

Ю.А.Беспятых¹, Е.А.Шитиков¹, Д.В.Зименков², Е.В.Кулагина², Д.А.Грядунов², Е.Ю.Носова³,
А.А.Букатина³, М.В.Шульгина⁴, В.Ю.Журавлев⁴, Е.Н.Ильина¹

Определение лекарственной устойчивости и генотипирование клинических штаммов *Mycobacterium tuberculosis* при помощи экспериментального набора "ТБ-ТЕСТ"

1 – НИИ физико-химической медицины ФМБА России: 119435, Москва, ул. Малая Пироговская, 1а;
2 – ФГБУН "Институт молекулярной биологии им. Энгельгардта" РАН: 119991, Москва, ул. Вавилова, 32;
3 – Московский городской научно-практический центр борьбы с туберкулезом: 107014, Москва, ул. Стрмынка, 10;
4 – НИИ фтизиопульмонологии: 191036, Санкт-Петербург, Лиговский пр., 2–4

Yu.A.Bespyatykh, E.A.Shitikov, D.V.Zimenkov, E.V.Kulagina, D.A.Gryadunov, E.Yu.Nosova,
A.A.Bukatina, M.V.Shulgina, V.Yu.Zhuravlev, E.N.Ilyina

Identification of drug resistance and genotyping of clinical isolates of *Mycobacterium tuberculosis* using the TB-TEST

Summary

Drug resistance and genotype of *Mycobacterium tuberculosis* were analyzed in 266 DNA samples isolated from clinical material of patients with TB using an experimental test system TB-TEST. This method is based on oligonucleotide microarray technology and allows determination of most prevalent in Russia genotypes of *M. tuberculosis* and genomic mutations responsible for drug resistance to the main medications used for treatment of TB: rifampicin, isoniazid, ethambutol, fluoroquinolones, aminoglycosides, and capreomycin. As a result, drug resistance profiles and genotypes were identified for all samples. The test results were highly related to results of conventional microbiological tests. The TB-TEST could be used as a preferred laboratory method for diagnosis of TB.

Key words: *Mycobacterium tuberculosis*, TB-TEST, biochip, drug resistance, genotyping.

Резюме

Проведен анализ лекарственной устойчивости 266 образцов геномной ДНК *Mycobacterium tuberculosis* с использованием экспериментального набора "ТБ-ТЕСТ". Этот метод основан на применении технологии олигонуклеотидных биочипов и позволяет определять наиболее распространенные в России генотипы патогена, а также мутации, ответственные за формирование резистентности к основным препаратам, применяемым для лечения туберкулеза, – рифампицину, изониазиду, этамбутолу, фторхинолонам, аминогликозидам и капреомицину. В результате были получены профили резистентности и определены генотипы для всех образцов. Тестируемый метод показал хорошую корреляцию результатов с данными классических микробиологических тестов. Разработанная система "ТБ-ТЕСТ" является приоритетной для использования в клинической лабораторной диагностике.

Ключевые слова: *Mycobacterium tuberculosis*, ТБ-ТЕСТ, биочип, лекарственная устойчивость, генотипирование.

В России туберкулез является одной из наиболее значимых проблем здравоохранения и социального развития страны. В настоящее время можно говорить о наметившейся тенденции к снижению заболеваемости, которая, однако, продолжает оставаться на достаточно высоком уровне. Только за последний год, по данным Всемирной организации здравоохранения, в стране были выявлены около 90 тыс. вновь заболевших [1]. Значительную роль в обострении ситуации с туберкулезом играет появление и все большее распространение микобактерий, устойчивых к лекарственным препаратам. Наибольшую опасность представляют изоляты *Mycobacterium tuberculosis* (МБТ), обладающие множественной и широкой лекарственной устойчивостью (МЛУ и ШЛУ соот-

ветственно). К МЛУ относят штаммы, одновременно устойчивые к изониазиду и рифампицину; к ШЛУ – к изониазиду, рифампицину, фторхинолонам и к I из группы инъекционных препаратов: канамицину или / и амикацину, или / и капреомицину [2].

Туберкулез, вызванный формами МБТ с МЛУ и ШЛУ, сопровождается тяжелыми деструктивными процессами и носит прогрессирующий характер. Лечение таких пациентов сопряжено с рядом трудностей и зачастую приводит к развитию хронических и неизлечимых форм заболевания с неблагоприятным прогнозом [3]. По данным Центрального НИИ организации и информатизации здравоохранения в России, > 41 % впервые выявленных случаев туберкулеза вызываются штаммами с МЛУ-фенотипом.

В свою очередь, среди всех МЛУ-фенотипов 30 % составляют штаммы с ШЛУ.

Другой актуальной проблемой на сегодня является определение структуры популяции МБТ. Предварительное определение генотипа имеет большое значение для эпидемиологического мониторинга. Показано, что штаммы *Beijing* преобладают в структуре популяции возбудителя туберкулеза в России и ассоциированы с лекарственной устойчивостью (ЛУ) [4]. В свою очередь, кластер B0 / W148 является наиболее распространенным в России вариантом генотипа *Beijing* [5, 6]. Представители этого кластера преобладают у больных тяжелыми формами туберкулеза и демонстрируют высокую вирулентность [7–9] и трансмиссивность [10], ассоциацию с ЛУ [5, 6, 11]. Другими наиболее часто встречающимися на территории России генотипами являются Ural и LAM.

Очевидно, что в сложившейся ситуации весьма актуальны исследования, направленные на решение проблемы своевременного выявления МЛУ- и ШЛУ-форм для ранней коррекции противотуберкулезной терапии, а также на проведение адекватных противоэпидемических мероприятий, ориентированных на предупреждение распространения штаммов микобактерий.

Применяемые на сегодняшний день микробиологические методы диагностики туберкулеза весьма трудоемки, дороги, плохо поддаются стандартизации и занимают в исполнении от 3 нед. до 3 мес. В этом направлении широкие перспективы и возможности открывают современные достижения молекулярной биологии. Принципиально новым подходом для молекулярной диагностики МБТ является технология гидрогелевых биочипов, разработанная в Институте молекулярной биологии им. Энгельгардта РАН. Данная технология уже хорошо зарекомендовала себя в клинической практике и используется для типирования МБТ, вирусов гепатита С, оспы и гриппа, а также для анализа генетических изменений у человека при различных заболеваниях [12]. В настоящее время для определения ЛУ МБТ используются 2 тест-системы. Тест-система "ТБ-Биочип-1" позволяет выявить мутации, ответственные за устойчивость к рифампицину и изониазиду [13]. Вторая тест-система направлена на определение устойчивости к фторхинолонам, аминогликозидам и капреомицину [14].

Цель настоящего исследования – проведение лабораторной апробации нового экспериментального набора "ТБ-ТЕСТ", основанного на использовании олигонуклеотидных микрочипов и предназначенного для определения ЛУ и генотипирования *M. tuberculosis*.

Материалы и методы

Клинические образцы. В исследование было включено 266 образцов геномной ДНК МБТ из охарактеризованной лабораторной коллекции НИИ физико-химической медицины. Данная выборка являлась

эпидемиологически не связанной и включала 46 образцов геномной ДНК, выделенных из мокроты и бронхиальных смывов пациентов с продуктивным туберкулезом легких, и 220 образцов ДНК, выделенных из чистых культур МБТ, полученных в ходе бактериологического тестирования. Бактериологическое исследование культур МБТ на чувствительность к противотуберкулезным препаратам 1-го и 2-го ряда было проведено методом абсолютных концентраций и на приборе *Bactec MGIT 960*. В качестве контрольного использовали музейный лабораторный штамм H37Rv.

Генотипирование и тестирование маркеров ЛУ. Обнаружение генетических маркеров ЛУ и генотипирования МБТ проводилось с использованием экспериментального набора "ТБ-ТЕСТ", разработанного в рамках Государственного контракта № 16.522.11.2003 на тему: "Разработка и выпуск опытных образцов тест-системы для обнаружения лекарственно-устойчивого туберкулеза с учетом особенностей геномной организации эндемичных для России штаммов". Данный набор реализует принцип гибридизации на гидрогелевых биочипах. Геномная ДНК клинических штаммов использовалась для постановки одностадийной мультиплексной полимеразной цепной реакции, в ходе которой получались флуоресцентно-меченные фрагменты ДНК. Затем полученные фрагменты гибридизовались на биочипе со специфическими зондами при 37 °С. Биочип разбит на группы, определяющие принадлежность к генотипу, устойчивость к противотуберкулезным препаратам (см. рисунок). Отдельную группу составляет зонд IS, специфичный к фрагменту инсерционного элемента IS6110, определяющего принадлежность к микобактериям туберкулезного комплекса. Завершающим этапом являлась оценка полученных результатов на универсальном аппаратно-программном комплексе (УАПК) для анализа биочипов. Программное обеспечение *ImaGeWare*, входящее в состав УАПК, позволяет сравнить флуоресцентные сигналы в ячейках и определить, где образовались совершенные гибридизационные комплексы.

Параметры диагностической специфичности (Sp) и чувствительности (Sn) рассчитывались при помощи следующих формул:

$$Sp = Tn / (Tn + Fp) \times 100 \%, \\ Sn = Tp / (Tp + Fn) \times 100 \%,$$

где Тр – истинно положительный результат, Тп – истинно отрицательный результат, Fр – ложноположительный результат, Fп – ложноотрицательный результат.

Результаты и обсуждение

Для апробации метода была использована лабораторная коллекция из 266 образцов геномной ДНК *M. tuberculosis*. В данную коллекцию были включены 46 фенотипически не охарактеризованных образцов тотальной ДНК, выделенной из мокроты и бронхиальных смывов пациентов с продуктивным туберку-

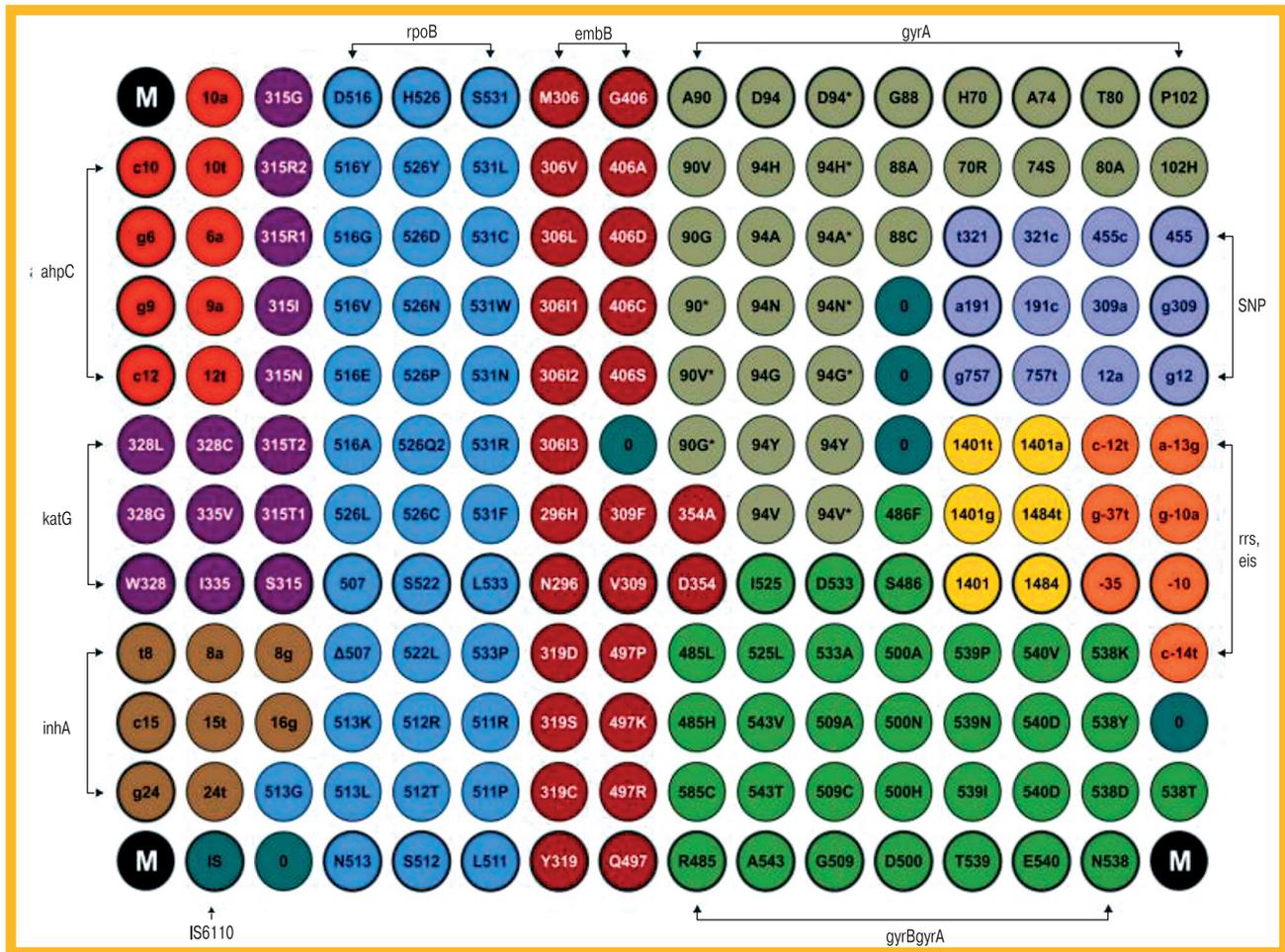


Рисунок. Схема биочипа, входящего в состав набора "ТБ-ТЕСТ" и содержащего иммобилизованные олигонуклеотидные зонды. Ячейки с индексом '0' не содержат олигонуклеотидов и выполняют роль отрицательного контроля. Ячейки с индексом 'М' содержат флуоресцентный маркер для автоматической обработки гибридационной картины биочипа

лезом легких, и 220 образцов ДНК, выделенных из чистых культур МБТ, для которых были установлены профили антибиотикорезистентности. По данным микробиологических тестов, в анализируемой выборке 41 (41 / 220; 18,6 %) образец был чувствителен к противотуберкулезным препаратам; 13 (13 / 220; 5,9 %) образцов были монорезистентными; 5 (5 / 220; 2,3 %) – полирезистентными; 112 (112 / 220; 50,9 %) имели МЛУ-фенотип; 49 (49 / 220; 22,3 %) – ШЛУ-фенотип.

При использовании экспериментального набора "ТБ-ТЕСТ" были получены результаты для 100 % (220 / 220) образцов, выделенных из чистой культуры МБТ, и 98 % (45 / 46) образцов, выделенных из мокроты и бронхиальных смывов. Согласно результатам

тестирования бактериологически охарактеризованной группы ($n = 220$), к фенотипической категории "чувствительные" были отнесены 38 (38 / 220; 17,3 %) образцов, 12 образцов (12 / 220; 5,5 %) в данной выборке были определены как монорезистентные, 8 (8 / 220; 3,6 %) – полирезистентные, 109 (109 / 220; 49,5 %) – МЛУ и 53 (53 / 220; 24,1 %) – ШЛУ (табл. 1).

Среди чувствительных изолятов достоверно было идентифицировано 90,2 % (37 / 41) образца: 1 образец был оценен как ложноположительный, поскольку по бактериологическим данным он был монорезистентен к рифампицину; 4 образца оказались ложноотрицательными.

Среди монорезистентных изолятов было идентифицировано 12 / 13 образцов, 1 образец был ложно-

Таблица 1
Сравнение результатов определения ЛУ классическим методом и с помощью тест-системы "ТБ-ТЕСТ" и расчет диагностической чувствительности и специфичности

Фенотипическая категория	Бактериологическое тестирование, n	"ТБ-ТЕСТ", n	Чувствительность "ТБ-ТЕСТ", %	Специфичность "ТБ-ТЕСТ", %
Чувствительные	41	38	90	99
Монорезистентные	13	12	92	100
Полирезистентные	5	8	100	99
МЛУ	112	109	92	94
ШЛУ	49	53	94	95

отрицательным. Среди полирезистентных изолятов достоверно были идентифицированы 5 / 5 образцов. Для 3 образцов был получен ложноположительный результат.

Диагностическая специфичность и чувствительность обнаружения МЛУ- и ШЛУ-фенотипов составила 92; 94 % и 95; 94 % соответственно. Стоит отметить, что при сопоставлении данных бактериологического и генетического тестирования видно некоторое комплементарное перераспределение штаммов, отнесенных к категориям МЛУ и ШЛУ. По данным генетического тестирования, наблюдается увеличение числа штаммов, отнесенных к ШЛУ за счет уменьшения МЛУ. Возможно, это объективный процесс, объясняемый проблемами в оценке ЛУ препаратов 2-й линии.

Экспериментальный набор "ТБ-ТЕСТ" позволяет выявлять суммарно 114 генетических детерминант ЛУ: из них 28 мутаций – в гене *groV*, ответственных за устойчивость к рифампицину; 11 мутаций – в гене *katG*, по 5 – в *inhA* и *ahpC*, приводящих к устойчивости к изониазиду; 18 – в *embB*, ответственных за устойчивость к этамбутолу; 15 – в *gyrA*; 23 – в *gyrB*, ответственных за устойчивость к фторхинолонам; 4 – в *grs*; 5 – в *eis*, приводящих к устойчивости к аминогликозидам и капреомицину.

Согласно результатам "ТБ-ТЕСТ", в гене *groV* рифампицин-резистентных штаммов МБТ чаще всего встречались мутации в кодонах 531 (78,3 %), 516 (11,6 %) и 526 (7,2 %). Наиболее часто детектировали замену типа Ser531>Leu (72,5 %).

Замены, приводящие к резистентности к изониазиду, были детектированы в генах *katG* в 96,5 % случаев, *inhA* – в 24,7 %, *ahpC* – 4,1 %. В данном случае преобладающей была мутация в *KatG* Ser315Thr (87 %).

В гене *embB*, ассоциированном с резистентностью к этамбутолу, чаще всего присутствовала мутация в кодоне 306, приводящая к замене типа Met306Val (68,8 %). Следует отметить, данная мутация встретилась и у 5 чувствительных образцов, что согласуется с данными мировой литературы [15, 16].

Среди фторхинолон-резистентных образцов мутации по кодонам 90, 91, 94 гена *gyrA* были найдены в 77,6 % (59 / 76). Резистентность к аминогликозидам по большей части была связана с мутацией в ге-

не *grs* a1401g (47,2 %) и мутацией g(-10)a в промоторной области гена *eis* (18,5 %).

Кроме того, в состав экспериментального набора "ТБ-ТЕСТ" включен блок, позволяющий устанавливать принадлежность МБТ к наиболее распространенным на территории России генотипам. Данный блок содержит 12 ячеек, определяющих генотип-специфические SNPs. Следует отметить, что соответствующие SNPs были идентифицированы в ходе анализа полногеномного секвенирования 40 эндемичных для России штаммов МБТ (*GenBank accession number*: SRA061654). В случае установления "дикого" типа по полиморфизму Rv0557_321T>C штамм относился к европейско-американскому типу с дальнейшей идентификацией семейств LAM (по полиморфизму Rv0129c_309G>A), либо Ural (по полиморфизму Rv1811_12G>A). При выявлении полиморфизма Rv0557_321T>C штамм относился к азиатскому типу и при наличии полиморфизма Rv2629_191A>C определялся генотип *Beijing*. При выявлении замены Rv0118c_757G>T в гене *oxcA* устанавливалась принадлежность штамма к семейству B0/W148 генотипа *Beijing*. Таким образом, на 1 чипе осуществляется как идентификация генетических детерминант МЛУ и ШЛУ форм туберкулеза, так и определение наиболее распространенных на территории России генотипов *M. tuberculosis*.

Согласно полученным данным, в коллекции преобладали штаммы с генотипом *Beijing* (54,5 %), в меньшей степени представлены генотипы Ural (7 %), LAM (6,4 %) и штаммы, относящиеся к европейско-американскому типу (32,1 %). Из всех штаммов, принадлежащих к генотипу *Beijing*, 30 % относились к семейству B0/W148. Доля образцов, относившихся к генотипу *Beijing* и имевшая МЛУ / ШЛУ фенотип, составила 67,4 %. Все образцы (100 %) в исследуемой выборке, идентифицированные как генотип B0/W148, имели МЛУ- и ШЛУ-формы, что подтверждает значимость данного семейства. Для остальных генотипов подобные закономерности не выявлены.

Для определения возможности использования системы "ТБ-ТЕСТ" в клинической диагностике дополнительно было протестировано 46 образцов микобактериальной ДНК, выделенной из мокроты и бронхиальных смывов больных туберкулезом легких.

Таблица 2
Обобщенные результаты исследования маркеров ЛУ и генотипирования 265 образцов геномной ДНК *M. tuberculosis*, выделенной из чистой БК и КМ (мокроты и бронхиальных смывов)

Установленный фенотип	Генотипы, n											
	B0 / W148 <i>Beijing</i>		Другие <i>Beijing</i>		LAM		Ural		остальные		Всего	
	БК	КМ	БК	КМ	БК	КМ	БК	КМ	БК	КМ	БК	КМ
Чувствительные	0	0	8	1	2	0	3	0	28	2	41	3
Монорезистентные	0	0	4	0	2	0	1	0	6	0	13	0
Полирезистентные	1	0	2	0	1	0	0	0	1	0	5	0
МЛУ	23	2	46	0	4	1	9	0	30	1	112	4
ШЛУ	12	12	22	6	5	8	2	5	8	7	49	38
Всего	36	14	82	7	14	9	15	5	73	10	220	45

Примечание: БК – бактериальная культура; КМ – клинический материал.

Для 45 образцов были идентифицированы маркеры резистентности и принадлежность к тому или иному генотипу. В 1 образце, выделенном из бронхиальных смывов, ДНК отсутствовала. В анализируемой выборке было обнаружено 3 (6,7 %) чувствительных образца, 42 (93,3 %) образца имели МЛУ-фенотип, из них 90,5 % – ШЛУ. Также в данной выборке преобладал генотип *Beijing* (58,3 %). Обобщенные результаты исследования бактериальных культур и клинического материала представлены в табл. 2.

Таким образом, данный тест является экспресс-методом, позволяющим проводить раннюю диагностику МБТ в клиническом материале, не дожидаясь получения чистой культуры. Представленная технология для определения ЛУ *M. tuberculosis* обладает высокой производительностью, эффективностью, экономичностью и может стать приоритетной для использования в клинической лабораторной диагностике. Использование данной технологии позволит в перспективе осуществить динамическое наблюдение путей переноса возбудителя туберкулеза в регионе, улучшить систему эпиднадзора за туберкулезом и контроль эффективности лечения.

Заключение

Таким образом, экспериментальная тест-система "ТБ-ТЕСТ" отвечает требованиям фтизиопульмонологии и может найти широкое применение для исследования МБТ. Данная технология может быть использована как вспомогательный метод раннего выявления резистентных форм МБТ, что будет способствовать быстрому выбору правильной стратегии лечения и предотвращению распространения МЛУ / ШЛУ-форм.

Работа поддержана государственным контрактом с Министерством образования и науки РФ № 16.522.11.2003 и программой фундаментальных исследований Президиума РАН "Молекулярная и клеточная биология".

Литература

1. Бюллетень ВОЗ. Европейское региональное бюро ВОЗ; 2012: 90. http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/83803/1/9789244505113_rus.pdf
2. CDC. Notice to readers: Revised Definition of extensively drug-resistant tuberc. Morbid. Mortal. Wkly Rep. 2006; 55 (43): 1176.
3. Zignol M., Hosseini M. S., Wright A. et al. Global incidence of multidrug-resistant tuberculosis. Infect. Dis. 2006; 194: 479–485.
4. Нарвская О.В., Мокроусов И.В., Оттен Т.Ф. и др. Генетическое маркирование полирезистентных штаммов *Mycobacterium tuberculosis*, выделенных на Северо-Западе России. Пробл. туб. 1999; 3: 39–41.
5. Нарвская О.В. Генотипный полиморфизм *Mycobacterium tuberculosis* и его роль в эпидемическом процессе: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. СПб.; 2003.
6. Toungoussova O., Sandven P., Mariandyshv A. et al. Spread of drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* strains of the Beijing genotype in the Archangel Oblast, Russia. J. Clin. Microbiol. 2002; 40: 1930–1937.
7. Вишневский Б.И., Нарвская О.В., Васильева С.Н. и др. Вирулентность микобактерий туберкулеза. Пробл. туб. 2002; 10: 33–36.
8. Черноусова Л.Н., Андреевская С.Н., Смирнова Т.Г. и др. Биологические свойства штаммов *M. tuberculosis* кластера W. Пробл. туб. и бол. легких 2008; 10: 45–50.
9. Lopez B., Aguilar D., Orozco H. et al. A marked difference in pathogenesis and immune response induced by different *Mycobacterium tuberculosis* genotypes. Clin. Exp. Immunol. 2003; 133: 37.
10. Mokrousov I., Narvskaya O., Vyazovaya A. et al. *Mycobacterium tuberculosis* Beijing Genotype in Russia: in Search of Informative Variable-Number Tandem-Repeat Loci. J. Clin. Microbiol. 2008; 46: 3576–3584.
11. Kruuner A., Hoffner S. E., Sillastu H. et al. Spread of drug-resistant pulmonary tuberculosis in Estonia. J. Clin. Microbiol. 2001; 39: 3339–3345.
12. Gryadunov D., Dementieva E., Mikhailovich V. et al. Gel-based microarrays in clinical diagnostics in Russia. Exp. Rev. Mol. Diagn. 2011; 11 (8): 839–853
13. Gryadunov D., Mikhailovich V., Lapa S. et al. Evaluation of hybridisation on oligonucleotide microarrays for analysis of drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis*. Clin. Microbiol. Infect. 2005; 11: 531–539.
14. 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 Infect. Dis. 2013; 13: 240.
15. Mokrousov I., Otten T., Vyshnevskiy B. et al. Detection of embB306 mutations in ethambutol-susceptible clinical isolates of *Mycobacterium tuberculosis* from northwestern Russia: implications for genotypic resistance testing. J. Clin. Microbiol. 2002; 40: 3810–3813.
16. Hazbon M.H., Bobadilla del Valle M., Guerrero M.I. et al. Role of embB codon 306 mutations in *Mycobacterium tuberculosis* revisited: a novel association with broad drug resistance and IS6110 clustering rather than ethambutol resistance. Antimicrob. Agents Chemother. 2005; 49: 3794–3802.

Информация об авторах

Беспятых Юлия Андреевна – м. н. с. лаборатории молекулярной генетики микроорганизмов НИИ физико-химической медицины ФМБА России; тел.: 8 (909) 961-18-46; e-mail: Juliabespyatykh@gmail.com
 Шитиков Егор Александрович – науч. сотр. лаборатории молекулярной генетики микроорганизмов НИИ физико-химической медицины ФМБА России; тел.: 8 (916) 835-24-32; e-mail: Eshitikov@mail.ru
 Зименков Данила Вадимович – к. б. н., науч. сотр. лаборатории биологических микрочипов ФГБУН "Институт молекулярной биологии им. Энгельгардта" РАН; тел.: (499) 135-98-46; e-mail: z@biochip.ru
 Кулагина Елена Валерьевна – науч. сотр. лаборатории биологических микрочипов ФГБУН "Институт молекулярной биологии им. Энгельгардта" РАН; тел.: (499) 135-98-46; e-mail: elenka176@yandex.ru
 Грядун Дмтрий Александрович – к. б. н., ведущий научный сотрудник лаборатории биологических микрочипов ФГБУН "Институт молекулярной биологии им. Энгельгардта" РАН; тел.: (499) 135-98-46; e-mail: grad@biochip.ru
 Носова Елена Юрьевна – к. м. н., науч. сотр. Московского городского научно-практического центра борьбы с туберкулезом; тел.: (499) 268-01-31; e-mail: rna68@rambler.ru
 Букатина Анастасия Александровна – науч. сотр. Московского городского научно-практического центра борьбы с туберкулезом; тел.: (499) 268-01-31; e-mail: nastec@bk.ru
 Шульгина Марина Владимировна – д. б. н., руководитель лаборатории этиологической диагностики Санкт-Петербургского НИИ фтизиопульмонологии; тел.: (812) 579-24-21; e-mail: mshulgina@spbniif.ru
 Журавлев Валерий Юрьевич – к. м. н., в. н. с. лаборатории этиологической диагностики Санкт-Петербургский НИИ фтизиопульмонологии; тел.: (812) 579-24-21; e-mail: spbniif_all@mail.ru
 Ильина Елена Николаевна – д. б. н., зав. лабораторией молекулярной генетики микроорганизмов НИИ физико-химической медицины ФМБА России; тел.: (499) 245-04-70; e-mail: iilinaen@gmail.com

Поступила 09.07.13
 © Коллектив авторов, 2013
 УДК 579.873.21.04