

ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ ТЕХНОЛОГИИ «ТБ-ТЕСТ» («БИОЧИП-ИМБ», РОССИЯ) В ДИАГНОСТИЧЕСКОМ АЛГОРИТМЕ

Д. В. ВАХРУШЕВА, Н. И. ЕРЕМЕЕВА, Т. В. УМПЕЛЕВА, К. В. БЕЛОУСОВА

Уральский НИИ фтизиопульмонологии Национального медицинского исследовательского центра фтизиопульмонологии и инфекционных заболеваний МЗ РФ, г. Екатеринбург, Россия

Проанализированы результаты включения технологии «ТБ-ТЕСТ» («БИОЧИП-ИМБ», Россия) в алгоритм исследования клинического материала для диагностики туберкулеза и определения лекарственной устойчивости возбудителя в Уральском НИИ фтизиопульмонологии. Использование данной тест-системы целесообразно при наличии не менее 102 клеток микобактерий туберкулеза (МБТ) в 1 мл диагностического материала и высоком уровне множественной лекарственной устойчивости возбудителей в регионе и позволяет за один тест в течение 2-4 дней выявить мутации, ассоциированные с устойчивостью МБТ к основным препаратам 1-го и 2-го рядов, а также провести внутривидовое типирование возбудителя, что необходимо в целях эпидемиологического мониторинга и установления случаев нозокомиальной суперинфекции.

Ключевые слова: *Mycobacterium tuberculosis*, алгоритм этиологической диагностики, «ТБ-ТЕСТ», лекарственная устойчивость

Для цитирования: Вахрушева Д. В., Еремеева Н. И., Умпелева Т. В., Белоусова К. В. Опыт применения технологии «ТБ-ТЕСТ» («БИОЧИП-ИМБ», Россия) в диагностическом алгоритме // Туберкулез и болезни лёгких. – 2017. – Т. 95, № 10. – С. 29-35. DOI: 10.21292/2075-1230-2017-95-10-29-35

EXPERIENCE OF USING TB-TEST TECHNOLOGY (BIOCHIP-IMB, RUSSIA) WITHIN THE DIAGNOSTIC PROCEDURE

D. V. VAKHRUSHEVA, N. I. EREMEEVA, T. V. UMPELEVA, K. V. BELOUSOVA

Ural Research Institute of Phthisiopulmonology, Yekaterinburg, Russia

The article analyzes the results of using TB-Test technology (Biochip-IMB, Russia) within the diagnostic procedure for testing clinical specimens with the purpose of tuberculosis diagnostics and drug susceptibility testing in Ural Research Institute of Phthisiopulmonology. The use of this test system is feasible if there are at least 102 cells of tuberculous mycobacteria in 1 ml of the specimen, and there is a high level of multiple drug resistance in the region; and within 2-4 days one test allows detecting mutations associated with resistance to main first and second line TB drugs and performing intraspecific typing of mycobacteria, which is needed for epidemiological monitoring and detection of cases with nosocomial superinfection.

Key words: *Mycobacterium tuberculosis*, etiological diagnostic procedure, TB-TEST, drug resistance

For citations: Vakhrusheva D. V., Eremeeva N. I., Umpeleva T. V., Belousova K. V. Experience of using TB-Test technology (Biochip-IMB, Russia) within the diagnostic procedure. *Tuberculosis and Lung Diseases*, 2017, Vol. 95, no. 10, P. 29-35. (In Russ.) DOI: 10.21292/2075-1230-2017-95-10-29-35

С 2014 г. в клиническую практику Уральского НИИ фтизиопульмонологии (УНИИФ) внедрены алгоритмы исследования диагностического материала, разработанные совместными усилиями клинических и лабораторных специалистов института [3, 6]. Опыт применения показал, что алгоритмы – это правила, которые требуют непрерывного анализа и совершенствования, так как появляются новые перспективные технологии и уточняются клинические потребности и возможности использования и интерпретации результатов лабораторных исследований.

Лаборатория микробиологии и ПЦР-диагностики УНИИФ, являясь центром передового опыта в сети супранациональных лабораторий по диагностике туберкулеза Всемирной организации здравоохранения, располагает всеми диагностическими технологиями, рекомендованными в настоящее время российскими нормативными документами, регламентирующими этиологическую диагностику туберкулеза. В первоначально разработанный

диагностический алгоритм включены все методы, разрешенные к применению в отечественной клинической практике к 2014 г. С 2015 г. на территории России зарегистрирован новый набор на основе биологических микрочипов «ТБ-ТЕСТ» («БИОЧИП-ИМБ», Россия), который имеет ряд преимуществ: данный тест позволяет за одно исследование получить большую информацию. В отличие от диагностических наборов предыдущего поколения (ТБ-Биочип-1, ТБ-Биочип-2), схема проведения «ТБ-ТЕСТ» включает одну мультиплексную ПЦР (вместо двух этапов ПЦР и 2 этапов электрофореза) с последующей гибридизацией ампликонов на биологическом микрочипе. «ТБ-ТЕСТ» содержит праймеры для существенно большего числа мутаций, ассоциированных с лекарственной устойчивостью (ЛУ) микобактерий туберкулеза (МБТ), по сравнению со всеми другими молекулярно-генетическими технологиями (119 мутаций в «ТБ-ТЕСТ», 46 – в Hain-test, 16 – в Амплитуб-МЛУ-РВ). При этом в одном тесте «ТБ-ТЕСТ» содержатся прай-

меры для выявления мутаций устойчивости как к первому, так и ко второму ряду противотуберкулезных препаратов, а также праймеры, позволяющие провести дифференциацию по принадлежности МБТ к различным генетическим линиям (Beijing, Beijing BO/W148, Haarlem, LAM и Ural) [1, 2, 4, 5, 7, 9, 10, 15, 18, 19]. Таким образом, данная тест-система позволяет получить за один тест такой объем информации, который требует нескольких постановок в других тест-системах. Кроме того, «ТБ-ТЕСТ» является полностью отечественной разработкой, следовательно, потребители в меньшей степени зависят от зарубежных поставщиков и колебаний курса валют.

Цель исследования: проанализировать результаты включения в диагностический алгоритм туберкулеза легких технологии «ТБ-ТЕСТ» («БИОЧИП-ИМБ», Россия).

Материалы и методы

Проанализированы результаты, полученные в лаборатории УНИИФ после включения технологии «ТБ-ТЕСТ» («БИОЧИП-ИМБ», Россия) (10 месяцев 2016/2017 г.) в диагностический алгоритм исследования клинического материала, а именно: какие пациенты обследованы, какой диагностический

материал, какова бактериальная нагрузка образцов, каковы сроки получения результатов, совпадение данных, полученных молекулярно-генетическими методами (МГМ), с результатами культурального исследования.

Помимо включения технологии «ТБ-ТЕСТ», в диагностическом алгоритме еще произвели замену исходного теста определения степени бактериальной нагрузки образца с микроскопии на «Амплитуб-РВ». Это объясняется прежде всего более высокой, по сравнению с микроскопией, диагностической чувствительностью и разрешающей способностью ПЦР-РВ: если для получения положительного результата микроскопии в 1 мл образца должно содержаться не менее 5 тыс. микробных клеток, то «Амплитуб-РВ» позволяет выявить ДНК *Mycobacterium tuberculosis* уже при наличии в 1 мл образца от 10 клеток микобактерий, причем одновременно с проведением групповой идентификации возбудителя, что невозможно при микроскопии. Усовершенствованный алгоритм исследования диагностического материала представлен на рис. 1.

Результаты

Основным условием, определяющим эффективность диагностического алгоритма исследования

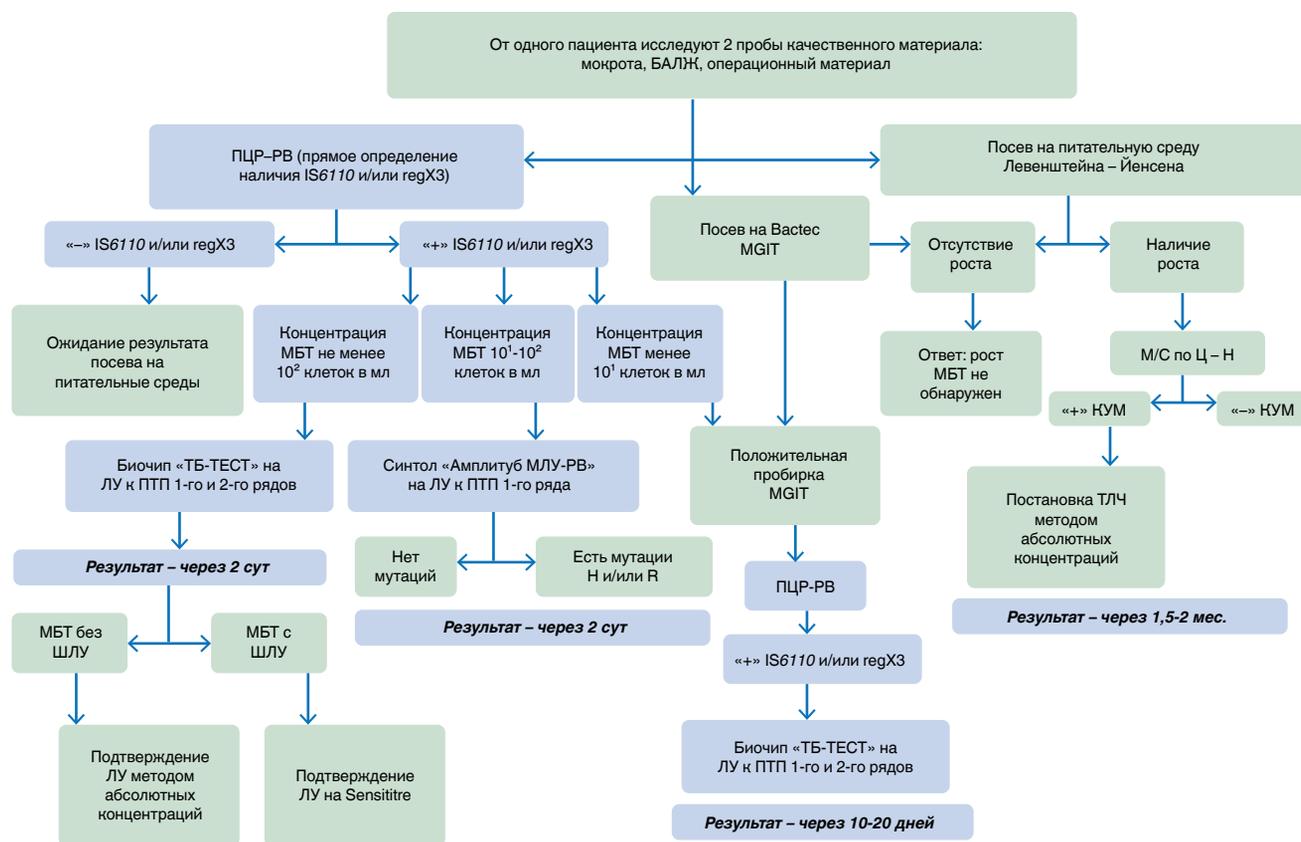


Рис. 1. Алгоритм исследования диагностического материала с целью диагностики туберкулеза и определения лекарственной устойчивости возбудителя, принятый в УНИИФ

Fig. 1. The procedure for specimens' testing with the purpose of tuberculosis diagnostics and drug susceptibility testing, accepted in the Ural Research Institute of Phthisiopulmonology

клинического материала, является его соответствие клиническим потребностям, т. е. особенностям обследуемых пациентов, и организации лечебного процесса. Особенность пациентов клиники УНИИФ заключается в том, что в подавляющем большинстве у них имеются сложности постановки диагноза или это ранее неэффективно леченные больные с множественной/широкой лекарственной устойчивостью (МЛУ/ШЛУ) возбудителя и т. д. Для постановки диагноза пациентов госпитализируют в дифференциально-диагностическое отделение. Для них характерны отсутствие или скудное выделение мокроты, отсутствие или небольшое количество МБТ в диагностическом материале. Из этого отделения за 10 мес. исследован диагностический материал 655 пациентов, в 78,9% это была мокрота (рис. 2). Положительные результаты метода ПЦР-РВ составили 20,2%, при этом только в 2,3% случаев бактериальная нагрузка образцов была достаточной для прямого выявления в диагностическом материале мутаций, обуславливающих ЛУ МБТ, МГМ (10 образцов «Амплитуб-МЛУ-РВ» и 5 образцов – «ТБ-ТЕСТ»).



Рис. 2. Виды диагностического материала, поступившего в лабораторию из отделения дифференциальной диагностики, %

Fig. 2. Type of diagnostic specimens, sent to the laboratory from the differential diagnostics department, %

Таким образом, для пациентов этого отделения основным методом, используемым для диагностики туберкулеза, должен быть метод ПЦР-РВ для определения уровня бактериальной нагрузки образца с одновременным посевом осадка диагностического материала на жидкую и плотную питательные среды для получения культуры МБТ. Использование жидкой питательной среды в данном случае необходимо в связи с тем, что в большинстве исследуемых образцов уровень бактериальной нагрузки не позволит провести прямое выявление мутаций устойчивости МГМ, и для таких пациентов сокращение времени получения результата является критичным для постановки диагноза. В случае получения культуры ее целесообразно исследовать

методом биочипов («ТБ-ТЕСТ») на наличие мутаций устойчивости к препаратам 1-го и 2-го рядов. Результаты определения ЛУ культуры необходимо подтвердить культуральным методом [11, 12, 13], и в данном случае может быть использован метод абсолютных концентраций как наименее затратный.

Для пациентов дифференциально-диагностического отделения исключительно актуальной является проблема информативности диагностического материала – для них необходимо более широкое применение эндоскопических методов, когда диагностический материал забирается непосредственно из очага поражения, и в лабораторию поступают не мокрота и «промывные воды бронхов», а бронхоальвеолярный лаваж, получаемый с использованием стерильных экстракторов.

Основным диагностическим материалом из терапевтических отделений, куда поступают пациенты с установленным диагнозом туберкулеза, также являлась мокрота (в 79,8% случаев), но доля ПЦР-положительных и высоконагруженных образцов (т. е. содержащих более 102 клеток в 1 мл) была выше (54 и 17% соответственно), что позволило для этих пациентов в течение 1-2 дней с использованием технологии «ТБ-ТЕСТ» определить ЛУ возбудителя к препаратам 1-го и 2-го рядов. При обследовании пациентов этих отделений перед лабораторией стояли разные задачи: для ряда пациентов с установленным диагнозом туберкулеза необходимо было определить ЛУ возбудителя для назначения режима химиотерапии, и материал от этих пациентов исследовался по алгоритму диагностики, представленному на рис. 1. Но в большинстве случаев исследование материала проводилось для контроля эффективности проводимой химиотерапии, и в этом случае алгоритм исследования был другим (рис. 3) и не включал проведение МГМ. При клинической потребности (отсутствие положительной клиничко-рентгенологической динамики, сохранение/появление бактериовыделения по окончании интенсивной фазы химиотерапии) материал может быть повторно исследован по диагностическому алгоритму для уточнения ЛУ и генетической принадлежности возбудителя, в том числе для исключения факта нозокомиальной суперинфекции. В этом случае необходимо сравнить сведения о принадлежности возбудителя к тому или иному генетическому кластеру, полученные при первой (до начала химиотерапии) и повторной постановке «ТБ-ТЕСТ».

Наибольший процент образцов, бактериальная нагрузка которых позволила применить технологию «ТБ-ТЕСТ» для исследования непосредственно диагностического материала, получен из хирургических отделений, откуда поступал резекционный материал от пациентов, прооперированных по поводу туберкулеза легких и туберкулеза внелегочной локализации (91,2 и 68,9% ПЦР-положительных образцов соответственно). Это позволило предоставить клиницистам своевременные данные о ЛУ



* *Примечание:* существует возможность исследования ЛЧ ускоренными методами через 2 месяца от начала лечения (при продлении интенсивной фазы химиотерапии, при отсутствии положительной клинико-рентгенологической динамики)

Рис. 3. Алгоритм исследования диагностического материала с целью контроля результативности химиотерапии

Fig. 3. Procedure for specimens' testing with the purpose for treatment efficiency monitoring

возбудителя для назначения послеоперационного режима химиотерапии, что особенно важно для пациентов, у которых эти данные не удалось получить на дооперационном этапе.

В соответствии с требованиями [11-13] для всех образцов, у которых была получена культура микобактерий, провели тест на лекарственную чувствительность культуральным методом абсолютных концентраций. При сравнении результатов молекулярно-генетического («ТБ-ТЕСТ») и культурального (метода абсолютных концентраций) определения ЛУ МБТ получены следующие результаты (табл. 1).

Наилучшее совпадение отмечалось для изониазида и рифампицина. В трех образцах выявлены мутации I335V и S315G, обуславливающие устойчивость к изониазиду, которые не определяются набором «Амплитуб-МЛУ-РВ». У семи образцов выявлены мутации (A90G, D500N, N538T, R485C, S486F), обуславливающие устойчивость к фторхинолонам, определение которых не заложено в новую версию тест-системы GenoType MTBDRsl v 2.0.

Полученные результаты по устойчивости/чувствительности МБТ к этамбутолу, так же как и данные, приведенные в [14, 17], показывают, что мутации выявлялись как у устойчивых, так и у чувствительных (по данным метода абсолютных концентраций) к этамбутолу изолятов (табл. 2). Эти

Таблица 1. Результаты определения ЛУ МБТ методами абсолютных концентраций и «ТБ-ТЕСТ» (R – рифампицин, H – изониазид, Fq – фторхинолоны, Km – канамицин, Cap – капреомицин, E – этамбутол; y – устойчивость, ч – чувствительность)

Table 1. Results of DST by absolute concentrations and TB-TEST (R – rifampicin, H – isoniazid, Fq – fluoroquinolones, Km – kanamycin, Cap – capreomicin, E – ethambutol; y – resistant, ч – susceptible)

| | | Результаты «ТБ-ТЕСТ» | | | | | | | | | | | |
|---|------|----------------------|----|----|----|-----|-----|-----|-----|------|------|----|----|
| | | Ry | Rч | Hу | Hч | Fqy | Fqч | Kmy | Kтч | Capу | Capч | Ey | Eч |
| Результаты метода абсолютных концентраций | Ry | 42 | 1 | | | | | | | | | | |
| | Rч | 1 | 3 | | | | | | | | | | |
| | Hу | | | 44 | 0 | | | | | | | | |
| | Hч | | | 1 | 2 | | | | | | | | |
| | Fqy | | | | | 28 | 3 | | | | | | |
| | Fqч | | | | | 7 | 9 | | | | | | |
| | Kmy | | | | | | | 22 | 1 | | | | |
| | Kтч | | | | | | | 5 | 19 | | | | |
| | Capу | | | | | | | | | 8 | 6 | | |
| | Capч | | | | | | | | | 3 | 30 | | |
| | Ey | | | | | | | | | | | 20 | 3 |
| | Eч | | | | | | | | | | | 17 | 7 |

Примечание: красным шрифтом отмечено несовпадение результатов

Таблица 2. Типы мутаций, выявленных в ДНК *Mycobacterium tuberculosis* с разной чувствительностью к этамбутолу, определенной методом абсолютных концентраций

Table 2. Types of mutations detected in *Mycobacterium tuberculosis* DNA with different susceptibility to ethambutol, tested by absolute concentrations

| Тип мутации в гене <i>embB</i> | Количество образцов, для которых получен результат «ТБ-ТЕСТ» | Количество образцов, для которых получена культура | Метод абсолютных концентраций, количество устойчивых/чувствительных изолятов |
|--------------------------------|--|--|--|
| D354A | 7 | 3 | 0/3 |
| G406A | 4 | 1 | 0/1 |
| G406D | 5 | 0 | – |
| M306I1 | 6 | 2 | 0/2 |
| M306I2 | 1 | 0 | – |
| M306I2 mix | 1 | 1 | 1/0 |
| M306V | 66 | 18 | 12/6 |
| N296H | 1 | 0 | – |
| Q497K | 9 | 1 | 1/0 |
| Q497R | 28 | 11 | 6/5 |
| wt | 74 | 10 | 3/7 |

данные соответствуют заявленной разработчиками теста диагностической чувствительности по этамбутолу, составляющей 60%.

Подробный анализ возможных причин расхождений результатов культурального метода и «ТБ-ТЕСТ» приведен в работе Е. Ю. Носовой и

др. [8]. Авторы отмечают, что результаты метода микроразведений, например теста Sensititre MycoTB Plate, для определения уровня устойчивости лучше коррелируют с выявленными мутациями в *embB* по сравнению с традиционными культуральными методами, а вопрос об истинной фенотипической устойчивости к этамбутолу (значении критической концентрации) до сих пор открыт, поэтому идентификация мутации в гене *embB* не может являться основанием для исключения данного препарата из схемы лечения [16].

Распределение изолятов по степени ЛУ было следующим: 75,5% имели МЛУ, а 15,3% – ШЛУ; по принадлежности к генетическим кластерам: Beijing – 40,1%; Beijing B0 – 45%; Haarlem – 0,5%; LAM – 3,9%; Ural – 4,5%; генотип не определен – 6%.

Заключение

При составлении алгоритмов исследования диагностического материала и плана закупок диагностических тест-систем для лабораторных исследований необходимо прежде всего исходить из особенностей контингента и задач обследования пациентов. Для отделений, пациенты которых обследуются для постановки диагноза и/или назначения режима химиотерапии, в качестве начального теста целесообразно использование технологии ПЦР-РВ для установления уровня бактериальной нагрузки образца. Параллельно из этой же порции диагностического материала производится посев на одну плотную и одну жидкую среду Bactec MGIT. При наличии в 1 мл исследуемого образца по данным ПЦР-РВ более 10^2 клеток МБТ, при высоком

уровне МЛУ МБТ в регионе целесообразно прямое исследование образца с применением технологии «ТБ-ТЕСТ» («БИОЧИП-ИМБ», Россия) для выявления мутаций ЛУ возбудителя к препаратам 1-го и 2-го рядов и определения его принадлежности к тому или иному генетическому кластеру, результаты по ЛУ затем должны быть подтверждены методом абсолютных концентраций. Для большинства препаратов данные обоих методов совпадают, исключение составляет этамбутол, идентификация мутации в гене *embB* не может являться основанием для исключения данного препарата из схемы лечения. При использовании такого алгоритма стоимость реактивов и расходных материалов при определении ЛУ возбудителя к препаратам 1-го и 2-го рядов составит около 5 тыс. руб., срок получения данных – 2-3 сут с момента доставки материала в лабораторию, срок культурального подтверждения спектра ЛУ – 30-40 дней с момента поступления материала в лабораторию.

Для пациентов, у которых наблюдается скудное бактериовыделение, «ТБ-ТЕСТ» применяют после получения культуры на жидкой питательной среде, в этом случае стоимость реактивов и расходных материалов при определении ЛУ возбудителя к препаратам 1-го и 2-го рядов составит около 6 тыс. руб., срок получения данных – 8-14 дней с момента доставки материала в лабораторию, срок культурального подтверждения спектра ЛУ – 30-40 дней с момента поступления материала в лабораторию.

Приведенные в работе данные могут служить ориентиром при построении алгоритмов исследования и расчете потребности в расходных материалах в лабораториях противотуберкулезных учреждений.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии у них конфликта интересов.

Conflict of Interests. The authors state that they have no conflict of interests.

ЛИТЕРАТУРА

1. Беспятых Ю. А., Зименков Д. В., Кулагина Е. В. и др. Определение лекарственной устойчивости и генотипирование клинических штаммов *Mycobacterium tuberculosis* при помощи экспериментального набора «ТБ-ТЕСТ» // Пульмонология. – 2013. – № 4. – С. 77-81.
2. Бобровская К. В., Камаев Е. Ю., Кравченко М. А., Вахрушева Д. В. Определение лекарственной устойчивости *M. tuberculosis* к рифампицину и изониазиду методом абсолютных концентраций и анализ мутаций на биологических микрочипах // Омский научный вестник. – № 1 (84). – 2009. – С. 9-13.
3. Вахрушева Д. В., Голубев Д. Н. Схема бактериологического обследования пациентов, поступающих в приемно-диагностическое отделение УНИИФ. Патент на промышленный образец № 82725 от 16.08.2012 г.
4. Зименков Д. В., Кулагина Е. В., Антонова О. В. и др. Анализ генетических детерминант множественной и широкой лекарственной устойчивости возбудителя туберкулеза с использованием олигонуклеотидного микрочипа // Молекулярная биология. – 2014. – Т. 48, № 2. – С. 1-14.
5. Исакова Ж. Т., Совхозова Н. А., Гончарова З. К., Алдашев А. А. Сравнительный анализ определения лекарственно-устойчивых штаммов *M. tuberculosis* бактериологическим методом абсолютных концентраций и методом биологических микрочипов // Туб. и болезни легких. – 2011. – № 3. – С. 57-59.
6. Кравченко М. А., Еремеева Н. И., Камаев Е. Ю. и др. Схема «Набор странитс алгоритма этиологической диагностики туберкулеза и контроля химиотерапии». Патент на промышленный образец № 89414 от 16.07.2014 г.

REFERENCES

1. Bespyatykh Yu.A., Zimenkov D.V., Kulagina E.V. et al. Drug susceptibility testing and genotyping of clinical strains of *Mycobacterium tuberculosis* using the experimental toolkit of TB-TEST. *Pulmonologiya*, 2013, no. 4, pp. 77-81. (In Russ.)
2. Bobrovskaya K.V., Kamaev E.Yu., Kravchenko M.A., Vakhrusheva D.V. Testing drug susceptibility of *M.tuberculosis* to rifampicin and isoniazid by absolute concentrations and analysis of mutations using biological microchips. *Omskiy Nauchny Vestnik*, no. 1 (84), 2009, pp. 9-13. (In Russ.)
3. Vakhrusheva D.V., Golubev D.N. *Skhema bakteriologicheskogo obsledovaniya patsientov, postupayuschikh v priemno-dagnosticheskoe otdelenie UNIIF*. [Bacteriological testing scheme of the patients admitted to the admission diagnostic department of Ural Research Institute of Phthiopulmonology]. RF Patent no. 82725 as of 16.08.2012.
4. Analysis of genetic determinants of multiple and extensive drug resistance of tuberculous mycobacteria using oligonucleotide microchip. *Molekulyarnaya Biologiya*, 2014, vol. 48, no. 2, pp. 1-14. (In Russ.)
5. Isakova Zh.T., Sovkhovova N.A., Goncharova Z.K., Aldashev A.A. Comparative analysis of DST by absolute concentrations and biological microchips. *Tuberculosis and Lung Diseases*, 2011, no. 3, pp. 57-59. (In Russ.)
6. Kravchenko M.A., Eremeeva N.I., Kamaev E.Yu. et al. *Skhema «Nabor stranits algoritma etiologicheskoy diagnostiki tuberkuleza i kontrolya khimioterapii»*. [Scheme on the set of pages for the procedure of etiological diagnostics of tuberculosis and treatment monitoring]. RF Patent no. 89414 as of 16.07.2014.

7. Носова Е. Ю., Краснова М. А., Галкина К. Ю. Сравнительная оценка эффективности молекулярных тест-систем "ТБ-биочип", "Xpert MTB/Rif" и "Genotype MTBDRplus" для быстрого определения мутаций, ответственных за лекарственную устойчивость *Mycobacterium tuberculosis* complex (в респираторном материале пациентов московского региона) // Молекулярная биология. - 2013. - Т. 47, № 2. - С. 267.
8. Носова Е. Ю., Хахалина А. А., Исакова А. И. и др. Одновременное определение генетических детерминант широкой лекарственной устойчивости и генотипирование *M. tuberculosis* с помощью гибридного анализа на биочипах // Туберкулез и социально-значимые заболевания. - 2016. - № 2. - С. 24-33.
9. Павлова М. В., Сапожникова Н. В., Журавлев В. Ю. и др. Ускоренная диагностика множественной лекарственной устойчивости МБТ на основе тест-системы «ТБ-биочип» // Туб. и болезни легких. - 2011. - Т. 88, № 5. - С. 93.
10. Умпелева Т. В., Кравченко М. А., Еремеева Н. И., Вязовая А. А., Нарвская О. В. Молекулярно-генетическая характеристика штаммов *Mycobacterium tuberculosis*, циркулирующих на территории Уральского региона России // Инфекция и иммунитет. - 2013. - Т. 3, № 1. - П. 21-28.
11. Федеральные клинические рекомендации по диагностике и лечению туберкулеза органов дыхания. - М.-Тверь: Триада, 2014. - 56 с.
12. Федеральные клинические рекомендации по диагностике и лечению туберкулеза органов дыхания с множественной и широкой лекарственной устойчивостью возбудителя. - М.-Тверь: Триада, 2014. - 72 с.
13. Федеральные клинические рекомендации по организации и проведению микробиологической и молекулярно-генетической диагностики туберкулеза. - М., 2015. - 35 с.
14. BakuBa Z., Napiorkowska A., Bielecki J. et al. Mutations in the embB gene and their association with ethambutol resistance in multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* clinical isolates from Poland // *BioMed. Res. Intern.* - 2013. - Vol. 167954. - P. 5.
15. Bespyatykh J. A., Zimenkov D. V., Shitikov E. A. et al. Spoligotyping of *Mycobacterium tuberculosis* complex isolates using hydrogel oligonucleotide microarrays // *Infection Genetics and Evolution.* - 2014. - Vol. 26. - P. 41-46.
16. Nosova E. Y., Zimenkov D. V., Khakhalina A. A. et al. A comparison of the Sensititre MycoTB Plate, the Bactec MGIT 960, and microarray-based molecular assay for the detection of drug resistance in clinical *Mycobacterium tuberculosis* isolates in Moscow, Russia // *PLOS ONE*[DOI:10.1371/journal.pone.0167093].
17. Plinke C., Rusch-Gerdes S., Niemann S. Significance of mutations in embB Codon 306 for prediction of ethambutol resistance in clinical *Mycobacterium tuberculosis* isolates // *Antimicrobial Agents and Chemotherapy.* - 2006. Vol. 50, № 5. - P. 1900-1902.
18. Zimenkov D. V., Antonova O. V., Kuz'min A. V. et al. Detection of second-line drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis* using oligonucleotide microarrays // *BMC Infectious diseases.* - 2013. - № 13. - P. 240.
19. Zimenkov D. V., Kulagina E. V., Antonova O. V. et al. Evaluation of a low-density hydrogel microarray technique for *Mycobacterium tuberculosis* species identification // *J. Clinical Microbiology.* - 2015. - Vol. 53, № 4. - P. 1103-1114.
7. Nosova E.Yu., Krasnova M.A., Galkina K.Yu. Comparative efficiency of molecular test systems of TB-Biochip, Xpert MTB/Rif and Genotype MTBDRplus for rapid detection of mutations accounting for drug resistance of *Mycobacterium tuberculosis* complex (in specimens collected from the respiratory tract of the patients residing in Moscow Region). *Molekulyarnaya Biologiya*, 2013, vol. 47, no. 2, pp. 267. (In Russ.)
8. Nosova E.Yu., Khakhalina A.A., Isakova A.I. et al. Simultaneous testing of genetic determinants of extensive drug resistance and genotyping of *M. tuberculosis* with hybrid biochip analysis. *Tuberkulez i Sotsialno-Znachimye Zabolevaniya*, 2016, no. 2, pp. 24-33. (In Russ.)
9. Pavlova M.V., Sapozhnikova N.V., Zhuravlev V.Yu. et al. Express diagnostics of multiple drug resistance of *Mycobacterium tuberculosis* based on the TB-Biochip test system. *Tuberculosis and Lung Diseases*, 2011, vol. 88, no. 5, pp. 93. (In Russ.)
10. Umpeleva T.V., Kravchenko M.A., Eremeeva N.I., Vyazovaya A.A., Narvskaya O.V. Molecular genetic characteristics of *Mycobacterium tuberculosis* strains, circulating in Ural Region of Russia. *Infektsiya and Immunitet*, 2013, vol. 3, no. 1, pp. 21-28. (In Russ.)
11. *Federalnye klinicheskie rekomendatsii po diagnostike i lecheniyu tuberkuleza organov dykhaniya*. [Federal recommendations for diagnostics and treatment of respiratory tuberculosis in children]. Moscow, Tver, Triada Publ., 2014. 56 p.
12. Federal clinical recommendations for diagnosis and treatment of respiratory tuberculosis with multiple and extensive drug resistance. Moscow, Tver, Triada Publ., 2014. 72 p.
13. *Federal'nye klinicheskie rekomendatsii po organizatsii i provedeniyu mikrobiologicheskoy i molekulyarno-geneticheskoy diagnostiki tuberkuleza*. [Federal clinical recommendations in organisation and implementation of microbiological and molecular-genetic diagnostics of tuberculosis]. Moscow, 2015. 35 p.
14. BakuBa Z., Napiorkowska A., Bielecki J. et al. Mutations in the embB gene and their association with ethambutol resistance in multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* clinical isolates from Poland. *Biomed. Res. Intern.*, 2013, vol. 167954, pp. 5.
15. Bespyatykh J.A., Zimenkov D.V., Shitikov E.A. et al. Spoligotyping of *Mycobacterium tuberculosis* complex isolates using hydrogel oligonucleotide microarrays. *Infection, Genetics and Evolution*, 2014, vol. 26, pp. 41-46.
16. Nosova E.Y., Zimenkov D.V., Khakhalina A.A. et al. A comparison of the Sensititre MycoTB Plate, the Bactec MGIT 960, and microarray-based molecular assay for the detection of drug resistance in clinical *Mycobacterium tuberculosis* isolates in Moscow, Russia. *PLOS ONE*[DOI:10.1371/journal.pone.0167093].
17. Plinke C., Rusch-Gerdes S., Niemann S. Significance of mutations in embB Codon 306 for prediction of ethambutol resistance in clinical *Mycobacterium tuberculosis* isolates. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2006, vol. 50, no. 5, pp. 1900-1902.
18. Zimenkov D.V., Antonova O.V., Kuz'min A.V. et al. Detection of second-line drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis* using oligonucleotide microarrays. *BMC Infectious Diseases*, 2013, no. 13, pp. 240.
19. Zimenkov D.V., Kulagina E.V., Antonova O.V. et al. Evaluation of a low-density hydrogel microarray technique for *Mycobacterium tuberculosis* species identification. *J. Clinical Microbiology*, 2015, vol. 53, no. 4, pp. 1103-1114.

ДЛЯ КОРРЕСПОНДЕНЦИИ:

Уральский НИИ фтизиопульмонологии Национального
 медицинского исследовательского центра
 фтизиопульмонологии и инфекционных заболеваний МЗ РФ,
 620039, г. Екатеринбург, 22-го Партсъезда, д. 50.
 Тел.: 8 (343) 333-44-66.

Вахрушева Диана Владимировна

кандидат биологических наук, ученый секретарь,
 руководитель референс-лаборатории по этиологической
 диагностике туберкулеза и микобактериозов.
 Тел.: 8 (343) 333-44-59.
 E-mail: vakhrusheva@urniif.ru

FOR CORRESPONDENCE:

Ural Research Institute
 of Phthiopulmonology,
 50, XXII Parts"ezda St.,
 Yekaterinburg, 620039.
 Phone: +7 (343) 333-44-66.

Diana V. Vakhrusheva

Candidate of Biological Sciences, Academic Secretary,
 Head of Reference Laboratory for Etiological Diagnostics
 of Tuberculosis and Mycobacteriosis.
 Phone: +7 (343) 333-44-59.
 E-mail: vakhrusheva@urniif.ru

Еремеева Наталья Ивановна

кандидат биологических наук,
заведующая лабораторией микробиологии
и ПЦР-диагностики.
E-mail: eremeevani@yandex.ru

Умпелева Татьяна Валерьевна

кандидат биологических наук,
старший научный сотрудник.
E-mail: tumpeleva@ya.ru

Белюсова Ксения Валерьевна

кандидат биологических наук,
старший научный сотрудник.
E-mail: kbobrovskaya@mail.ru

Natalya I. Eremeeva

Candidate of Biological Sciences,
Head of Microbiology
and PCR Diagnostics Laboratory.
E-mail: eremeevani@yandex.ru

Tatiana V. Umpeleva

Candidate of Biological Sciences,
Senior Researcher.
E-mail: tumpeleva@ya.ru

Ksenia V. Belousova

Candidate of Biological Sciences,
Senior Researcher.
E-mail: kbobrovskaya@mail.ru

Поступила 19.04.2017

Submitted as of 19.04.2017