Selection in an Autochthonous Siberian Population from the 16th-19th Century // PLoS ONE. - 2014. - Vol. 9, № 2: e89877. doi:10.1371/journal.pone.0089877.
- Groenheit R., Ghebremichael S., Pennhag A., Jonsson J., Hoffner S., Couvin D., Koivula T., Rastogi N., Källenius G. Mycobacterium tuberculosis strains potentially involved in the TB epidemic in Sweden a century ago // PLOS ONE. - 2012. - Vol. 77, № 10:e46848. DOI: 10.1371/journal.pone.0046848.
- Marais B. J., Gie R. P., Schaaf H. S., Hesseling A. C., Obihara C. C., Starke J. J., Enarson D. A., Donald P. R., Beyers N. The natural history of childhood intra-thoracic tuberculosis: a critical review of literature from the pre-chemotherapy era // Int. J. Tuberc. Lung Dis. - 2004. - Vol. 8, № 4. -P. 392-402.

#### REFERENCES

- Zhdanova S.N., Alekseeva G.I., Ogarkov O.B., Kravchenko A.F., Zorkaltseva E. Yu., Vinokurova M.K., Savilov E.D. Comparative analysis of Mycobacterium tuberculosis genotypes in the Sakha Republic (Yukutia) and Irkutsk Region. Yakutsky Meditsinsky Journal, 2013, no. 1, pp. 68-71. (In Russ.)
- Zhdanova S.N., Ogarkov O.B., Stepanenko L.A., Lats A.A., Sinkov V.V., Untanova L.S., Alekseeva G.I., Savilov E.D. Use of RD105 deletion analysis for detection of Beijing genotype of Mycobacterium tuberculosis. Byulleten' Vostochno-Sibirskogo Nauchnogo Tsentra Sibirskogo Otdeleniya Rossiyskoy Akademii Meditsinskikh Nauk, 2011, no. 2, pp. 194-197. (In Russ.)
- Sivtseva S.I. Population of Yukutia after the war: living conditions. Vestnik of SVFU, 2013, vol. 10, pp. 69-74. (In Russ.)
- Sinkov V.V., Savilov E.D., Ogarkov O.B. Reconstruction of epidemic history of Beijing genotype of *Mycobacterium tuberculosis* in Russia and countries of the former Soviet Union basing on spoligotyping results, *Mol. Genet. Microbiol. Virusol.*, 2011, no. 3, pp. 25-29. (In Russ.)
- Sinkov V.V., Savilov E.D., Ogarkov O.B. Epidemiology of tuberculosis in Russia: epidemiological and historical evidences of Beijing genotype of M. tuberculosis transmission in the XXth cent. *Tuberculosis and Lung Diseases*, 2012, no. 3, pp. 057-062. (In Russ.)
- Sukneva S.A. Migration in the Sakha Republic (Yakutia). Prostranstvennaya Ekonomika, 2008, no. 1, pp. 62-67. (In Russ.)
- Dabernat H., Thèves C., Bouakaze C., Nikolaeva D., Keyser C., Mokrousov I., Géraut A., Duchesne S., Gérard P., Alexeev A. N., Crubézy E., Ludes B. Tuberculosis Epidemiology and Selection in an Autochthonous Siberian Population from the 16th-19th Century. PLoS ONE, 2014, vol. 9, no. 2: e89877. doi:10.1371/journal.pone.0089877.
- Groenheit R., Ghebremichael S., Pennhag A., Jonsson J., Hoffner S., Couvin D., Koivula T., Rastogi N., Källenius G. Mycobacterium tuberculosis strains potentially involved in the TB epidemic in Sweden a century ago. PLoS ONE, 2012, vol. 77, no. 10:e46848. DOI: 10.1371/journal.pone.0046848.
- Marais B.J., Gie R.P., Schaaf H.S., Hesseling A.C., Obihara C.C., Starke J.J., Enarson D.A., Donald P.R., Beyers N. The natural history of childhood intra-thoracic tuberculosis: a critical review of literature from the pre-chemotherapy era. *Int. J. Tuberc. Lung Dis.*, 2004, vol. 8, no. 4, pp. 392-402.

- Merker M., Blin C., Mona S., Duforet-Frebourg N., Lecher S., Willery E., Blum M. G., Rüsch-Gerdes S., Mokrousov I., Aleksic E. et al. Evolutionary history and global spread of the *Mycobacterium tuberculosis* Beijing lineage // Nat Genet. - 2015. - Vol. 47, No. 3. - P. 242-249.
- 11. MIRU. URL: http://www.miru-vntrplus.org/MIRU/miruinfo.faces;jsessionid=89112F274226E781C7B0B0D9118FDD70
- Mokrousov I. Insights into the origin, emergence, and current spread of a successful Russian clone of Mycobacterium tuberculosis // Clin. Microbiol. Rev. - 2013. - Vol. 26, № 2. - P. 342-360.
- 13. Mokrousov I., Ly H. M., Otten T., Lan N. N., Vyshnevskyi B., Hoffner S., Narvskaya O. Origin and primary dispersal of the *Mycobacterium tuberculosis* Beijing genotype: clues from human phylogeography // Genome Res. 2005. Vol. 15, № 10. P. 1357-1364.
- Morariu V. I., Srinivasan B. V., Raykar V. C., Duraiswami R., Davis L. Automatic online tuning for fast Gaussian summation // Advances in Neural Information Processing Systems. - 2008. - Vol. 21. - P. 1113-1120.
- Ogarkov O., Mokrousov I., Sinkov V., Zhdanova S., Antipina S., Savilov E. «Lethal» combination of *Mycobacterium tuberculosis* Beijing genotype and human CD209 -336G allele in Russian male population // Infect. Genet. Evol. -2012. - Vol. 12, № 4. - P. 732-736.
- Okonechnikov K., Golosova O., Fursov M. The UGENE team. Unipro UGENE: a unified bioinformatics toolkit // Bioinformatics. - 2012. - Vol. 28. -P. 1166-1167.
- SITVIT. URL: http://www.pasteur-guadeloupe.fr:8081/SITVIT\_ ONLINE/query
- Smit P. W., Haanperä M., Rantala P., Couvin D., Lyytikäinen O., Rastogi N., Ruutu P., Soini H. Genotypic characterization and historical perspective of Mycobacterium tuberculosis among older and younger Finns, 2008-2011 // Clin. Microbiol. Infect. - 2014. - Vol. 20, № 11. - P. 1134-1139.
- Supply P., Allix C., Lesjean S., Cardoso-Oelemann M., Rüsch-Gerdes S., Willery E., Savine E., de Haas P., van Deutekom H., Roring S. et al. Proposal for standardization of optimized mycobacterial interspersed repetitive unit-variable-number tandem repeat typing of *Mycobacterium tuberculosis* // J. Clin. Microbiol. - 2006. - Vol. 44, № 12. - P. 4498-4510.
- Zhdanova S., Heysell S., Ogarkov O., Boyarinova G., Alexeeva G., Pholwat S., Zorkaltseva E., Houpt E., Savilov E. Primary multidrug-resistant Mycobacterium tuberculosis in 2 regions, Eastern Siberia, Russian Federation // Emerging infectious diseases. - 2013. - Vol. 19, № 10. - P. 1649-1652.

- Merker M., Blin C., Mona S., Duforet-Frebourg N., Lecher S., Willery E., Blum M.G., Rüsch-Gerdes S., Mokrousov I., Aleksic E. et al. Evolutionary history and global spread of the *Mycobacterium tuberculosis* Beijing lineage. *Nat. Genet.*, 2015, vol. 47, no. 3, pp. 242-249.
- MIRU. URL: http://www.miru-vntrplus.org/MIRU/miruinfo.faces;jsessionid= 89112F274226E781C7B0B0D9118FDD70
- Mokrousov I. Insights into the origin, emergence, and current spread of a successful Russian clone of Mycobacterium tuberculosis. Clin. Microbiol. Rev., 2013, vol. 26, no. 2, pp. 342-360.
- Mokrousov I., Ly H. M., Otten T., Lan N. N., Vyshnevskyi B., Hoffner S., Narvskaya O. Origin and primary dispersal of the *Mycobacterium tuberculosis* Beijing genotype: clues from human phylogeography. *Genome Res.*, 2005, vol. 15, no. 10, pp. 1357-1364.
- Morariu V.I., Srinivasan B.V., Raykar V.C., Duraiswami R., Davis L. Automatic online tuning for fast Gaussian summation. *Advances in Neural Information Processing Systems*, 2008, vol. 21, pp. 1113-1120.
- Ogarkov O., Mokrousov I., Sinkov V., Zhdanova S., Antipina S., Savilov E. «Lethal» combination of *Mycobacterium tuberculosis* Beijing genotype and human CD209 -336G allele in Russian male population. *Infect. Genet. Evol.*, 2012, vol. 12, no. 4, pp. 732-736.
- Okonechnikov K., Golosova O., Fursov M. The UGENE team. Unipro UGENE: a unified bioinformatics toolkit. *Bioinformatics*, 2012, vol. 28, pp. 1166-1167.
- 17. SITVIT. URL: http://www.pasteur-guadeloupe.fr:8081/SITVIT\_ONLINE/query
- Smit P.W., Haanperä M., Rantala P., Couvin D., Lyytikäinen O., Rastogi N., Ruutu P., Soini H. Genotypic characterization and historical perspective of Mycobacterium tuberculosis among older and younger Finns, 2008-2011. Clin. Microbiol. Infect., 2014, vol. 20, no. 11, pp. 1134-1139.
- Supply P., Allix C., Lesjean S., Cardoso-Oelemann M., Rüsch-Gerdes S., Willery E., Savine E., de Haas P., van Deutekom H., Roring S. et al. Proposal for standardization of optimized mycobacterial interspersed repetitive unit-variable-number tandem repeat typing of *Mycobacterium tuberculosis*. J. Clin. Microbiol., 2006, vol. 44, no. 12, pp. 4498-4510.
- Zhdanova S., Heysell S., Ogarkov O., Boyarinova G., Alexeeva G., Pholwat S., Zorkaltseva E., Houpt E., Savilov E. Primary multidrug-resistant Mycobacterium tuberculosis in 2 regions, Eastern Siberia, Russian Federation. Emerging Infectious Diseases, 2013, vol. 19, no. 10, pp. 1649-1652.

#### ДЛЯ КОРРЕСПОНДЕНЦИИ:

ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», 664003, г. Иркутск, ул. К. Маркса, д. 3.

# Жданова Светлана Николаевна

кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник.

Тел.: 8 (3952) 33-34-25. E-mail: svetnii@mail.ru

# Огарков Олег Борисович

доктор медицинских наук,

заведующий отделом эпидемиологии и микробиологии.

Тел.: 8 (3952) 33-34-25. E-mail: obogarkov@mail.ru

ГБУ РС (Я) НПЦ «Фтизиатрия», 677000, Республика Саха (Якутия), г. Якутск, ул. Петра Алексеева, д. 93.

# Винокурова Мария Константиновна

доктор медицинских наук, заместитель директора. Тел.: 8 (411) 239-03-30.

E-mail: mkvin61@mail.ru

# FOR CORRESPONDENCE:

Research Center of Family Health and Reproduction Problems, 3, Karla Marksa St., Irkutsk, 664003.

# Svetlana N. Zhdanova

Candidate of Medical Sciences, Senior Researcher.

Phone: +7 (3952) 33-34-25. E-mail: svetnii@mail.ru

# Oleg B. Ogarkov

Doctor of Medical Sciences,

Head of Epidemiology and Microbiology Department.

Phone: +7 (3952) 33-34-25. E-mail: obogarkov@mail.ru

Scientific Practical Phthisiology Center, 93, P. Alekseev St., Yakutsk, Sakha Republic (Yakutia), 677000

# Maria K. Vinokurova

Doctor of Medical Sciences, Deputy Director.

Phone: +7 (411) 239-03-30. E-mail: mkvin61@mail.ru

# Алексеева Галина Ивановна

доктор медицинских наук,

заведующая бактериологической лабораторией.

Тел.: 8 (411) 239-03-30. E-mail: agi\_nik@mail.ru

# Кравченко Александр Федорович

доктор медицинских наук, главный врач.

Тел.: 8 (411) 239-03-30. E-mail: alex220560@yandex.ru

# Савилов Евгений Дмитриевич

ГБО ДПО «Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования»,

доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник, заведующий кафедрой эпидемиологии и микробиологии.

664049, г. Иркутск, Микрорайон Юбилейный, д. 100, к. 4.

Тел.: 8 (3952) 33-34-25. E-mail: savilov47@gmail.com Galina I. Alekseeva

Doctor of Medical Sciences,

 $Head\ of\ Bacteriological\ Laboratory.$ 

Phone: +7 (411) 239-03-30. E-mail: agi\_nik@mail.ru

# Aleksandr F. Kravchenko

Doctor of Medical Sciences, Chief Doctor.

Phone: +7 (411) 239-03-30. E-mail: alex220560@yandex.ru

# Evgeny D. Savilov

Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Training,

Doctor of Medical Sciences, Professor,

Senior Researcher,

Head of Epidemiology and Microbiology Department.

Submitted as of 07.12.2016

Apt. 4, 100, Yubileyny R.D.,

Irkutsk, 664049

Phone: +7 (3952) 33-34-25. E-mail: savilov47@gmail.com

Поступила 07.12.2016