



Возможности современных методов тестирования устойчивости к рифампицину в выявлении гетерорезистентности культур *Mycobacterium tuberculosis*

Л.С. ЛАВРЕНЧУК, Т.В. УМПЕЛЕВА, Д.В. БЕЛЯЕВ, Д.В. ДИАНОВ, Д.В. ВАХРУШЕВА

**Уральский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии – филиал ФГБУ «НМИЦ ФПИ» МЗ РФ,
г. Екатеринбург, РФ**

РЕЗЮМЕ

Цель исследования: оценка возможности современных методов тестирования устойчивости к рифампицину в выявлении гетерорезистентности культур *Mycobacterium tuberculosis*.

Материалы и методы. Искусственно созданы смеси чувствительного (H37Rv) и устойчивого (штамм 5521 с ШЛУ, с мутацией *rpoB* Ser531Leu) штаммов МБТ в пропорциях от 0% до 100%. Для тестирования устойчивости к рифампицину использованы фенотипические методы (BACTEC MGIT 960, метод пропорций на среде Миддлбрук 7H10) и молекулярно-генетические тесты (ТБ-ТЕСТ, Амплитуб-МЛУ-РВ, АмплиТест МБТ-Резист I).

Результаты. Фенотипические методы выявили устойчивость к рифампицину при 1% резистентных клеток в смеси. Молекулярно-генетические методы показали вариабельный порог детекции: 5% (АмплиТест МБТ-Резист I), 20% (ТБ-ТЕСТ), 30% (Амплитуб-МЛУ-РВ). Показана возможность повышения чувствительности отечественных молекулярно-генетических тест-систем путем совершенствования программ интерпретации данных ПЦР, а также необходимость разработки алгоритмов диагностики ЛЧ МБТ с учетом ограничений используемых методов.

Ключевые слова: гетерорезистентность, *Mycobacterium tuberculosis*, рифампицин, лекарственная устойчивость, молекулярно-генетическая диагностика, фенотипические методы, мутация *rpoB* Ser531Leu.

Для цитирования: Лавренчук Л.С., Умпелева Т.В., Беляев Д.В., Дианов Д.В., Вахрушева Д.В. Возможности современных методов тестирования устойчивости к рифампицину в выявлении гетерорезистентности культур *Mycobacterium tuberculosis* // Туберкулоз и болезни лёгких. – 2025. – Т. 103, № 6. – С. 17–23. <http://doi.org/10.58838/2075-1230-2025-103-6-17-23>

Potential of Modern Methods of Rifampicin Susceptibility Testing in Detection of Heteroresistance of *Mycobacterium tuberculosis* Cultures

L.S. LAVRENCHUK, T.V. UMPELEVA, D.V. BELYAEV, D.V. DIANOV, D.V. VAKHRUSHEVA

Ural Phthisiopulmonology Research Institute – a Branch of National Medical Research Center of Phthisiopulmonology and Infectious Diseases, Russian Ministry of Health, Yekaterinburg, Russia

ABSTRACT

The objective: evaluation of potential of modern methods of rifampicin susceptibility testing in detection of heteroresistance of *Mycobacterium tuberculosis* cultures.

Subjects and Methods. Mixtures of susceptible (H37Rv) and resistant (strain 5521 with XDR, with the *rpoB* Ser531Leu mutation) *Mycobacterium tuberculosis* strains were artificially created in proportions from 0% to 100%. Phenotypic methods (BACTEC MGIT 960, proportion method on Middlebrook 7H10 medium) and molecular genetic tests (TB-TEST, Amplitub-MDR-RV, AmpliTTest MBT-Resist I) were used to test resistance to rifampicin.

Results. Phenotypic methods revealed resistance to rifampicin with 1% resistant cells in the mixture. Molecular genetic methods showed variable detection thresholds: 5% (AmpliTTest MBT-Resist I), 20% (TB-TEST), and 30% (Amplitub-MDR-RV). The authors demonstrate possibility of enhancing the sensitivity of domestic molecular genetic test systems by improving PCR data interpretation software, as well as the need to develop algorithms for tuberculosis diagnosing, taking into account limitations of the methods used.

Key words: heteroresistance, *Mycobacterium tuberculosis*, rifampicin, drug resistance, molecular genetic diagnostics, phenotypic methods, *rpoB* Ser531Leu mutation.

For citation: Lavrenchuk L.S., Umpeleva T.V., Belyaev D.V., Dianov D.V. Potential of modern methods of rifampicin susceptibility testing in detection of heteroresistance of *Mycobacterium tuberculosis* cultures. *Tuberculosis and Lung Diseases*, 2025, vol. 103, no. 6, pp. 17–23. (In Russ.) <http://doi.org/10.58838/2075-1230-2025-103-6-17-23>

Для корреспонденции:
Лавренчук Леонид Сергеевич
E-mail: leon5d@list.ru

Correspondence:
Leonid S. Lavrenchuk
Email: leon5d@list.ru

Введение

Одним из наименее изученных, но критически важным аспектом проблемы роста лекарственной устойчивости *Mycobacterium tuberculosis* (МБТ) является гетерорезистентность популяции возбудителя [13]. Единого определения термина «гетерорезистентность» не существует, но обычно под ним понимают популяцию клеток одной генетической линии, фактически клонов, полученных из одной колонии бактерий, в которой существуют как клетки, чувствительные к определенным препаратам, так и клетки, устойчивые к ним [3, 5]. В такой ситуации гетерорезистентность обусловлена индивидуальной изменчивостью отдельных клеток. В отличие от этого, в популяции могут присутствовать также бактерии с разным спектром лекарственной устойчивости, но принадлежащие разным штаммам одного и того же вида. В таком случае говорят о смешанной, поликлональной инфекции [12, 17]. В настоящее время принято, что при использовании MIRU-VNTR-типовирования аллельное разнообразие в более чем одном локусе является критерием для дифференциации гетерорезистентности от поликлональной инфекции [7]. Кроме того, гетерорезистентность удается идентифицировать, например, с помощью цифровой капельной ПЦР (исследование Aung, et al.) гетерорезистентность к рифампицину была обнаружена в 5% случаях и в 10% выявлена с помощью секвенирования [6, 8, 9].

Специфика туберкулезного процесса, в частности, длительность существования микобактерий в организме хозяина, большое время генерации микобактерий, а также неадекватная химиотерапия (нерегулярный прием препаратов) способствуют появлению и нарастанию доли резистентных бактерий [2]. В очаге поражения в такой ситуации формируется гетерогенная популяция микобактерий с различной устойчивостью. Кроме того, при туберкулезе, по данным различных авторов, доля случаев смешанных инфекций, когда в организме одного и того же хозяина могут присутствовать микобактерии разных штаммов и генетических линий (в том числе с различным спектром лекарственной устойчивости), может достигать 15-20% [10, 15]. Для клинической практики (за исключением эпидемиологических исследований) определение конкретных причин гетерогенной резистентности микобактерий в образцах не имеет решающего значения, поскольку ключевым аспектом остается чувствительность применяемых диагностических методов. Поэтому в данном исследовании оба явления мы называем одним термином – гетерорезистентность (ГР).

Для микобактерий принято, что клинически значимой является устойчивость к критической

концентрации препарата, по меньшей мере 1% клеток от всей бактериальной популяции, в отличие от других бактерий, для которых принят порог в 0,1% резистентных клеток [4]. Предполагается, что в случае с туберкулезом терапия с использованием нескольких антибактериальных препаратов будет способна подавить размножение МБТ при содержании в популяции менее, чем 1% резистентных клеток [8].

Определение чувствительности МБТ к рифампицину является первоочередной задачей, поскольку от этого зависит выбор режима химиотерапии: режим для лекарственно-чувствительного туберкулеза, включая изониазид-резистентный туберкулез (при чувствительности возбудителя к рифампицину), или режим туберкулеза с множественной лекарственной устойчивостью (при устойчивости возбудителя к рифампицину). Наличие гетерорезистентности может приводить к ложночувствительным результатам, неправильному назначению терапии и, как следствие, к клиническим неудачам, рецидивам, распространению резистентных возбудителей [11, 14, 17].

Последние исследования демонстрируют, что ГР к рифампицину не является редким явлением: она может выявляться у 7% (95% ДИ 2-14) пациентов с туберкулезом [16]. При этом, стандартные методы диагностики обладают разным пределом детекции ГР. Так, фенотипические методы (метод пропорций на плотной питательной среде BACTEC MGIT) основаны на детекции от 1% резистентных клеток. Молекулярно-генетические методы имеют более высокий порог детекции: 60% для Xpert MTB/RIF, 10% – Xpert MTB/RIF Ultra, 5% – GenoType MTBDRplus, 10% – для полногеномного секвенирования (WGS), 50% – для секвенирования гена *groB* [8, 9].

Данные о возможностях молекулярно-генетических тест-систем российского производства в детекции резистентности к рифампицину при ГР популяции МБТ отсутствуют.

Цель исследования

Оценить возможности современных методов тестирования устойчивости к рифампицину в выявлении гетерорезистентности культур *Mycobacterium tuberculosis*.

Материалы и методы

Описание эксперимента

Чтобы оценить возможности различных тестов лекарственной чувствительности к рифампицину, было принято решение смоделировать гетероре-

зистентность искусственным способом. Для этого из двух культур (чувствительной к рифампицину и устойчивой к нему) были приготовлены смеси в различных пропорциях: 0%, 1%, 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50% и 100% устойчивой культуры. Такой подход позволяет установить минимальную долю устойчивых к рифампицину клеток в смеси, которую определенный лабораторный метод способен выявить. Каждое разведение было исследовано каждым методом трехкратно.

Бактериальные штаммы и характеристика лекарственной устойчивости

В исследовании использовали: референс-штамм *M. tuberculosis* H37Rv (ATCC 27294), чувствительный ко всем противотуберкулезным препаратам, и клинический штамм *M. tuberculosis* 5521, выделенный из мокроты пациента с лекарственно-устойчивым туберкулезом в лаборатории УНИИФ - филиала ФГБУ «НМИЦ ФПИ» МЗ РФ (свидетельство о депонировании в ФГУН ГНЦ ПМБ № 1362). Фенотипическая лекарственная чувствительность штамма 5521 была определена двумя методами: методом абсолютных концентраций на среде Левенштейна-Йенсена (к изониазиду 1 мг/л, рифампицину 40 мг/л, этамбутолу 2 мг/л, циклосерину 30 мг/л, офлоксацину 2 мг/л) и модифицированным методом пропорций в системе BACTEC MGIT 960 (к левофлоксацину 1 мг/л, моксифлоксацину 0,5 мг/л, линезолиду 1 мг/л, бедаквилину 1 мг/л).

Генетический анализ штамма 5521 методом напорового секвенирования (MinION, Oxford Nanopore Technologies, Oxford, UK) выявил следующие мутации, ассоциированные с устойчивостью: *rpoB* Ser450Leu (Ser531Leu) (рифампицин), *katG* Ser315Thr (изониазид), *embB* Gln497Arg (этамбутол), *rpsL* Lys43Arg (стрептомицин), *fapG* 1327delG (этионамид), *gyrA* Ala90Val (фторхинолоны), *alr* Met343Thr (циклосерин), *ethA* 327delG (этионамид), *atpE* Ile66Met (бедаквилин). Штамм былнесен к генотипу Beijing B0/W148.

Приготовление бактериальных супензий

Были приготовлены стандартизованные супензии обоих штаммов с оптической плотностью 1,0 McFarland ($\approx 3 \times 10^8$ КОЕ/мл). Затем были созданы серии их смесей в следующих соотношениях (H37Rv%:5521%): 100:0, 99:1, 95:5, 90:10, 80:20, 70:30, 60:40, 50:50, 0:100 соответственно. Для каждой смеси выполнили десятикратные разведения до конечных концентраций 3×10^7 , 3×10^6 , 3×10^5 и 3×10^4 КОЕ/мл.

Тестирование чувствительности к рифампицину методом пропорций в системе BACTEC MGIT 960 (критическая концентрация 0,5 мг/л): в пробирки с питательной средой, содержащей рифампицин, вносили по 0,5 мл супензии культуры МБТ с концентрацией 3×10^7 КОЕ/мл (в трех повторностях).

В контрольные пробирки без препарата засевали 0,5 мл супензии 3×10^5 КОЕ/мл.

Тестирование чувствительности к рифампицину методом пропорций на плотной среде Миддлброка 7H10 (критическая концентрация 1 мкг/мл): в чашки с питательной средой, содержащей рифампицин, засевали по 100 мкл супензии 3×10^6 КОЕ/мл (в трех повторностях), контрольные чашки засевали супензиями 3×10^6 и 3×10^4 КОЕ/мл, инкубировали при 37°C в течение 28 дней.

Молекулярно-генетический анализ

Из каждой исследуемой смеси (концентрация супензии 3×10^6 КОЕ/мл) 1 мл отбирали в раствор «Амплитуб-Преп» (Синтол, Россия) и выделяли ДНК с использованием набора «Экстра-Туб» (Синтол, Россия), согласно инструкции производителя. Анализ мутаций в гене *rpoB* проводили: методом ПЦР в реальном времени набор «Амплитуб-МЛУ-РВ» (Синтол, Россия) и набор «АмплиТест МБТ-Резист-І» (ФГБУ «ЦСП» ФМБА России), а также методом биочипов – система «ТБ-ТЕСТ» («Биочип-ИМБ», Россия). Все исследования проводили в трех повторностях.

Результаты исследования

Фенотипические методы детекции гетерорезистентности

Исследование подтвердило высокую разрешающую способность фенотипических методов в выявлении резистентных субпопуляций МБТ (табл. 1).

Таблица 1. Результаты тестов устойчивости к рифампицину смешанной культуры МБТ методом пропорций на жидких (BACTEC MGIT 960) и плотных (Миддлбрук 7H10) питательных средах (S-чувствительность; R-устойчивость)

*Table 1. Results of rifampicin susceptibility testing of mixed culture of *Mycobacterium tuberculosis* by the proportion method on liquid (BACTEC MGIT 960) and solid (Middlebrook 7H10) media (S-susceptible; R-resistant)*

Штаммы		Методы	
H37Rv %	5521 %	BACTEC MGIT960	пропорций на среде Миддлбрук 7H10
100	0	S	S
99	1	R	R
95	5	R	R
90	10	R	R
80	20	R	R
70	30	R	R
60	40	R	R
50	50	R	R
0	100	R	R

Оба метода – BACTEC MGIT 960 и метод пропорций на среде Миддлброка 7Н10 – показали способность детектировать устойчивость уже при наличии 1% резистентных клеток в суспензии.

По-видимому, это можно объяснить тем, что рифампицин обладает выраженным бактерицидным действием, что приводит к быстрой элиминации чувствительных клеток, и даже минимальное количество резистентных клеток (1%) получает селективное преимущество при культивировании на питательной среде. Результаты молекулярно-генетической диагностики показали значительную вариабельность в разрешающей способности разных методов (табл. 2).

Таблица 2. Результаты молекулярно-генетических методов детекции мутаций, ассоциированных с устойчивостью к рифампицину, в смеси чувствительного и устойчивого штаммов (wt – Wild type, дикий тип, отсутствие мутаций)

Table 2. Results of molecular genetic methods for detecting mutations associated with resistance to rifampicin in a mixture of susceptible and resistant strains (wt – Wild type, no mutations)

Штаммы		Тесты		
H37Rv %	5521 %	ТБ-ТЕСТ	РТ-ПЦР (Амплитуб-МЛУ-РВ)	РТ-ПЦР (АмплиТест МБТ-Резист I)
100	0	wt	wt	wt
99	1	wt	wt	wt
95	5	wt	wt	<i>rpoB</i> : S531L
90	10	wt	wt	<i>rpoB</i> : S531L
80	20	<i>rpoB</i> : S531L	wt	<i>rpoB</i> : S531L
70	30	<i>rpoB</i> : S531L	<i>rpoB</i> : S531L	<i>rpoB</i> : S531L
60	40	<i>rpoB</i> : S531L	<i>rpoB</i> : S531L	<i>rpoB</i> : S531L
50	50	<i>rpoB</i> : S531L	<i>rpoB</i> : S531L	<i>rpoB</i> : S531L
0	100	<i>rpoB</i> : S531L	<i>rpoB</i> : S531L	<i>rpoB</i> : S531L

Тест-система «ТБ-ТЕСТ» продемонстрировала порог детекции в 20% резистентных клеток. При этом, программное обеспечение прибора детектировало превышение уровня флюоресценции в ячейке с мутантным вариантом в 1,2 раза по сравнению с вариантом дикого типа, что видно на рис. 1. При 5% и 10% доли устойчивых клеток в смеси соотношение уровней флюоресценции составляло 0,23 и 0,51 соответственно, что было недостаточно для распознавания смесей самой системой, однако при отсутствии клеток с мутацией S531L соотношение уровней флюоресценции составляло около 0,1. Возможно, внесение изменений в программу интерпретации результатов гибридизации на чипе может позволить улавливать более низкие примеси мутантных клеток.

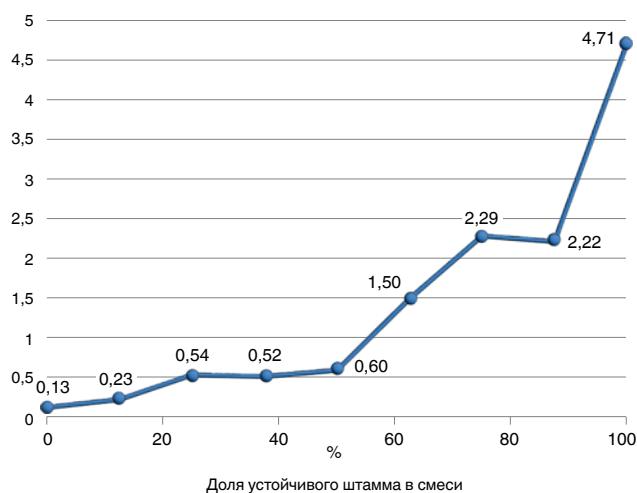


Рис. 1. Соотношение уровней флюоресценции ячейки с мутацией *rpoB* Ser531Leu и ячейки WT в исследуемых смесях

Fig. 1. Ratio of fluorescence levels of a cell with the *rpoB* Ser531Leu mutation to a WT cell in the tested mixtures

Порог детекции набора «Амплитуб-МЛУ-РВ» составил 30% резистентных клеток в двух повторностях и 20% – в третьей. При интерпретации результатов, полученных с использованием тест-системы «Амплитуб-МЛУ-РВ», согласно инструкции производителя действует следующее правило: если разница между пороговым циклом для канала, по которому определяется мутация, и каналом, по которому детектируется ген *rpoB*, составляет более 7 циклов, то исследуемый образец не содержит мутации. В нашем эксперименте не было получено «промежуточных» результатов: при доле мутантных клеток 20% флюоресценции для мутации *rpoB* S531L зафиксировано не было, а при 30% мутантных клеток пороговые циклы для гена *rpoB* и мутации *rpoB* S531L имели близкие значения. Можно предположить, что «промежуточные» значения могли бы быть получены при доле мутантных клеток между 20% и 30%. Но при существующих правилах интерпретации культура будет расценена как чувствительная к рифампицину, что может привести к ошибочному включению рифампицина в схему химиотерапии и к расхождению с результатами фенотипических исследований. Таким образом, для данной тест-системы кривая флюоресценции, полученная для мутации с любым значением порогового цикла, должна расцениваться как положительный результат на наличие мутации, ассоциированной с устойчивостью к рифампицину.

Анализ графиков флюоресценции, полученных при использовании тест-системы «АмплиТест МБТ-Резист I» (рис. 2), позволил установить, что при росте доли мутантных клеток в образце происходит резкий подъем кривой флюоресценции. При 1% мутантных клеток подъем кривой также присутствует, но является сложно различимым.

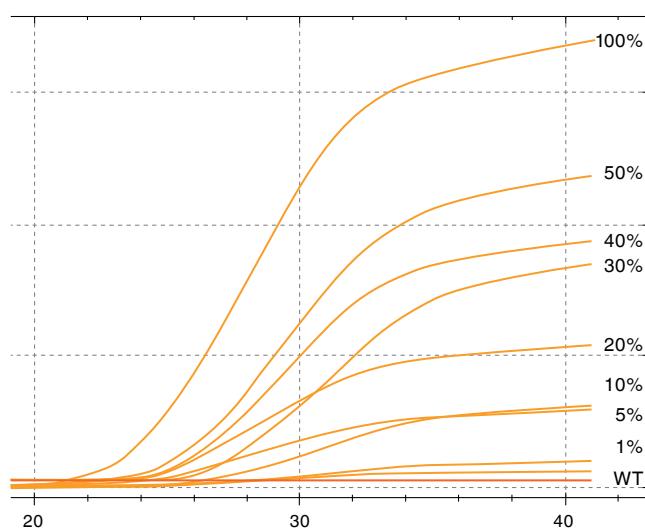


Рис. 2. Уровень флуоресценции при использовании тест-системы «АмплиТест МБТ-Резист I» в зависимости от доли клеток (% по оси ординат) с мутацией *rpoB* Ser531Leu в исследуемых смесях. По оси абсцисс – количество циклов ПЦР

Fig. 2. Fluorescence level when using the AmpliTTest MBT-Resist I test system depending on the proportion of cells (% along the ordinate axis) with the *rpoB* Ser531Leu mutation in the tested mixtures. The abscissa axis shows the number of PCR cycles

Таким образом, разрешающая способность в выявлении в смешанной культуре резистентных к рифампицину клеток МБТ для различных молекулярно-генетических наборов отечественного производства варьировала в пределах от 5% до 30%. Наши исследования показали, что порог детекции для некоторых тест-систем может быть понижен путем внесения изменений в программы интерпретации результатов.

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

Conflict of interest. The authors declare there is no conflict of interest.

Заключение

Экспертами ВОЗ молекулярно-генетические методы рекомендованы в качестве первоначального теста для выявления устойчивости МБТ к рифампицину. Результаты проведенного эксперимента показали, отечественные тест-системы не уступают по аналитической чувствительности при выявлении доли мутантного генотипа зарубежным аналогам, но требуют доработки программ интерпретации результатов для повышения разрешающей способности. Мы подтвердили высокую эффективность фенотипических методов в детекции гетерорезистентных субпопуляций *Mycobacterium tuberculosis*. Оба использованных метода – BACTEC MGIT 960 и метод пропорций на среде Миддлбрук 7H10 – показали способность выявлять устойчивость культуры к рифампицину даже при наличии в ней всего 1% резистентных клеток. Это свидетельствует об адекватности выбора критических концентраций рифампицина для МБТ, у которых устойчивость к рифампицину обусловлена мутацией *rpoB* Ser531Leu. Существенным ограничением применения фенотипических методов ТЛЧ является длительность получения результатов, а также возможность получения противоречивых результатов тестирования в случае наличия в исследуемых культурах мутаций с вариабельно проявляющейся фенотипической устойчивостью [1].

Для того, чтобы учитывать все возможные аспекты молекулярно-генетических и фенотипических методов тестирования ЛЧ МБТ, необходима разработка усовершенствованных алгоритмов диагностики с учетом ограничений используемого метода.

ЛИТЕРАТУРА

1. Беляев Д.В., Умпелева Т.В., Дианов Д.В., Лавренчук Л.С., Ботева Т.Ю., Вахрушева Д.В. Фенотипическая устойчивость к рифампицину у *Mycobacterium tuberculosis* с мутацией *rpoB* Leu430Pro // Туберкулез и болезни легких. – 2024. – Т. 102, № 5. – С. 64-69.
2. Васильева И.А., Самойлова А.Г., Эргешов А.Э., Багдасарян Т.Р., Черноусова Л.Н. Химиотерапия туберкулеза: проблемы и перспективы // Вестник Российской академии медицинских наук. – 2012. – Т. 67, № 11. – С. 9-14. <https://doi.org/10.15690/vramn.v67i11.465>
3. Гостев, В.В., Сидоренко, С.В. Гетерорезистентность: клиническое значение и методы выявления (обзор литературы) // Клиническая лабораторная диагностика. – 2023. – Т. 68, № 7. – С. 422.
4. Смирнова, Т.Г., Ларионова, Е.Е., Андреевская (Савинкова), С.Н., Севастянова, Э.В., Черноусова, Л.Н. Тесты лекарственной чувствительности микобактерий. Часть 2. Метод пропорций на плотных питательных средах // Вестник Центрального Научно-Исследовательского Института Туберкулеза. – 2021. – № 3. – С. 79.

REFERENCES

1. Belyaev D.V., Umpeleva T.V., Dianov D.V., Lavrenchuk L.S., Boteva T.Yu., Vakhrusheva D.V. Phenotypic resistance to rifampicin of *Mycobacterium tuberculosis* with the *rpoB* Leu430Pro mutation. *Tuberculosis and Lung Diseases*, 2024, vol. 102, no. 5, pp. 64-69. (In Russ.)
2. Vasilyeva I.A., Samoilova A.G., Ergeshov A.E., Bagdasaryan T.R., Chernousova L.N. Tuberculosis chemotherapy: problems and perspectives. *Vestnik Rossiiskoy Akademii Meditsinskikh Nauk*, 2012, vol. 67, no. 11, pp. 9-14. (In Russ.) <https://doi.org/10.15690/vramn.v67i11.465>
3. Gostev V.V., Sidorenko S.V. Heteroresistance: clinical significance and detection methods (literature review). *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*, 2023, vol. 68, no. 7, pp. 422. (In Russ.)
4. Smirnova T.G., Larionova E.E., Andreevskaya (Savinkova) S.N., Sevastyanova E.V., Chernousova L.N. Drug susceptibility testing of mycobacteria. Part 2. The proportion method on solid growth media. *CTRI Bulletin*, 2021, no. 3, pp. 79. (In Russ.)

5. Andersson D.I., Nicoloff H., Hjort K. Mechanisms and clinical relevance of bacterial heteroresistance // *Nature Reviews. Microbiology*. – 2019. – Vol. 17, № 8. – P. 479
6. Aung Y.W., Faksri K., Sangka A., Tomanakan K., Namwat W. Heteroresistance of *Mycobacterium tuberculosis* in the Sputum Detected by Droplet Digital PCR // *Biology*. – 2023. – Vol. 12, № 4. – P. 525.
7. Byrne A.S., Goudreau A., Bissonnette N., Shamputa I.C., Tahlan K. Methods for Detecting Mycobacterial Mixed Strain Infections—A Systematic Review // *Frontiers in Genetics*. – 2020. – № 11. – P. 600-692.
8. Danchuk S.N., Solomon O.E., Kohl T.A., Dreyer V., Barilar I., Utpatel C., Niemann, S., Soolingen D., van, Anthony R., van Ingen J., Michael J.S., Behr M.A. Challenging the gold standard: the limitations of molecular assays for detection of *Mycobacterium tuberculosis* heteroresistance // *Thorax*. – 2024. – Vol. 79, № 7. – P. 670.
9. Folkvardsen D.B., Thomsen, V.O., Rigouts L., Rasmussen E.M., Bang D., Bernaerts G., Werngren J., Toro J.C., Hoffner S., Hillemann D., Svensson E. Rifampin heteroresistance in *Mycobacterium tuberculosis* cultures as detected by phenotypic and genotypic drug susceptibility test methods // *Journal of Clinical Microbiology*. – 2013. – Vol. 51, № 12. – P. 4220.
10. Hanekom M., Streicher E.M., Van de Berg D., Cox H., McDermid C., Bosman M., Gey van Pittius N.C., Victor T.C., Kidd M., van Soolingen D., van Helden P.D., Warren R.M. Population structure of mixed *Mycobacterium tuberculosis* infection is strain genotype and culture medium dependent // *PloS One*. – 2013. – Vol. 8, № 7. – P. e70178.
11. Kargarpour Kamakoli M., Sadegh H.R., Farmanfarmaei G., Masoumi M., Fateh A., Javadi G., Rahimi Jamnani F., Vaziri F., Siadat S.D. Evaluation of the impact of polyclonal infection and heteroresistance on treatment of tuberculosis patients // *Scientific Reports*. – 2017. – № 7. – P. 41410.
12. Mascellin M.T., Porowska B., De Angelis M., Oliva A. Antibiotic susceptibility, heteroresistance, and updated treatment strategies in *Helicobacter pylori* infection // *Drug Design, Development and Therapy*. – 2017. – Vol. 11. – P. 2209.
13. Rinder H., Mieskes K.T., Löscher T. Heteroresistance in *Mycobacterium tuberculosis* // *The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease: The Official Journal of the International Union Against Tuberculosis and Lung Disease*. – 2001. – Vol. 5, № 4. – P. 339.
14. Shin S.S., Modongo C., Baik Y., Allender C., Lemmer D., Colman R.E., Engelthaler D.M., Warren R.M., Zetola N.M. Mixed *Mycobacterium tuberculosis* – Strain Infections Are Associated With Poor Treatment Outcomes Among Patients With Newly Diagnosed Tuberculosis, Independent of Pretreatment Heteroresistance // *The Journal of Infectious Diseases*. – 2018. – Vol. 218, № 12. – P. 1974.
15. Warren R.M., Streicher E.M., Charalambous S., Churchyard G., van der Spuy G.D., Grant A.D., van Helden P.D., Victor T.C. Use of spoligotyping for accurate classification of recurrent tuberculosis // *Journal of Clinical Microbiology*. – 2002. – Vol. 40, № 10. – P. 3851.
16. Ye M., Yuan W., Molaeipour L., Azizian K., Ahmadi A., Kouhsari E. Antibiotic heteroresistance in *Mycobacterium tuberculosis* isolates: a systematic review and meta-analysis // *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*. – 2021. – Vol. 20, № 1. – P. 73.
17. Zheng C., Li S., Luo Z., Pi R., Sun H., He Q., Tang K., Luo M., Li Y., Couvin D., Rastogi N., Sun Q. Mixed Infections and Rifampin Heteroresistance among *Mycobacterium tuberculosis* Clinical Isolates // *Journal of Clinical Microbiology*. – 2015. – Vol. 53, № 7. – P. 2138.
5. Andersson D.I., Nicoloff H., Hjort K. Mechanisms and clinical relevance of bacterial heteroresistance. *Nature Reviews. Microbiology*, 2019, vol. 17, no. 8, pp. 479
6. Aung Y.W., Faksri K., Sangka A., Tomanakan K., Namwat W. Heteroresistance of *Mycobacterium tuberculosis* in the sputum detected by droplet digital PCR. *Biology*, 2023, vol. 12, no. 4, pp. 525.
7. Byrne A.S., Goudreau A., Bissonnette N., Shamputa I.C., Tahlan K. Methods for detecting mycobacterial mixed strain infections—a systematic review. *Frontiers in Genetics*, 2020, no. 11, pp. 600-692.
8. Danchuk S.N., Solomon O.E., Kohl T.A., Dreyer V., Barilar I., Utpatel C., Niemann, S., Soolingen D., van, Anthony R., van Ingen J., Michael J.S., Behr M.A. Challenging the gold standard: the limitations of molecular assays for detection of *Mycobacterium tuberculosis* heteroresistance. *Thorax*, 2024, vol. 79, no. 7, pp. 670.
9. Folkvardsen D.B., Thomsen, V.O., Rigouts L., Rasmussen E.M., Bang D., Bernaerts G., Werngren J., Toro J.C., Hoffner S., Hillemann D., Svensson E. Rifampin heteroresistance in *Mycobacterium tuberculosis* cultures as detected by phenotypic and genotypic drug susceptibility test methods. *Journal of Clinical Microbiology*, 2013, vol. 51, no. 12, pp. 4220.
10. Hanekom M., Streicher E.M., Van de Berg D., Cox H., McDermid C., Bosman M., Gey van Pittius N.C., Victor T.C., Kidd M., van Soolingen D., van Helden P.D., Warren R.M. Population structure of mixed *Mycobacterium tuberculosis* infection is strain genotype and culture medium dependent. *PloS One*, 2013, vol. 8, no. 7, pp. e70178.
11. Kargarpour Kamakoli M., Sadegh H.R., Farmanfarmaei G., Masoumi M., Fateh A., Javadi G., Rahimi Jamnani F., Vaziri F., Siadat S.D. Evaluation of the impact of polyclonal infection and heteroresistance on treatment of tuberculosis patients. *Scientific Reports*, 2017, no. 7, pp. 41410.
12. Mascellin M.T., Porowska B., De Angelis M., Oliva A. Antibiotic susceptibility, heteroresistance, and updated treatment strategies in *Helicobacter pylori* infection. *Drug Design, Development and Therapy*, 2017, vol. 11. pp. 2209.
13. Rinder H., Mieskes K.T., Löscher T. Heteroresistance in *Mycobacterium tuberculosis*. *The International Journal Tuberculosis and Lung Diseases: The Official Journal of the International Union Against Tuberculosis and Lung Disease*, 2001, vol. 5, no. 4, pp. 339.
14. Shin S.S., Modongo C., Baik Y., Allender C., Lemmer D., Colman R.E., Engelthaler D.M., Warren R.M., Zetola N.M. Mixed *Mycobacterium tuberculosis* – strain infections are associated with poor treatment outcomes among patients with newly diagnosed tuberculosis, independent of pretreatment heteroresistance. *The Journal of Infectious Diseases*, 2018, vol. 218, no. 12, pp. 1974.
15. Warren R.M., Streicher E.M., Charalambous S., Churchyard G., van der Spuy G.D., Grant A.D., van Helden P.D., Victor T.C. Use of spoligotyping for accurate classification of recurrent tuberculosis. *Journal of Clinical Microbiology*, 2002, vol. 40, no. 10, pp. 3851.
16. Ye M., Yuan W., Molaeipour L., Azizian K., Ahmadi A., Kouhsari E. Antibiotic heteroresistance in *Mycobacterium tuberculosis* isolates: a systematic review and meta-analysis. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 2021, vol. 20, no. 1, pp. 73.
17. Zheng C., Li S., Luo Z., Pi R., Sun H., He Q., Tang K., Luo M., Li Y., Couvin D., Rastogi N., Sun Q. Mixed infections and rifampin heteroresistance among *Mycobacterium tuberculosis* clinical isolates. *Journal of Clinical Microbiology*, 2015, vol. 53, no. 7, pp. 2138.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ:

Уральский научно-исследовательский институт
фтизиопульмонологии – филиал ФГБУ «НМИЦ ФПИ»
620039, г. Екатеринбург, ул. 22-го Партизанского, д. 50
Тел.: +7(343)333-44-59

Лавренчук Леонид Сергеевич

Младший научный сотрудник
научно-исследовательского отдела микробиологии
и доклинических исследований
E-mail: leon5d@list.ru

INFORMATION ABOUT AUTHORS:

*Ural Phthisiopulmonology Research Institute –
a Branch of National Medical Research Center
of Phthisiopulmonology and Infectious Diseases
50 XXII Parts "ezda St., Yekaterinburg, 620039
Phone: +7(343) 333-44-59*

Leonid S. Lavrenchuk

*Junior Researcher of Research Department
of Microbiology and Preclinical Studies
Email: leon5d@list.ru*

Умпелева Татьяна Валерьевна

Ведущий научный сотрудник научно-исследовательского
отдела микробиологии и доклинических исследований
E-mail: tumpeleva@yandex.ru

Беляев Данила Владимирович

Младший научный сотрудник научно-исследовательского
клинического отдела
E-mail: d734698@yandex.ru

Дианов Дмитрий Владиславович

Младший научный сотрудник научно-исследовательского
отдела микробиологии и доклинических исследований
E-mail: dima.dianov.99@mail.ru

Вахрушева Диана Владимиrowна

Заведующая научно-исследовательским отделом
микробиологии и доклинических исследований
E-mail: vakhrusheva2023@yandex.ru

Tatiana V. Umpeleva

*Leading Researcher of Research Department
of Microbiology and Preclinical Studies*
Email: tumpeleva@yandex.ru

Danila V. Belyaev

*Junior Researcher of Research
Clinical Department*
Email: d734698@yandex.ru

Dmitriy V. Dianov

*Junior Researcher of Research Department
of Microbiology and Preclinical Studies*
Email: dima.dianov.99@mail.ru

Diana V. Vakhrusheva

*Head of Research Department
of Microbiology and Preclinical Studies*
Email: vakhrusheva2023@yandex.ru

Поступила 02.07.2025

Submitted as of 02.07.2025