

Генотипування штамів *M. tuberculosis* із застосуванням технології NGS на платформі Illumina MiSeq

Журило О.А.¹, Барбова А.І.¹, Чернов О.В.², Трофімова П.С.¹

1. ДУ «Національний науковий центр фтизіатрії, пульмонології та алергології ім. Ф.Г. Яновського НАМН України», м. Київ, Україна
2. Міжнародна організація PATH в Україні, м. Київ, Україна

Обґрунтування. Дослідження методом секвенування нового покоління (СНП) на основі технології NGS дають можливість швидко ідентифікувати генотипи збудника туберкульозу (ТБ), що є дуже важливим для молекулярної епідеміології, аналізу та прогнозування ситуації щодо тенденцій і динаміки подальшого поширення збудника ТБ у країні загалом, а також відкриває перспективи для ретельного аналізу спалахів інфекції в окремих медичних закладах.

Мета. Отримання достовірної інформації щодо результатів генетичної ідентифікації штамів *Mycobacterium tuberculosis* (МБТ), виділених від пацієнтів з новими випадками та рецидивами за допомогою сучасного методу СНП.

Матеріали та методи. Було досліджено 75 клінічних ізолятів МБТ з колекції лабораторії мікробіології Національного наукового центру фтизіатрії, пульмонології та алергології. Штами були виділені від пацієнтів до початку лікування, з наявною лікарською стійкістю за результатами фенотипового тесту медикаментозної чутливості в системі BACTEC 960 MGIT. Геномну ДНК виділяли за допомогою набору реагентів QIAamp DNA Mini Kit. Бібліотеки для SNP-аналізу готували зі зразків ДНК за допомогою наборів Nextera XT, DNA Sample Preparation Kit, а довжину фрагментів бібліотек визначали за допомогою Fragment Analyzer 5200. Секвенування проводили на платформі MiSeq (Illumina, США).

Лінії та сублінії МБТ для генотипової ідентифікації визначалися за допомогою модуля TBstrains, що входить до складу інструмента MTBseq. Філогенетична класифікація зразків відбувалася відповідно до філогенетично інформативних однонуклеотидних поліморфізмів (SNP) з літератури. Файл FASTA, створений MTBseq, використовувався як вхідні дані для програми побудови дерева Mega 11.

Для 75 штамів МБТ було проведено порівняльний аналіз, що забезпечувався модулями TBjoin, TBamend і TBgroups, які також входять до інструмента MTBseq. Генотипи були ідентифіковані в когорті пацієнтів за допомогою інструмента MTBseq. Отримано перелік фенотипових SNP (pSNP) для геномів МБТ.

Результати. Як видно з таблиці, серед 75 штамів МБТ, що були виділені в рідкому середовищі в апараті BACTEC

960 MGIT від пацієнтів з ТБ, 69 (92,0 %) ми ідентифікували як штами МБТ Beijing, які відомі своєю високою вірулентністю й асоціацією з лікарською стійкістю. З них 33 штами були класифіковані як такі, що належать до Центрально-азійської сублінії (Central Asia), 28 штамів – як такі, що належать до Europe/Russian W148 Outbreak, 7 штамів – як такі, що належать до складу Центральноазійського спалаху (CAO), 1 ізолят – з невизначеною сублінією. Решта 6 (8,0 %) пацієнтів були інфіковані іншими сублініями МБТ: 2 ізоляти, що належать до генотипу L4 Euro-American: Latin American-Mediterranean (LAM), іще 2 ізоляти – Haarlem та 1 ізолят, що належить до сублінії Ural. Для одного штаму сублінію визначити не вдалося.

Таблиця. Розподіл родовидів, отриманий за допомогою інструмента MTBseq

Генотип	Сублінії	Кількість штамів мікобактерій	
		абс.	%
L2 (Beijing)	Усього	69	92,0
	Central Asia	33	
	Europe/Russian W148 Outbreak	28	
	Central Asia outbreak (CAO)	7	
	Невідомо	1	
L4 (Euro-American)	Усього	6	8,0
	Ural	1	
	Haarlem	2	
	LAM	2	
	Невідомо	1	

Висновки. Молекулярне генотипування є важливим інструментом, який дає змогу отримувати інформацію не тільки про генотип збудника ТБ, а й про його генетичні сублінії, які можуть мати різні фенотипові характеристики, включно зі специфічним впливом на захворювання в клінічних умовах, передачу ТБ серед населення країни й іммігрантів і реактивацію туберкульозної інфекції. Отримання таких даних є корисним для охорони здоров'я та координації діяльності з контролю ТБ у країні.