

# МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ШТАММОВ *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS*, ЦИРКУЛИРУЮЩИХ НА ТЕРРИТОРИИ УРАЛЬСКОГО РЕГИОНА РОССИИ

Т.В. Умпелева<sup>1</sup>, М.А. Кравченко<sup>1</sup>, Н.И. Еремеева<sup>1</sup>, А.А. Вязовая<sup>2</sup>,  
О.В. Нарвская<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ Уральский НИИ фтизиопульмонологии МЗ РФ, г. Екатеринбург

<sup>2</sup>ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург

**Резюме.** Изучено 178 изолятов *M. tuberculosis*, выделенных в 2009–2011 гг. от впервые выявленных эпидемиологически несвязанных больных в Уральском регионе. Лекарственную чувствительность изолятов определяли культуральным методом и с помощью тест-системы «ТБ-БИОЧИП» для выявления мутаций, ассоциированных с резистентностью к изониазиду (гены *katG*, *inhA*) и рифампицину (ген *rpoB*). Генотипирование изолятов проведено с помощью тест-системы «Амплитуб-Beijing» и метода MIRU-VNTR (15 локусов), согласно «MIRU-VNTRplus» (<http://www.miru-vntrplus.org>). Доля изолятов группы Beijing составила 55,1% (98 из 178): из них более половины обладали множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ) преимущественно за счет мутаций *rpoB* Ser531→Leu и *katG* Ser315→Thr1. У изолятов Beijing выявлено 50 профилей VNTR. Самый крупный из 9 кластеров VNTR включал 23 (23,5%) изолята Beijing. У 80 изолятов nonBeijing выявлено 64 VNTR-профиля шести генетических групп: LAM, Ural, Haarlem и др. Доля мультирезистентных изолятов LAM и Ural составила 30,4 и 28,6% соответственно. Для 5 из 7 МЛУ изолятов LAM было характерно сочетание мутаций *rpoB* Asp516→Val и *katG* Ser315→Thr1, *inhA*\_T15. МЛУ изоляты Ural были наиболее гетерогенными по спектру мутаций в гене *rpoB*. Полученные данные свидетельствуют о неблагоприятной эпидемической ситуации по туберкулезу, которая характеризуется распространением мультирезистентных штаммов возбудителя различных генотипов в Уральском регионе. При этом в структуре популяции *M. tuberculosis* преобладают штаммы генетического семейства Beijing.

**Ключевые слова:** *Mycobacterium tuberculosis*, генотипирование, VNTR, ТБ-Биочип.

## MOLECULAR CHARACTERIZATION OF *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* STRAINS CIRCULATING IN THE URAL REGION, RUSSIA

Umpeleva T.V., Kravchenko M.A., Eremeeva N.I., Vyazovaya A.A., Narvskaya O.V.

**Abstract.** Overall 178 *Mycobacterium tuberculosis* isolates recovered in 2009–2011 from newly diagnosed epidemiologically unlinked to TB patients in the Ural region of Russia have been studied. The absolute concentration method was used for drug susceptibility testing. Mutations *katG*, *inhA* and *rpoB* associated with resistance to isoniazid and rifampicin were detected by microchip technology («TB-Biochip»). The isolates were genotyped by real-time PCR for the detection of Beijing/non-Beijing genotypes and 15-locus MIRU-VNTR typing according to «MIRU-VNTRplus» (<http://www.miru-vntrplus.org>). More than half (55.1%) of 178 isolates belonged to the Beijing family, 58.7% of them were multiple drug resistant (MDR) mostly due to *rpoB* Ser531→Leu and *katG* Ser315→Thr1 sub-

поступила в редакцию 19.02.2013  
отправлена на доработку 20.02.2013  
принята к печати 19.03.2013

© Умпелева Т.В. и соавт., 2013

### Адрес для переписки:

Умпелева Татьяна Валерьевна,  
младший научный сотрудник лаборатории  
экспериментальных и диагностических  
методов исследования ФГБУ УНИИФ МЗ РФ

620039, г. Екатеринбург,  
ул. 22 Партсъезда, 50, ФГБУ УНИИФ МЗ РФ.  
Тел.: (343) 333-44-66 (раб.).  
E-mail: tumpeleva@ya.ru

stitutions. Fifty VNTR profiles were found in 98 Beijing isolates; 57 of them grouped into 9 clusters. The largest VNTR cluster included 23 (23.5%) Beijing isolates and 21 of them were MDR. The 80 non-Beijing isolates showed 64 distinct VNTR patterns which belonged to 6 genetic families: LAM, Ural, Haarlem, etc. Among LAM and Ural isolates 30.4% and 28.6% were MDR, respectively. The 5 of 7 MDR LAM isolates had specific mutation profile: *rpoB*Asp516→Val substitution and mutations *katG*Ser315→Thr1 and *inhA*\_T15. The MDR Ural isolates showed the heterogeneity of mutations in *rpoB* gene compared to other genotypes. Taken together, these findings suggest the emergence and spread of MDR-TB in the Ural region which is characterized by circulation of MDR strains of different genotypes with the Beijing family genotype to be predominant. (*Infekc. immun.*, 2013, vol. 3, N 1, p. 21–28)

**Key words:** *Mycobacterium tuberculosis*, genotyping, VNTR, TB-Biochip.

## Введение

Согласно данным статистики за 2011 г., в Уральском регионе заболеваемость туберкулезом на 100 тыс. населения составила 81,6 против 84, 7 в 2010 г. На фоне снижения этого показателя увеличилась доля случаев туберкулеза с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ) возбудителя, которая составила 13,8% среди вновь выявленных больных туберкулезом органов дыхания против 11,6% в 2010 г. [6, 7].

В научной литературе имеются лишь единичные работы, посвященные характеристике популяции возбудителя туберкулеза в регионе. Так, еще в 2001–2002 гг. в Свердловской области было проведено MIRU-VNTR-генотипирование культур *Mycobacterium tuberculosis*, выделенных от 92 больных туберкулезом [8]. С тех пор были предложены новые схемы MIRU-VNTR-типирования и разработаны тест-системы и технологии для определения лекарственной чувствительности (ЛЧ) *M. tuberculosis* с использованием молекулярно-генетических методов.

Цель данной работы — изучить генетическую структуру популяции возбудителя туберкулеза на территории Уральского региона и определить спектр мутаций, ассоциированных с устойчивостью к рифампицину и изониазиду у штаммов *M. tuberculosis* различных генотипов.

## Материалы и методы

Изучено 178 изолятов *M. tuberculosis*, полученных в период с июня 2009 г. по ноябрь 2011 г. от 63 (35,3%) женщин и 115 (64,7%) мужчин в возрасте 18–86 лет, находившихся на лечении в УНИИФ и СОГУЗ ПТД по поводу туберкулеза легких. Все пациенты принадлежали к группе вновь выявленных больных, из них 16 (8,9%) были ВИЧ-позитивны. От 150 пациентов культуры микроорганизмов выделены до начала курса антибиотикотерапии.

Культивирование *M. tuberculosis* проводили на среде Левенштейна–Йенсена. Определение ЛЧ к противотуберкулезным препаратам (ПТП) осуществляли стандартным методом абсолютных концентраций. Изоляты считали мультирезистентными (МЛУ) при выявлении лекарственной устойчивости (ЛУ) к рифампицину и изониазиду одновременно.

Образцы ДНК получали из суспензии чистых культур *M. tuberculosis* в растворе, содержащем 9% NaCl и 20% глицерина, путем инкубации при 98°C в течении 30 мин.

Определение мутаций в генах *rpoB*, *katG* и *inhA*, обуславливающих лекарственную устойчивость к основным ПТП — рифампицину и изониазиду проводили с использованием тест-систем ТБ-Биочип (MDR), производства ООО «Биочип-ИМБ», Москва. Для первоначальной дифференциации изолятов на группы Beijing и non-Beijing методом ПЦР в режиме реального времени использовали тест-систему «Амплитуб-Beijing», ООО «Синтол», Москва. Изоляты *M. tuberculosis* типировали методом MIRU-VNTR, используя схемы на основе 15 локусов [12]. Принадлежность к генетической линии (lineage) проводили путем сравнения полученных MIRU-VNTR профилей изолятов с имеющимися в базе данных «MIRU-VNTRplus» (<http://www.miru-vntrplus.org>). Для оценки вариабельности генетических локусов использовали индекс Хантера–Гастона (HGDI), который рассчитывали с использованием алгоритма <http://www.hpa-bioinform>. Связи между изолятами графически отображали с помощью филогенетического древа, построенного с учетом полиморфизма локусов MIRU-VNTR («MIRU-VNTRplus»).

## Результаты

С помощью тест-системы «Амплитуб-Beijing» была определена принадлежность 178 культур *M. tuberculosis* к группам Beijing и non-Beijing, включавшим 98 (55,1%) и 75 изолятов соответственно. В пяти случаях результаты ПЦР

**ТАБЛИЦА 1. ОТНОШЕНИЕ ИЗОЛЯТОВ *M. TUBERCULOSIS* К ПРОТИВОТУБЕРКУЛЕЗНЫМ ПРЕПАРАТАМ ПЕРВОГО РЯДА (КУЛЬТУРАЛЬНЫЙ МЕТОД ИССЛЕДОВАНИЯ)**

Генотип	Число штаммов	Отношение к ПТП*							
		ЛЧ	МЛУ	S	H	R	H, S	H, E, S	R, E, S
Beijing	98	30	46	4	1		11	3	3
non-Beijing	80	46	15	3	4	1	10	1	

**Примечание.** \* устойчивость к стрептомицину — S, к изониазиду — H, к рифампицину — R, к этамбутолу — E.

были неоднозначны, однако MIRU-VNTR-типирование по 15 локусам позволило отнести все пять изолятов к группе non-Beijing. Таким образом, группа non-Beijing включала 80 (44,9%) изолятов.

По результатам культурального исследования лекарственно-чувствительными были 76 (42,7%) изолятов; ЛУ хотя бы к одному препарату проявляли 102 (57,3%) из 178 изолятов (табл. 1). Полирезистентными (устойчивыми одновременно к двум и более препаратам, за исключением рифампицина) были 28 (15,7%) изолятов. Как видно из табл. 1, МЛУ обладал 61 (34,3%) штамм, из них 75% принадлежали к группе Beijing.

Молекулярно-генетическое выявление мутаций устойчивости к рифампицину и изониазиду с помощью тест-системы «ТБ-Биочип» проведено у 174 изолятов (табл. 2). Из них 77 (44,3%) не имели мутаций, ассоциированных с резистентностью к рифампицину и изониазиду. Мутации в генах *rpoB*, *katG* и/или *inhA*, обуславливающих МЛУ, выявлены у 72 (41,4%) мультирезистентных штаммов, причем 57 (79,2%) из них принадлежали к группе Beijing. Как видно из табл. 2, у подавляющего большинства изолятов данной группы ( $n = 54$ ) МЛУ была связана с наличием замен Ser531→Leu и Ser315→Thr в генах *rpoB* и *katG* соответственно, в отличие от изолятов группы non-Beijing.

По результатам MIRU-VNTR типирования у 80 изолятов *M. tuberculosis* группы non-Beijing было определено 64 варианта VNTR профиля, которые, согласно «MIRU-VNTRplus», представляли шесть генетических линий: LAM, Ural, Haarlem, Tur, S и неклассифицируемые (Unknown).

Двадцать восемь изолятов, в том числе LAM, Ural и Unknown с одинаковыми числовыми профилями VNTR, были сгруппированы в 12 кластеров, содержащих по 2–4 изолята в каждом (рис. 1).

Анализ аллельного полиморфизма 15 MIRU-VNTR локусов показал, что все они, за исключением MIRU4 и QUB4156, являлись высокополиморфными у штаммов non-Beijing (табл. 3).

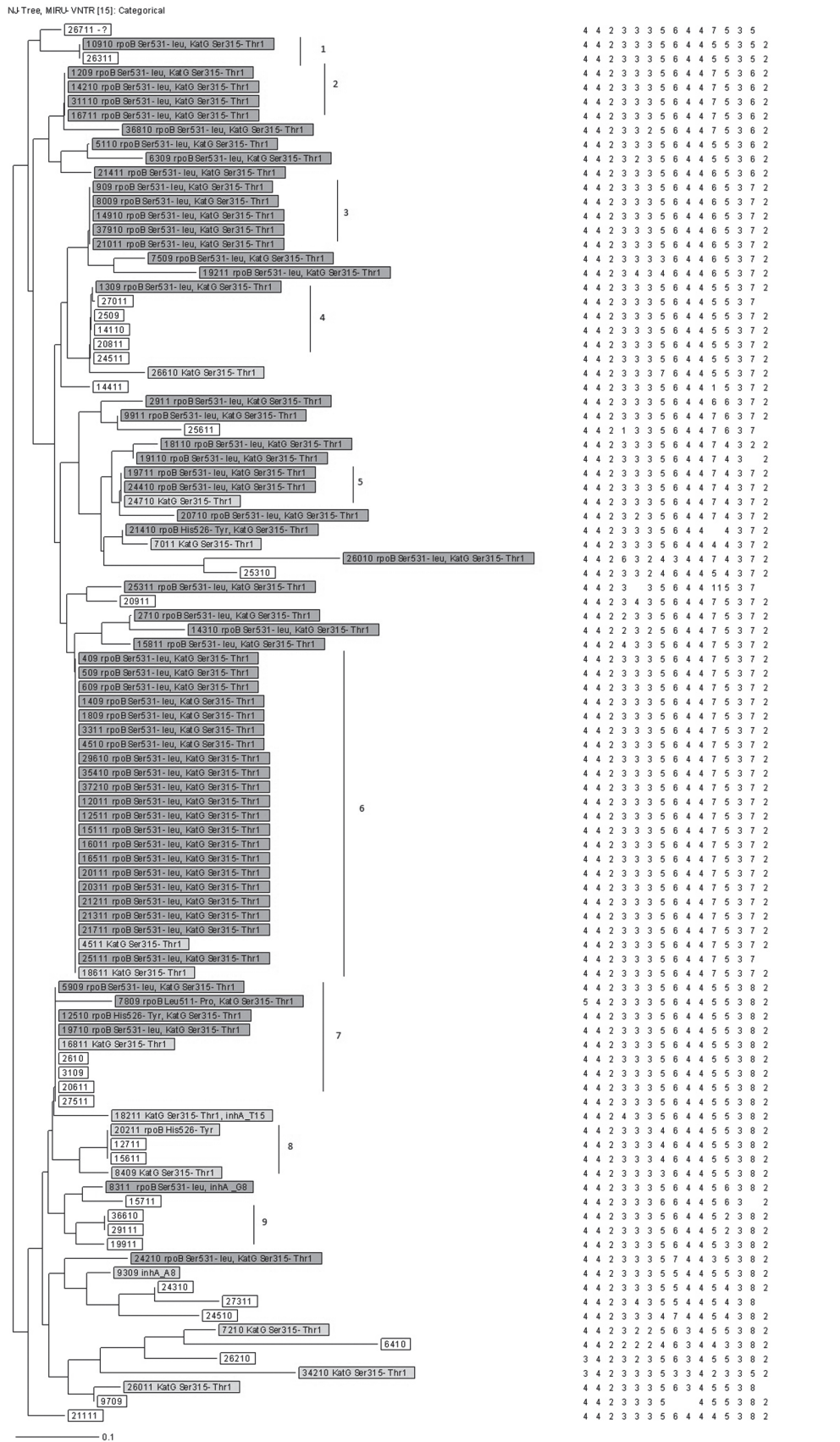
При сопоставлении данных генотипирования и результатов определения мутаций ЛУ было установлено, что из 23 изолятов LAM 7 (30,4%) проявляли МЛУ (табл. 2), причем пять из них имели замену *rpoB*Asp516→Val (устойчивость к рифампицину) и сочетание мутаций устойчивости к изониазиду: *katG*Ser315→Thr1 и *inhA*\_T15. При этом MIRU-VNTR профили трех изолятов были идентичны (кластер 6), но отличались по числу копий в локусах MIRU40, MIRU10 и MIRU26 от двух других изолятов (рис. 1).

В группе Ural ( $n = 21$ ) МЛУ обладали 6 (28,6%) изолятов (табл. 2; рис. 1). 9 из 10 изолятов, чувствительных к рифампицину и изониазиду,

**ТАБЛИЦА 2. СПЕКТР МУТАЦИЙ В ГЕНАХ *rpoB*, *katG* И *inhA* У ИЗОЛЯТОВ *M. TUBERCULOSIS***

Генетическое семейство	Число штаммов	Мутации в генах									
		<i>rpoB</i>					<i>katG</i>		<i>inhA</i>		
		Ser531-Leu	Leu511-Pro	Met515-Ile	Asp516-Val	His526-Tyr	Ser315-Thr1	Ser315-Thr2	T15	A8	G8
Beijing	97	54	1			3	67		1	1	1
non-Beijing	77	6	2	1	6		23	2	11		1
LAM	23	2			5		7	1	5		1
Ural	21	2	2	1	1		10	1	2		
Haarlem	14	1					1				
Tur	1	1					1				
S	1						1				
Unknown	17						3		4		





**Рисунок 2. Филогенетическое древо изолятов *M. tuberculosis* группы Beijing**

Слева: мутации устойчивости к рифампицину и изониазиду приведены в скобках после номера изолята; «?» — нет данных; оттенками серого выделены изоляты с одинаковым спектром мутаций; кластеры обозначены порядковыми номерами. Справа: цифрами показано число повторов в локусах (Mtub04, ETRC, MIRU04, MIRU40, MIRU10, MIRU16, Mtub21, QUB11b, ETRA, Mtub30, MIRU26, MIRU31, Mtub39, QUB26, QUB4156); пробел в цифровом профиле обозначает отсутствие продукта амплификации.

**ТАБЛИЦА 3. ВАРИАБЕЛЬНОСТЬ ЛОКУСОВ MIRU-VNTR ИЗОЛЯТОВ *M. TUBERCULOSIS***

Локус	non-Beijing		Beijing	
	HGI	число повторов	HGI	число повторов
QUB26	0,808	2–9	0,653	(2)5–8
MIRU 10	0,807	2–11	0,190	2–3
MIRU40	0,78	1–7	0,155	1–6
ETRC	0,745	2–5	0	4
ETRA	0,701	1–5	0,135	3–4
QUB 11b	0,692	1–7	0,173	3–7
MIRU26	0,691	1–7	0,653	1–7 (11)
MIRU16	0,688	1–5	0,134	2–3
Mtub 39	0,686	2–8	0	3
Mtub04	0,683	1–4	0,079	3–5
Mtub30	0,669	1–4(19)	0	4
MIRU31	0,606	1–5	0,409	2–6
Mtub21	0,574	1–4	0,241	3–7
QUB4156	0,26	2–3	0	2
MIRU4	0,097	1–3	0	2

содержали по восемь повторов в локусе QUB26, в то время как у изолятов, несущих мутации устойчивости к этим препаратам, число повторов в данном локусе отличалось от восьми. У двух изолятов, принадлежащих к группе Ural, локус MIRU10 содержал пять повторов.

Все изоляты группы Haarlem ( $n = 14$ ), за исключением одного, не содержали мутаций устойчивости к рифампицину и изониазиду.

У 98 изолятов группы Beijing, выявлено 50 VNTR профилей; 57 из них входили в состав 9 кластеров, включавших от двух до нескольких десятков изолятов (рис. 2). Из рис. 2 видно, что самый многочисленный кластер 6 (числовой профиль 4,4,2,3,3,3,5,6,4,4,7,5,3,7,2) объединял 23 (23,5%) изолята. Локусы MIRU26, QUB26, MIRU31 имели наибольшие значения HGI — 0,654, 0,597, 0,409 соответственно; остальные локусы были мономорфными (табл. 3). Доля МЛУ изолятов Beijing составила 58,7% (57 из 97), причем 54 (91,2%) из них имели сочетание мутаций *rpoB* Ser531→Leu и *katG* Ser315→Thr1 (табл. 2).

## Обсуждение

В популяции *M. tuberculosis* Уральского региона на протяжении 10 лет доминируют штаммы генетического семейства Beijing, причем их доля остается практически неизменной: 54,3% — в 2001–2002 гг. [8] и 55,1% — в 2009–2011 гг. Частота МЛУ среди штаммов Beijing достигает 58,7%, преимущественно за счет соче-

тания замен *rpoB*Ser531→Leu и *katG*Ser315→Thr, что согласуется с данными, полученными в других регионах России [1, 2, 4, 5]. Показано, что эти хромосомные мутации формирующие МЛУ, обеспечивают устойчивость к высоким концентрациям рифампицина и изониазида *in vitro*, не снижая жизнеспособности и вирулентности микроорганизма [4]. Широкая циркуляция мультирезистентных штаммов возбудителя туберкулеза диктует необходимость быстрого определения их принадлежности к эпидемиологически значимым генотипам (Beijing). В настоящем исследовании первичная дифференциация изолятов на группы Beijing и non-Beijing была успешно осуществлена с помощью тест-системы «Амплитуб-Beijing».

При генотипировании изолятов *M. tuberculosis* группы Beijing Уральского региона методом MIRU-VNTR, наиболее информативными оказались локусы MIRU26 и QUB26, что наблюдалось и в Северо-Западном регионе России [3, 10]

Из девяти MIRU-VNTR кластеров группы Beijing наиболее крупный (кластер 6) включал 23,5% изолятов, для которых было характерно наличие семи повторов в локусах MIRU26 и QUB26 и пяти повторов в локусе MIRU31 (рис. 2). Изоляты этого кластера, за исключением двух, обладали МЛУ за счет сочетания замен *rpoB*Ser531→Leu и *katG*Ser315→Thr. Для доказательства генетической однородности изолятов, принадлежавших к данному кластеру, необходимы дополнительные исследования с использованием гипервариабельных локусов QUB-3232, VNTR-3820, VNTR-4120 [10], а также генотипирование методом IS6110-RFLP.

Локусы Mtub39, Mtub30, MIRU4, ETRC, QUB4156 были мономорфными (табл. 3), поэтому их применение для генотипирования изолятов группы Beijing в Уральском регионе представляется не информативным.

Сравнение значений HGI при оценке вариабельности генетических локусов, изученных нами и опубликованных ранее данных для группы Beijing по Северо-Западному региону России [6], выявило более высокую (0,409 против 0,160) степень полиморфизма в локусе MIRU31 у изолятов из Уральского региона, что, по-видимому, отражает региональные особенности популяций возбудителя туберкулеза.

Для дифференциации изолятов группы non-Beijing было достаточно набора 13 из 15 MIRU-VNTR локусов. Поскольку база данных «MIRU-VNTRplus» не является обновляемой

и содержит информацию о MIRU-VNTR профилях только 186 изолятов, определить принадлежность к генетической линии 18 изолятов non-Beijing не удалось. Для более полной характеристики вариабельности этой группы изолятов необходимо дополнительно использовать другой метод генотипирования — сполготипирование.

Наибольшее число изолятов группы non-Beijing принадлежало генетической линии LAM (31,3%). Из них, 30,4% были мультирезистентными за счет характерного сочетания мутаций *katG* Ser315→Thr1, *inhA*\_T15 (устойчивость к изониазиду) и *rpoB* Asp516→Val (устойчивость к рифампицину). Недавно такой спектр мутаций был выявлен у штаммов LAM в Псковской области [1].

Еще в 2005 г. С.Ю. Ковалев с соавт., используя 12-локусную схему MIRU-VNTR-типирования 92 изолятов, продемонстрировали обособленность ветви, формируемой штаммами Ural, от ветвей других генетических семейств на филогенетическом древе [8]. Изначально критериями принадлежности к данному генотипу считали наличие одного повтора в локусе MIRU26 и не менее шести повторов в локусе MIRU10 [8], однако недавно описано присутствие трех и четырех повторов в локусе MIRU10 у штаммов, циркулирующих на территории Сибири [5] и в Киргизии [11]. В настоящем исследовании были выявлены изоляты, содержащие пять повторов в локусе MIRU10. Таким образом, по нашему мнению, существенный полиморфизм данного локуса не позволяет использовать его в качестве критерия принадлежности изолята к генотипу Ural [9]. Интересно отметить, что для изолятов Ural, чувствительных к рифампицину и изониазиду, было характерно наличие восьми повторов в локусе QUB26. В нашем исследовании, включавшем 178 культур *M. tuberculosis*, доля изолятов генотипа Ural составила 11,8%, причем 28,6% из них обладали МЛУ за счет различных мутаций, ассоциированных с устойчивостью к рифампицину и изониазиду. При этом генотип Ural по сравнению с другими генотипами был наиболее гетерогенным по спектру мутаций в гене *rpoB* у мультирезистентных изолятов (табл. 2).

Полученные данные свидетельствуют о неблагоприятной эпидемической ситуации по туберкулезу, которая характеризуется распространением мультирезистентных штаммов возбудителя различных генотипов в Уральском регионе. При этом в структуре популяции *M. tuberculosis* преобладают штаммы генетического семейства Beijing.

## Список литературы

1. Вязовая А.А., Журавлев В.Ю., Мокроусов И.В., Оттен Т.Ф., Павлова Е.П., Кришевич В.В., Вишневецкий Б.И., Нарвская О.В. Характеристика штаммов *Mycobacterium tuberculosis*, циркулирующих в Псковской области // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. — 2011. — № 6. — С. 27–31.
2. Медведева Т.В., Огарков О.Б., Некипелов О.М., Ушаков И.В., Козьякова Е.С., Скворцова Р.Г. MIRU-VNTR-генотипирование штаммов *Mycobacterium tuberculosis* в Восточной Сибири: семейство Beijing против Kilimanjaro // Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. — 2004. — № 4. — С. 33–37.
3. Мокроусов И.В., Вязовая А.А., Старкова Д.А., Нарвская О.В. Высокоразрешающее типирование штаммов генотипа Beijing российской популяции *Mycobacterium tuberculosis* // Туберкулез и болезни легких. — № 7. — С. 46–53.
4. Нарвская О.В. Геномный полиморфизм *Mycobacterium tuberculosis* и его значение в эпидемическом процессе: автореф. дис. ... д-ра мед. наук. — СПб., 2003. — 35 с.
5. Огарков О.Б., Медведева Т.В., Zozio T., Погорелов В.И., Некипелов О.М., Гутникова М.Ю., Купцевич Н.Ю., Ушаков И.В., Sola C. Молекулярное типирование штаммов микобактерий туберкулеза в Иркутской области (Восточная Сибирь) в 2000–2005 гг. // Молекулярная медицина. — 2008. — № 2. — С. 33–38.
6. Туберкулез в Российской Федерации, 2010 г. Аналитический обзор статистических показателей, используемых в Российской Федерации. — М., 2011. — 280 с.
7. Эпидемиологическая ситуация и деятельность противотуберкулезной службы на Урале в 2011 г. / под ред. С.Н. Скорнякова. — Екатеринбург: Локомотив, 2012. — 249 с.
8. Kovalev S.Y., Kamaev E.Y., Kravchenko M.A., Kurepina N.E., Skorniakov S.N. Genetic analysis of *Mycobacterium tuberculosis* strains isolated in Ural region, Russian Federation, by MIRU-VNTR genotyping // Int. J. Tuberc. Lung Dis. — 2005. — Vol. 9 (7). — P. 746–752.
9. Mokrousov I. The quiet and controversial: Ural family of *Mycobacterium tuberculosis* // Infect. Genet. Evol. — 2012. — N 12. — P. 619–629.
10. Mokrousov I., Narvskaya O., Vyazovaya A., Millet J., Otten T., Vishnevsky B., Rastogi N. *Mycobacterium tuberculosis* Beijing genotype in Russia: in search of informative variable-number tandem-repe at loci // J. Clin. Microbiol. — 2008. — Vol. 46 (11). — P. 3576–3584.
11. Mokrousov I., Valcheva V., Sovhozova N., Aldashev A., Rastogi N., Isakova J. Penitentiary population of *Mycobacterium tuberculosis* in Kyrgyzstan: exceptionally high prevalence of the Beijing genotype and its Rus-

- sia-specific subtype // *Infect. Genet. Evol.* — 2009. — Vol. 9. — P. 1400–1405.
12. Supply P., Allix C., Lesjean S, Cardoso-Oelemann M., Rusch-Gerdes S., Willery E., Savine E., Haas P., van Deutekom H., Roring S, Bifani P., Kurepina N., Kreiswirth B., Sola C., Rastogi N., Vatin V., Gutierrez M., Fauville M., Niemann S., Skuce R., Kremer K., Locht C., van Soolingen D. 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.