



УДК 615.281.015.8:579.873.2

**В. Ніколаєвський<sup>1</sup>**, канд. мед. наук, доц.,  
**П. Б. Антоненко<sup>2</sup>**, д-р мед. наук, проф.,  
**Ю. І. Бажора<sup>2</sup>**, д-р мед. наук, проф.,  
**F. Drobniewski<sup>1</sup>**, MD, PhD, prof.

## ЗАСТОСУВАННЯ ГЕНОМНОГО СЕКВЕНУВАННЯ *M. TUBERCULOSIS* У ПРАКТИЧНІЙ ЕПІДЕМІОЛОГІЇ ТУБЕРКУЛЬОЗУ (ОГЛЯД)

<sup>1</sup> Imperial College, Лондон, Велика Британія,

<sup>2</sup> Одеський національний медичний університет, Одеса, Україна

УДК 615.281.015.8:579.873.2

**В. Ніколаєвський<sup>1</sup>**, **П. Б. Антоненко<sup>2</sup>**, **Ю. І. Бажора<sup>2</sup>**, **F. Drobniewski<sup>1</sup>**  
**ЗАСТОСУВАННЯ ГЕНОМНОГО СЕКВЕНУВАННЯ *M. TUBERCULOSIS***  
**У ПРАКТИЧНІЙ ЕПІДЕМІОЛОГІЇ ТУБЕРКУЛЬОЗУ (ОГЛЯД)**

<sup>1</sup> Imperial College, Лондон, Велика Британія,

<sup>2</sup> Одеський національний медичний університет, Одеса, Україна

Відстеження контактів разом з генотипуванням є важливими засобами з'ясування передачі туберкульозу (ТБ) від людини до людини. Роль і місце повного секвенування геному (ПСГ) *M. tuberculosis* в епідеміологічних дослідженнях, особливо на популяційному рівні та у різних груп ризику вивчені недостатньо. Цей систематизований огляд має за мету визначити чутливість і специфічність ПСГ для виявлення недавньої передачі ТБ з використанням звичайної епідеміології як «золотого стандарту» і дослідити, чи ПСГ ідентифікує раніше незафіксовані факти передачі.

Систематизований огляд був проведений відповідно до критеріїв бажаних елементів звітності для систематизованих оглядів і метааналітичних досліджень. Змішана стратегія пошуку була розроблена для виявлення всіх відповідних досліджень, опублікованих в період з 01.01.2005 по 30.11.2014 з використанням трьох баз даних у мережі Інтернет. Публікації, що відповідали спеціальним критеріям, були виявлені та їх дані були використані в огляді.

Загалом було включено 12 публікацій. Установлено, що ПСГ має більш високу дискримінаційну здатність порівняно зі звичайними методами генотипування та виявляє випадки передачі, які були прогаяні епідеміологічними дослідженнями. Генетична відстань < 6 SNP (однонуклеотидних поліморфізмів) між ізолятами є прогностичним показником нещодавньої передачі збудника ТБ. Жодне з досліджень не проводилося шляхом прямого порівняння між ПСГ і звичайним генотипуванням з використанням невибіркового проспективного збору ізолятів. Були запропоновані мінімальні критерії звітності та параметри контролю якості для вивчення ПСГ.

**Ключові слова:** туберкульоз, епідеміологія, передача, секвенування наступного покоління.

UDC 615.281.015.8:579.873.2

**V. Nikolayevskyy<sup>1</sup>**, **P. B. Antonenko<sup>2</sup>**, **Yu. I. Bazhora<sup>2</sup>**, **F. Drobniewski<sup>1</sup>**  
**APPLICATION OF WHOLE GENOME SEQUENCING OF *M. TUBERCULOSIS***  
**IN PRACTICAL EPIDEMIOLOGY OF TUBERCULOSIS (REVIEW)**

<sup>1</sup> Imperial College, London, Great Britain,

<sup>2</sup> The Odessa National Medical University, Odessa, Ukraine

Contact tracing complemented with genotyping is considered an important means of understanding person-to-person transmission of tuberculosis (TB). It still remains unclear whether Whole Genome Sequencing (WGS) of *M. tuberculosis* can rule in transmission and how it performs in different human populations, risk groups and across TB lineages. This systematic review aimed to determine the sensitivity and specificity of WGS for detection of recent transmission using conventional epidemiology as the gold standard and investigate if WGS identifies previously undetected transmission events.

Systematic review was conducted according to the criteria of the Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses group. A compound search strategy was developed to identify all relevant studies published between 01/01/2005 and 30/11/2014 using three online databases. Publications satisfying specific criteria have been identified and data extracted.

A total of 12 publications were included. We established that WGS has a higher discriminatory power compared to conventional genotyping and detects transmission events missed by epidemiological investigations. A cut-off value of <6 SNPs between isolates may predict recent transmission. None of the studies performed a head-to-head comparison between WGS and conventional genotyping using unselected prospectively collected isolates. Minimum reporting criteria for WGS studies have been proposed and quality control parameters considered.

**Key words:** tuberculosis, epidemiology, transmission, next generation sequencing.

## Вступ

Туберкульоз (ТБ) залишається серйозною проблемою охорони громадського здоров'я, що спричиняє смерть понад 1,7 млн осіб на рік [1]. Поширення ТБ, стійкого до багатьох лікарських препаратів, зумовлює необхідність поліпшення діагностики, лікування, профілактики і нашого розуміння його передачі на популяційному рівні.

З 1990-х років молекулярні епідеміологічні дослідження дозволили отримати цінну інформацію з філогеографії комплексу *Mycobacterium tuberculosis* (МТВС), його еволюційних шляхів, поширеності та внутрішньолікарняної передачі, що допомагає розрізнити реінфекцію від реактивації, а також виявити лабораторну перехресну контамінацію [2–5]. Відстеження контактів, доповнене генотипуванням МТВС, вважається важливим засобом розуміння передачі інфекції від людини до людини. Однак через обмеження ресурсів у національному масштабі проспективне генотипування було реалізоване тільки в деяких країнах з високим рівнем доходу, таких як Велика Британія, Нідерланди, Фінляндія і США [6–9]. Не зовсім зрозуміло, чи є генотипування саме по собі економічно ефективним і чи має будь-які додаткові переваги над відстеженням контактів з негайною реакцією громадської охорони здоров'я [6]. У східноєвропейських країнах (включно з Україною) систематичне генотипування МТВС не проводиться, але наявні дані свідчать про досить високу поширеність штамів родини Beijing в Україні (Nikolayevskyy et al., 2007).

За останні два десятиліття методи генотипування МТВС еволюціонували від методів, не пов'язаних з полімеразною ланцюговою реакцією (ПЛР), до більш відтворюваних і менш громіздких методів, таких як споліготипування і MIRU-VNTR-типсування за 24 локусами (*Mycobacterium Interspersed Repetitive Units* — вставлені одиниці мікобактерій, що повторюються; *Variable Number Tandem Repeats* — варіативна кількість тандемних повторів). Ці методи використовують варіативність повторюваних послідовностей у штамів МТВС і видають результати у цифровому форматі, що зумовлює портативність даних і можливість створення національних і міжнародних баз для практичних та дослідних цілей [10]. MIRU-VNTR-генотипування з використанням стандартного набору 24 локусів сьогодні використовується для рутинного генотипування МТВС у багатьох країнах світу [11; 12]. Онлайн-інструменти аналізу для ідентифікації походження штамів доступні через Інтернет-бази даних, наприклад, MIRU-VNTRplus ([www.miru-vntrplus.org](http://www.miru-vntrplus.org)) або SITVIT-WEB ([www.pasteur-guadeloupe.fr:8081/SITVIT\\_ONLINE/](http://www.pasteur-guadeloupe.fr:8081/SITVIT_ONLINE/)) [13].

Хоча запровадження MIRU-VNTR-генотипування значно підвищило наші знання про філо-

генез і глобальну передачу МТВС, його дискримінаційна здатність для проспективних епідеміологічних досліджень за деяких обставин може бути обмеженою. Це є дієвий спосіб, щоб виключити передачу в епідеміологічно пов'язаних випадках, але значно складніше підтвердити факт передачі збудника, особливо в ендемічних районах і/або там, де високо консервативні генотипи (наприклад Beijing) переважають [14–16]. Хоча молекулярний годинник VNTR вважається відносно повільним, є деякі свідчення, що профілі VNTR змінюються як усередині окремих осіб, так і шляхом передачі, як показано під час тривалих спалахів [16; 17].

Повне секвенування геному (ПСГ) на основі технології секвенування наступного покоління (СНП) відкриває нові можливості як у галузі наукових досліджень, так і охорони громадського здоров'я, включаючи лабораторну діагностику та молекулярну епідеміологію ТБ [2; 5; 18]. Технологія СНП дозволяє проводити секвенування майже повних геномів багатьох штамів одночасно, що економить час, спрощує робочий процес і надає значно більше інформації порівняно з традиційними методами [18; 19]. Метод ПСГ дає можливість з високою точністю ідентифікувати різні поліморфізми, включаючи SNP і вставки, що є потенційно важливими для епідеміології, діагностики, виявлення медикаментозної резистентності та філогенетичних досліджень [2; 20].

Останнім десятиліттям спостерігається значне розширення можливостей секвенування, поліпшення його доступності для звичайних лабораторій, але головним чином у країнах із високим рівнем доходу. Нині розроблюються зразки технологічних платформ за різноманітними принципами включно з технологіями секвенування однієї молекули [20; 21].

Після першої хвилі досліджень з використанням ПСГ [22], у кількох дослідженнях показана корисність ПСГ для епідеміологічних досліджень [16; 23; 24]. Ці дослідження дозволяють припустити, що ПСГ має більшу дискримінаційну здатність, ніж VNTR-типсування, а також сприяє підвищенню точності досліджень, виявляє помилкові кластери і, що дуже важливо, потенційно економить гроші та ресурси системи охорони громадського здоров'я шляхом запобігання зайвим діям [16]. Частоту мутації геному *M. tuberculosis* було оцінено у 0,5 одиночних нуклеотидних поліморфізмів (SNP) на геном за рік і запропоновано поріг генетичної відстані менше ніж 6 SNP для штамів прямої від людини до людини передачі, що припускає недавню передачу збудника [16; 25]. Важливо відзначити, що дані, отримані за допомогою ПСГ, мають подвійне призначення і також надають важливу інформацію про мутації, пов'язані з медикаментозною резистентністю, що потенційно робить його універсальним інструментом у лабораторній діагностиці ТБ [2; 5; 18].

Залишається неясним, чи може ПСГ більш надійно підтвердити передачу штаму збудника і чи є воно досить специфічним, щоб виявити випадки, які справді залучені в нещодавній ланцюг передачі. Значення класичних методів генотипування в епідеміологічних дослідженнях ТБ добре відоме, тимчасом як роль ПСГ ще не була точно визначена. У подальшому необхідно визначити, чи є однаковою чутливість і специфічність генотипування методом ПСГ у різних популяціях людей, групах ризику і за походженням штаму ТБ. Для вирішення цих питань ми провели системний огляд з метою визначення чутливості та специфічності ПСГ для виявлення останніх ланок ланцюжка передачі збудника з використанням епідеміологічних даних, визнаних як «золотий стандарт». Крім того, ми дослідили, чи надає будь-яку додаткову інформацію ПСГ порівняно з класичним генотипуванням або певною епідеміологією стосовно виявлення раніше незафіксованих фактів передачі збудника і/або виключення факту передачі інфекції від людини до людини.

#### Матеріали та методи дослідження

Цей системний огляд був проведений відповідно до рекомендованих критеріїв звітності для системних оглядів і метааналізів [26]. Протокол був зареєстрований PROSPERO (реєстраційний номер CRD42015023675).

**Критерії включення та виключення.** Дослідження, проведені методами поперечного зрізу та когортного аналізу, опубліковані з 1 січня 2005 р. по 30 листопада 2014 р., були залучені до роботи, якщо вони включали хворих на ТБ, які виділяли збудника ТБ за даними культурального методу. Жодних географічних або мовних обмежень не застосовувалося.

Дослідження включали в огляд, якщо були доступні дані ПСГ, молекулярного генотипування ізолятів комплексу *M. tuberculosis* (IS6110 RFLP і/або мультилокусне VNTR-типування) і звичайні епідеміологічні дані, що визначають ланцюг передачі, факт передачі та спалахи поширення. Оглядові статті та дослідження з неповними наборами даних були виключені.

**Оцінювання результатів.** Фіксувалися такі види результатів:

— кількість фактів передачі виявлених ПСГ і/або генотипуванням, підтверджена звичайними епідеміологічними даними;

— характеристики виконання ПСГ (чутливість, специфічність, позитивне і негативне прогностичне значення (PPV, NPV)) порівняно зі звичайними епідеміологічними даними;

— кількість ланцюгів підкластерів/передач, визначених з використанням ПСГ, серед оригінальних RFLP (поліморфізм довжини рестрикційних фрагментів) і/або VNTR визначених кластерів.

**Стратегія пошуку.** Комплексна пошукова стратегія була розроблена з метою виявлення

всіх відповідних досліджень, незалежно від мови або статусу публікації, з використанням MEDLINE (OVID), EMBASE (OVID), і веб-електронних баз даних Science (табл. 1 і 2). Усі посилання, ідентифіковані комплексною пошуковою системою, були імпортовані в EndNote. Дублікати видалені. Назви і реферати розглянуті в двох примірниках двома авторами, і роботи, що не стосуються дослідження, були виключені. Повні тексти всіх потенційно відповідних досліджень отримані, а критерії включення застосовані з використанням стандартизованої форми залучення. Задля відповідності оригінальним критеріям залучення довідкові списки всіх досліджень, визначених зазначеними вище способами, бібліографії оглядів і редакційних статей розглянуті, додаткові посилання були виявлені [27]. Остаточне узгодження щодо залучення до дослідження було визначено на основі консенсусу між двома авторами.

**Екстракція даних.** Виконана незалежно, в двох примірниках, з використанням стандартної форми екстракції даних. Екстрагували такі дані: рік, установа (країна, місто), тривалість відбору проб, кількість ізолятів, що включено, група ризику/популяційний статус і генетичний родовід, первинний і вторинний (якщо такий є) метод генотипування, що використано, оцінювання наслідків. Крім того, були екстраговані відповідні технічні деталі, такі як платформа ПСГ, генетичні відстані SNP у межах епідеміологічно і генотипічно пов'язаних суб'єктів, охоплення геному/глибини секвенування, критерії контролю якості, а також критерії виключення/включення, які застосовувалися для найменування поліморфізмів.

**Аналіз.** Була побудована діаграма PRISMA (рис. 1). Чутливість і специфічність методів MIRU-VNTR і ПСГ порівняно з традиційною епідеміологією були розраховані з використанням таких припущень і визначення:

1. Кількість епідеміологічних зв'язків, визначених генотипуванням: хоча деякі пацієнти можуть бути пов'язані з більше ніж одним пацієнтом і кількість парних комбінацій у RFLP/VNTR-кластерах з однаковими профілями в теорії може сягати сотень або тисяч, для цілей цього огляду ми прийняли раніше описаний підхід [16] і передбачається, що кількість зв'язків, визначених генотипуванням, дорівнювала кількості штамів у межах кластера мінус один; застосували це визначення для всіх досліджень щодо розрахунку чутливості та специфічності.

2. Кількість зв'язків, виявлених ПСГ: на відміну від генотипу, ПСГ може дозволити визначити напрямок передачі. Навіть близько генетично пов'язані штами (тобто генетична відстань у межах 0...5 SNP) може не бути фактом дійсної прямої передачі. Для цілей цього огляду ми припустили, що будь-які два штами в межах генетичної відстані 5 SNP (геномно-зв'язані) можуть бути залучені у прямій передачі. Тому в цьому огляді

## Загальна характеристика досліджень

| Публікація              | Метод первинного генотипування, що використаний | Епідеміологічні методи                                    | Країна         | Група ризику  | Генетичні групи <i>M. tuberculosis</i>  | Тривалість збору зразків |
|-------------------------|---|---|----------------|---|---|--------------------------|
| Schurch et al., 2010a   | IS6110 RFLP                                     | Відстеження контактів, інтерв'ю                           | Нідерланди     | Не повідомляється   | Не повідомляється   | 13 років                 |
| Schurch et al., 2010b   | IS6110 RFLP, 24 VNTR, споліготипування          | Відстеження контактів, інтерв'ю                           | Нідерланди     | Не повідомляється   | Не повідомляється   | 13 років                 |
| Gardy et al., 2011      | 24 VNTR   | Відстеження контактів, інтерв'ю, аналіз соціальної мережі | Канада         | Виключено ВІЛ-інфікованих   | Не повідомляється   | 30 міс.                  |
| Bryant et al., 2013     | IS6110 RFLP                                     | Відстеження контактів, інтерв'ю, принцип «навмання»       | Нідерланди     | Не повідомляється   | Євро-американська, східно-азійська, східно-африканська, індійська, індо-океанічна | 16 років                 |
| Luo et al., 2013        | 16 + 2 VNTR, 6 SNP                              | Відстеження контактів, інтерв'ю, аналіз соціальної мережі | Китай          | Не повідомляється   | Східно-азійська (сучасні підроди родини Beijing)                                  | 18 міс.                  |
| Kato-Maeda et al., 2013 | IS6110 RFLP, 12 VNTR, споліготипування          | Відстеження контактів, інтерв'ю                           | США            | Народжені за кордоном особи, етнічні меншини  | Євро-американська   | 22 міс.                  |
| Roetzer et al., 2013    | IS6110 RFLP                                     | Відстеження контактів, інтерв'ю                           | Німеччина      | Спалах пов'язаний з популяціями, що мають високий ризик (безхатченки, ті, що зловживають алкоголем) | Євро-американська   | 13 років                 |
| Torok et al., 2013      | 24 VNTR   | Відстеження контактів, інтерв'ю                           | Великобританія | Народжені за кордоном особи   | Східно-азійська (родина Beijing)  | —                        |
| Walker et al., 2013     | 15 або 24 VNTR                                  | Відстеження контактів, інтерв'ю                           | Великобританія | Не повідомляється   | Усі головні родовиди, <i>M. bovis</i> і <i>M. africanum</i>                       | 12 років                 |
| Kohl et al., 2014       | IS6110 RFLP, споліготипування                   | Відстеження контактів, інтерв'ю                           | Німеччина      | Не повідомляється   | Євро-американська   | 10 років                 |
| Mehaffy et al., 2014    | 24 VNTR, споліготипування                       | Відстеження контактів, інтерв'ю                           | Канада         | Спалах пов'язаний з популяціями, що мають високий ризик (безхатченки/ ВІЛ-інфіковані, наркозалежні) | Не повідомляється   | 17 років                 |
| Walker et al., 2014     | —   | Відстеження контактів, інтерв'ю                           | Великобританія | Не повідомляється   | Усі головні роди  | —                        |

Примітка. Тривалість збору зразків — найдовший часовий інтервал між ізолятами в можливому спалаху.

## Основні висновки

| Публікація              | Кількість секвенованих ізолятів  | Кількість епід. зв'язків | Кількість зв'язків, ідентифікованих ПСГ (генетична відстань < 6 SNP) | Кількість зв'язків, підтверджених генотипуванням <sup>a</sup> | Кількість зв'язків, ідентифікованих ПСГ (генетична відстань < 6 SNP) і підтверджених епідеміологічно | Чутливість і специфічність ПСГ <sup>c</sup> (генетична відстань < 6 SNP), % |
|-------------------------|--|--------------------------|--|---|--|---|
| Schurch et al., 2010a   | 3 (один RFLP-кластер)  | 2                        | 2  | 2   | 2  | 100   |
| Schurch et al., 2010b   | 2 (один RFLP/VNTR/сполігокластер)  | 1                        | 1  | 1   | 1  | 100<br>—  |
| Gardy et al., 2011      | 36 (один VNTR/RFLP-кластер)  | 19                       | —  | 35  | —  | —<br>—  |
| Bryant et al., 2013     | 199 (42 RFLP-кластери)   | 97                       | 149 <sup>b,e</sup>   | 157   | 89 <sup>e</sup>  | 91,8<br>—   |
| Luo et al., 2013        | 323 (16 VNTR-кластери)   | 24                       | 10   | 29  | 10   | 100<br>95,0   |
| Kato-Maeda et al., 2013 | 9 (один генотипований кластер)   | 7                        | 10   | 8   | 7  | 100<br>—  |
| Roetzer et al., 2013    | 86 (один RFLP-кластер; VNTR далі підрозділяються на 5 груп)                                    | 31                       | 85   | 85  | 31   | 100<br>—  |
| Torok et al., 2013      | 2 (один 24 VNTR-кластер)   | 0                        | 1  | 1   |  | —<br>—  |
| Walker et al., 2013     | 217 з 168 пацієнтів серед 11 VNTR-кластерів (6...47 випадків)                                  | 69                       | 142  | 157   | 69   | 100,0<br>17,0   |
| Kohl et al., 2014       | 26 (один RFLP/сполігокластер)  | 14                       | 22   | 25  | 14   | 100<br>27,2   |
| Mehaffy et al., 2014    | 56 (один VNTR/сполігогенотипований кластер, розділений на псевдокластери, використовуючи RFLP) | 18                       | 39   | 55  | 18   | 100<br>29,2   |
| Walker et al., 2014     | 247  | 28 <sup>d</sup>          | 26 <sup>e</sup>  | —   | 11   | 78,5<br>93,5  |

*Примітка.* <sup>a</sup> — кількість зв'язків, ідентифікованих генотипуванням = кількість штамів усередині RFLP/VNTR-кластера мінус один; <sup>b</sup> — значення обчислено з використанням даних, доступних у публікаціях і он-лайн додаткових матеріалах; <sup>c</sup> — в усіх, крім одного (Walker et al., 2014), лише ізоляти, для яких кластери визначалися за допомогою генотипування (VNTR і/або RFLP), були включені, що вносить значні зміщення в розрахунок чутливості ПСГ і унеможливає обчислення чутливості та специфічності генотипування; <sup>d</sup> — включає 12 культура-негативних випадків і 2 ізоляти без даних ПСГ; <sup>e</sup> — ідентифіковано при використанні критерію < 12 SNP.

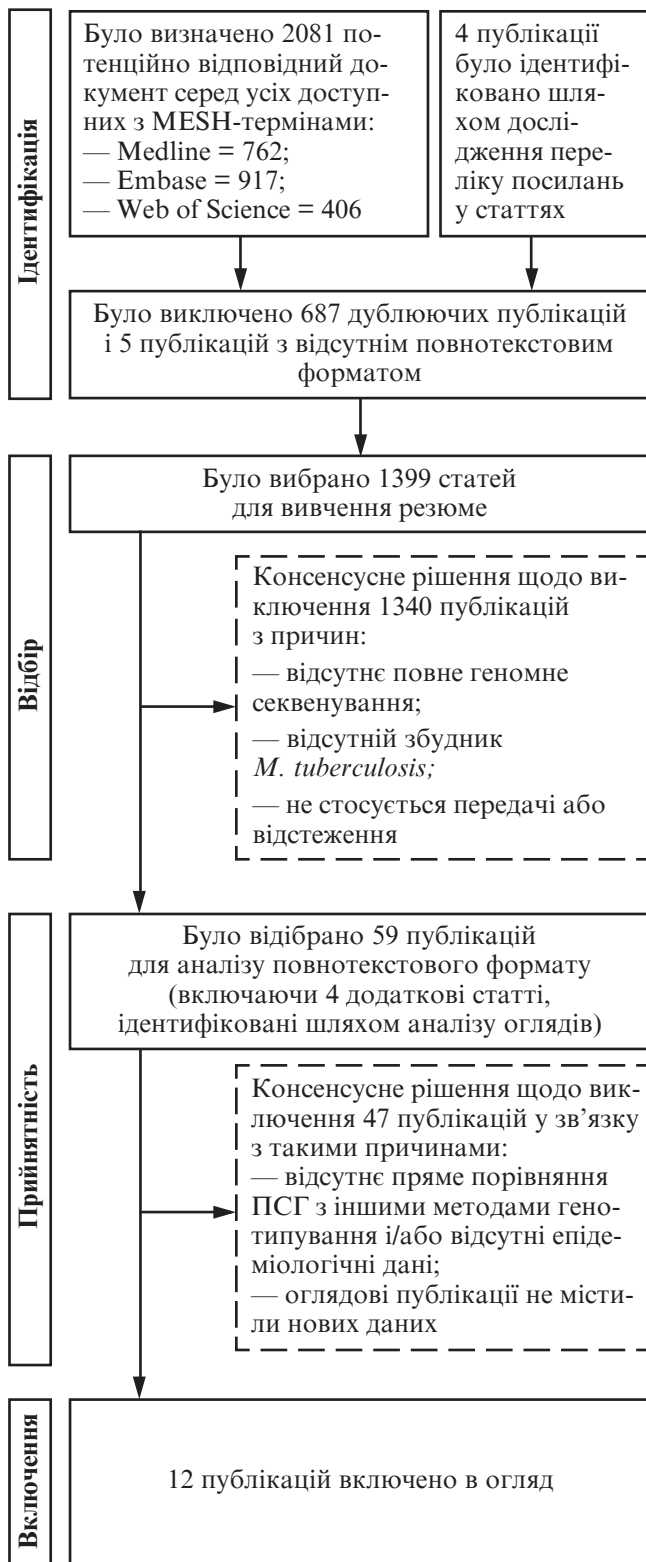


Рис. 1. Блок-схема PRISMA вибору об'єктів дослідження

кількість зв'язків, визначених ПСГ, дорівнює кількості геномно-зв'язаних штамів.

Було визначено кількість ланцюгів передачі/підкластерів, ідентифікованих з використанням ПСГ усередині кластерів, що генотипувалися.

**Оцінка якості.** Сьогодні немає офіційно визнаних критеріїв для оцінки якості досліджень на

основі ПСГ. Що стосується оцінки якості окремих досліджень традиційних критеріїв, то структура і повнота збору зразків були визначені для оцінки настройки відбору. Зазначені критерії якості самого методу, у тому числі охоплення геному і глибина секвенування, а також конкретні показники виключення і погоджені значення читання для валідних назв SNP були отримані з усіх досліджень.

### Результати дослідження та їх обговорення

**Відбір дослідження.** Було виявлено в цілому 2085 публікацій; 59 досліджень були відібрані для огляду всього тексту, 47 з них були виключені, залишивши 12 досліджень, які включені в поточний системний огляд [16; 22–24; 28–35]. Діаграма PRISMA зображена на рис. 1.

**Загальні характеристики включених досліджень.** Характеристики включених досліджень і відповідні дані результатів (наслідків) наведено в табл. 1 і 2. Повне секвенування геному було доступним для 1088 МТВС ізолятів. Кількість ізолятів, включених у кожному дослідженні, коливалася від 2 до 390. Усі, крім одної доповіді, включали тільки ізоляти *M. tuberculosis*; в одному дослідженні [16] секвенували незначну кількість ізолятів *M. bovis* і *M. africanum*. Два дослідження присвячено аналізу соціальних мереж [22–29]. Тільки одне дослідження здійснено в умовах високої поширеності ТБ — у Китаї [29], інші були проведені в Нідерландах (n=3), Великобританії (n=3), Німеччині (n=2), Канаді (n=2) і США (n=1). Використовувани для генотипування методи варіювали в різних дослідженнях. Методи, що базуються на ПЛР (MIRU-VNTR-типсування та споліготипування) і не базуються на ПЛР (IS 6110 RFLP), були використані у 5 і 4 дослідженнях відповідно. У трьох дослідженнях обидва методи були використані паралельно. У деяких дослідженнях були використані нестандартні і/або неповні набори VNTR-локусів (12, 15 або 16 локусів плюс гіперваріабельні локуси) [16; 29; 31; 36].

**Дизайн дослідження, групи людей і генетичний родовід *M. tuberculosis*.** У всіх дослідженнях, крім одного [35], було проаналізовано історії спалахів ТБ. У п'яти дослідженнях генотипування ізолятів належали до довготривалих спалахів ТБ, що тривали від 18 міс. до 17 років, обмежених окремим географічним місцем (місто, провінція або територія столиці). Одне популяційне дослідження, проведене у Великобританії, використовувало недискримінаційний підхід до відбору проб, і ПСГ виконували на штамів, виділених у пацієнтів з доведеним або без підтвердженого епідеміологічного зв'язку [35].

У більшості досліджень (n=10) відбір ізолятів МТВС для секвенування базувався на доступності результатів звичайного генотипування, тому

тільки штами, об'єднані використанням методів молекулярного генотипування (IS6110 RFLP і/або мультилокусна VNTR), а відтак розглядаються як частина спалаху ТБ, були включені; штами поза межами цієї групи були виключені з подальшого аналізу. Загальна кількість IS6110 RFLP або мультилокусних кластерів VNTR у межах даного дослідження коливалася від 1 до 42; у двох оригінальних кластерах, утворених шляхом первинного генотипування, були додатково поділені на більш дрібні групи з використанням вторинних методів [32; 33].

Інформація про генетичні групи і походження *M. tuberculosis* була отримана від VNTR-генотипування, споліготипування і/або ПСГ даних і наведена у дев'яти дослідженнях. Ще два дослідження повідомили коди VNTR, але вони не можуть бути однозначно зараховані до будь-якої відомої родини з використанням міжнародних баз даних [22; 32]. Два дослідження включали виключно штами зі Східної Азії, родина Beijing (n=34) [29; 37], ще три дослідження — євро-американські штами, родина Haarlem (n=121) [24; 31; 33] і два невеликі дослідження включали в цілому три євро-американські штами, що належать до T-родини [23; 30]. Два більших дослідження включали штами з усіх основних родин (n=416) [16; 28].

Жодне з досліджень не було спеціально орієнтовано на групи підвищеного ризику; деякі дослідження включали пацієнтів іноземного походження або етнічних меншин з високим ризиком інфікування. Особи, що належать до груп високого ризику, такі як безхатченки, наркозалежні та ВІЛ-інфіковані люди, становили понад 60 % осіб у двох канадських дослідженнях [22; 32]. Дослідження, проведені у Великобританії та Німеччині, включали значну (хоча і не вказану) частку осіб, народжених закордоном.

**Відповідні технічні дані, контроль якості та критерії назв поліморфізмів.** Метод ПСГ є новим, він виник протягом останніх кількох років. Нині не існує комерційних наборів, які б охоплювали всі етапи аналізу, і тому лабораторна технологія і подальша обробка даних не є повністю стандартизованими. Дані, що узагальнюють технічні показники, представлені в табл. 3.

Усі дослідження містять інформацію про технологічну платформу секвенування й обладнання, що використовувалося для аналізу проб. Два дослідження використовували технологію 454, а решта — різні версії Illumina, включаючи GeneAnalyser (n=2), Hi Seq (n=3) і Mi Seq (n=2). Дані про охоплення геному і середню глибину секвенування було зареєстровано у 8 з 12 досліджень, показники коливалися від 88,5 до 99,2 % і від 50,9x до 174x відповідно.

Основні критерії контролю якості, що застосовуються в аналітичних етапах, включали мінімальну глибину для надійної ідентифікації оди-

ночних нуклеотидних поліморфізмів (SNP), критерії ідентифікації змішаних алелів, а також критерії виключення деяких типів поліморфізмів залежно від їх природи та локалізації. Якщо SNP, пов'язані з медикаментозною резистентністю та інерцією, то їх не включено в жодне дослідження, водночас SNP, що знаходились у регіонах, які повторюються, або GC-багатих регіонах (включаючи гени *PE/PPE*), ESX були включені в одному дослідженні [22], але відсутні у двох роботах. Критерії виключення та правила, що застосовуються до поліморфізмів, розташованих у межах 12 п. о. один від одного, а також інформація, чи виділялася ДНК з однієї колонії, не повідомлялися систематично. Мінімальна глибина для дійсного виклику SNP і критерії для викликів SNP були зареєстровані у 5 і 8 дослідженнях і коливалися від 10x до 20x і від 75 до 90 % відповідно. Не було ніякої ясності, чи застосовано до кожної нитки ДНК окремо ці критерії.

**Генетичні відстані між ізолятами штамів *M. tuberculosis*, виділеними від хворих з підтвердженим епідеміологічним зв'язком.** Зареєстровані у всіх, крім двох, дослідженнях і коливалися від 0 до 1746; у більшості досліджень (n=7), вони не перевищували 5 SNP. Загалом було 23 епідеміологічних зв'язки (7,4 % від загальної кількості фактів передачі в усіх дослідженнях), де генетичні відстані між ізолятами становили понад 12 SNP; 18 з них (> 100 SNP, точні відстані не вказано) присутні в китайському дослідженні, де епідеміологічні умови були досить складними [29]. Застосування більш суворих критеріїв епідеміологічного зв'язку (< 6 SNP) лише трохи збільшило частку геномно непідтверджених зв'язків (29 зв'язків; 9,4 %).

**Чутливість і специфічність ПСГ і генотипування з використанням епідеміологічних даних як «золотого стандарту».** Характеристики виконання ПСГ і генотипування (чутливість, специфічність, PPV і NPV) не наводилися систематично в розглянутих роботах і були розраховані, як описано в розділі «Методи». Параметри чутливості та специфічності ПСГ слід тлумачити в контексті структури збору зразків. У кластерах VNTR/RFLP майже всі факти передачі інфекції, виявлені за допомогою звичайної епідеміології, були підтверджені за допомогою ПСГ, що забезпечило високу чутливість (100 % у 8 з 12 досліджень). Дані для розрахунку специфічності були доступні у п'яти дослідженнях [16; 24; 29; 32; 35]. У кластерах, визначених за допомогою RFLP/VNTR, ПСГ виявили значну кількість ізолятів з різницею менше ніж 5 SNP (що припускає передачу), незважаючи на невстановлені епідеміологічні зв'язки, що забезпечує специфічність у межах 17–95 %, при цьому визнана епідеміологія використовувалася як «золотий стандарт». Високі рівні чутливості були зареєстровані для різних ліній, включаючи східно-азійські (родина Beijing) і євро-американські (родина Haarlem).

## Технічні дані повного секвенування геному

| Публікація              | ПСГ-охоплення геному, % | Середня глибина ПСГ | Платформа/методологія, що використана | PE/PPE/PGRS і повторювані послідовності | Мінімальна глибина ПСГ для валідного виклику | Мінімальний погоджений пороговий рівень для валідного виклику, % | Кількість SNP між ізолятами з підтвердженими епід. зв'язками, діапазон | Кількість SNP між ізолятами, зарахованих до кластерів за допомогою генотипування |
|-------------------------|-------------------------|---------------------|---------------------------------------|---|--|--|--|--|
| Schurch et al., 2010a   | 95,4                    | 50,9x               | Платформа 454                         | —                                       | —  | —  | 4  | 8  |
| Schurch et al., 2010b   | 97,0                    | —                   | Платформа 454, 250 п. о. прочитано    | —                                       | —  | —  | 4  | 4  |
| Gardy et al., 2011      | 99,2                    | 174x                | Illumina 50 п. о. прочитано           | Включено                                | —  | 70   | —  | 204  |
| Bryant et al., 2013     | 95,6                    | 100x                | Illumina GAIIx 76–108 п. о. прочитано | Виключено                               | —  | 75 на кожній нитці   | 0...149 SNP  | 95 % RFLP-пов'язаних ізолятів мали SNP-дистанції < 11 SNP                        |
| Luo et al., 2013        | —                       | 100x                | Illumina HiSeq 300 п. о. прочитано    | Виключено                               | 10x  | —  | > 100  | 108  |
| Kato-Maeda et al., 2013 | 95,7                    | 73x                 | Illumina GA 36 п. о. прочитано        | Виключено                               | 12x  | 85   | 0...2  | 7  |
| Roetzer et al., 2013    | 96,4                    | —                   | 454 (один штаб) і Illumina            | Виключено                               | 10x  | 80   | 0...3  | 85   |
| Torok et al., 2013      | —                       | 82x – 102x          | Illumina MiSeq 150 п. о. прочитано    | —                                       | —  | 75   | Немає даних  | 0  |
| Walker et al., 2013     | 88,5                    | —                   | Illumina HiSeq 75 п. о. прочитано     | Виключено                               | —  | 75   | 0...5  | 0...150 (до двох розбіжностей у VNTR-кластерах)                                  |
| Kohl et al., 2014       | —                       | 84x                 | Illumina MiSeq                        | Виключено                               | 10x  | 75   | 0...5  | 322  |
| Mehaffy et al., 2014    | —                       | —                   | Illumina                              | Виключено                               | 20x  | 75   | 0...4  | 81   |
| Walker et al., 2014     | 92                      | 106x                | Illumina HiSeq                        | Виключено                               | —  | 90   | 0...1746   | Немає даних  |



**Ідентифікація ланцюгів передачі з використанням ПСГ і порівняння з традиційним генотипуванням.** Порівняно з IS6110 RFLP і/або VNTR, ПСГ мало значно кращу дискримінаційну здатність для ідентифікації окремих ланцюгів передачі в межах RFLP/VNTR-кластерів. Застосування ПСГ дозволило ідентифікувати в Канаді два незалежних ланцюги передачі в межах двох кластерів, що визначались однаковим IS6110 RFLP/VNTR-профілем. Ці результати узгоджуються з даними відстеження контактів і географічного розподілу ізолятів [22; 32; 33]. Один з підкластерів, виявлений з використанням ПСГ у канадському дослідженні, складався зі штамів, що мали 15 Кб делецію, яка не була виявлена MIRU-VNTR-типуванням [32]. В іншому дослідженні, проведеному в Німеччині, було ідентифіковано два додаткових кластери в межах кластера, визначеного за допомогою IS6110 RFLP [33]. У невеликому дослідженні, проведеному у Великобританії, метод ПСГ дозволив ідентифікувати раніше прогляаний факт передачі інфекції [37].

Загалом у більшості досліджень лише частка штамів у межах кластерів, які не відрізнялися за даними IS6110 RFLP і/або VNTR, були генетично пов'язані (з використанням критерію як < 6, так < 12 SNP). Це підтверджує обмежену дискримінаційну здатність традиційних методів генотипування для проспективних епідеміологічних досліджень.

Попередні дослідження показали, що ПСГ забезпечує краще розділення клінічних ізолятів МТВС порівняно з класичним генотипуванням, наприклад заснованим на MIRU-VNTR-типуванні, але досі це не було досліджено систематично. Виконаний нами системний аналіз 12 досліджень підтверджує думку, що ПСГ має вищу дискримінаційну силу і здатне розділити кластери, які визначаються шляхом класичного генотипування. Дослідження, включені в даний огляд, показали, що запропонований критерій виключення < 6 SNP може бути використаний для ідентифікації ізолятів, що беруть участь у прямій передачі ТБ від людини до людини [16].

Досі не було жодного дослідження, у якому б здійснювалося безпосереднє порівняння між ПСГ і звичайним генотипуванням на матеріалі проспективно зібраних ізолятів. Усі дослідження, крім одного, включені у цей огляд, використовували селективну стратегію вибірки, де ізоляти, які, згідно зі звичайним методом генотипування, були ідентичними, потім повторно досліджувалися з використанням ПСГ. Тому було неможливо оцінити чутливість і специфічність різних методів генотипування порівняно зі звичайними епідеміологічними дослідженнями. Отже, оцінки чутливості та специфічності необхідно інтерпретувати з обережністю, і вони повинні бути підтверджені в майбутніх дослідженнях з використанням неселективного відбору зразків.

Загалом чутливість ПСГ для виявлення епідеміологічно пов'язаних ізолятів була високою. Метод ПСГ дозволив розрізнити ізоляти, які мають однакові профілі в межах RFLP/VNTR-кластерів і потенційно різні ланцюги передачі. З допомогою ПСГ виявлено помилкові кластери і виключено несправжні факти передачі збудника. Деякі дослідження показали, що ПСГ краще узгоджується з даними відстеження контактів і географічного розподілу ізолятів.

Специфічність ПСГ для виявлення останніх ланок передачі з використанням звичайної епідеміології як «золотого стандарту» варіювала в різних дослідженнях від 17,0 до 95,0 %. Велика кількість «помилково позитивних» результатів може викликати побоювання з приводу її застосування для підтвердження передачі збудника; однак ці результати можуть насправді являти собою факти передачі, прогляані звичайною епідеміологією або пов'язані з іншими проблемами зі збором даних, інтерпретацією і якістю звичайної епідеміології. Традиційна епідеміологія є недосконалим «золотим стандартом» сама по собі, особливо в умовах високої захворюваності на ТБ, і залежить від методу, що використовується, і наявних ресурсів [29; 38].

Цей огляд має низку переваг і обмежень. У ньому використані стратегія об'ємного пошуку із застосуванням міжнародних критеріїв відповідно до рекомендованих критеріїв звітності для системних оглядів і метааналізів. Через неоднорідність даних метааналіз не уявлявся можливим, а відсутність узгоджених на міжнародному рівні критеріїв якості досліджень ПСГ у контексті епідеміології ТБ та лабораторної діагностики робить оцінку якості складним завданням. Обмеження досліджень, включених у цей огляд, полягає у ретроспективному характері дизайну дослідження, відмінностях відбору, малих розмірах вибірки в деяких дослідженнях, відсутності даних, пов'язаних з конкретним походженням *M. tuberculosis* і певними групами населення, таких як групи високого ризику. Даний огляд не зміг оцінити відмінності у виконанні ПСГ для мікобактерій ТБ різного походження, оскільки лише кілька досліджень проводили аналіз родоводу штамів.

У майбутньому дослідження з використанням методу ПСГ, ймовірно, набудуть більшого розповсюдження. Розробка мінімальних критеріїв для звіту та оцінки якості є дуже важливим завданням [39; 40]. Ми намагаємося запровадити мінімальний перелік технічних параметрів, а також формат звітування для досліджень з використанням технології ПСГ, які повинні бути включені в майбутні доповіді для забезпечення можливості порівняння досліджень і поліпшення якості (табл. 4). Консенсусу щодо значень виключення і порогових значень для певних технічних параметрів, включаючи мінімальну глибину для визначення валідного SNP і критеріїв для мен-

**Характеристика дослідження, результати і технічні параметри,  
запропоновані для включення в доповіді щодо повного секвенування геному**

| Етап                            | Параметри, наслідки, характеристики та ін. деталі   |
|---------------------------------|---|
| Дизайн дослідження і епід. дані | <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Дизайн дослідження (проспективне/ретроспективне; популяційно-базоване; подовжній тощо).</li> <li>2. Цільова популяція, наявність груп з високим ризиком.</li> <li>3. ТБ-оточення (низьке, високе тощо).</li> <li>4. Тривалість дослідження.</li> <li>5. Тип доступних епід. даних і як їх збирали.</li> <li>6. Кількість фактів передач, ідентифікованих за допомогою епід. дослідження (підтвержені/непідтвержені)</li> </ol>  |
| Технічні дані                   | <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Обладнання платформи і хімії, що використано.</li> <li>2. Довжина читань.</li> <li>3. Геномне покриття і глибина.</li> <li>4. Параметри біоінформаційного аналізу і критерії поліморфізмів: <ul style="list-style-type: none"> <li>— виключення або включення делецій та інсерцій;</li> <li>— виключення або включення SNP у повторюваних послідовностях, <i>PE/PPE</i>, <i>ESX</i> і подібних генів;</li> <li>— виключення або включення SNP, розміщених на певній дистанції (наприклад 12 п. о.);</li> <li>— виключення або включення SNP, асоційованих з медикаментозною резистентністю.</li> </ul> </li> <li>5. Мінімальна глибина і погоджений поріг для валідних назв і чи застосовуються вони до кожної нитки ДНК</li> </ol> |
| Звичайне генотипування          | <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Методологія генотипування, що використана.</li> <li>2. VNTR-профілі і належність за родом/родиною.</li> <li>3. Кількість фактів передач, ідентифікованих за допомогою генотипування і підтверджених епід. даними.</li> <li>4. Кількість фактів передачі, ідентифікованих за допомогою генотипування і підтверджених ПСГ</li> </ol>  |
| Повне геномне секвенування      | <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Критерії, використані для детекції передач за допомогою ПСГ (генетична дистанція між ізолятами в SNP).</li> <li>2. ПСГ-чутливість, специфічність, PPV і NPV з використанням даних епід. досліджень як «золотого стандарту»</li> </ol>   |

ших алелів ще не досягнуто, що залишається предметом майбутніх досліджень. Результати нашого дослідження також підкреслюють важливість розробки і впровадження схем, які забезпечать якість ПСГ.

MIRU-VNTR-генотипування сьогодні використовується як звичайний метод проспективної молекулярної епідеміології у багатьох європейських країнах і в інших частинах світу [3]. Тим же часом було порушене питання щодо недостатності дискримінаційної здатності та загальної цінності цих досліджень у протитуберкульозних клініко-діагностичних заходах, особливо в умовах обмежених ресурсів [6; 15]. Метод ПСГ є інструментом, який може дати відповіді на конкретні питання, такі як ланцюг передачі та трансгранична передача, і перетворитися в практичний інструмент для проведення більшості лабораторно-діагностичних досліджень, у тому числі ідентифікації, визначення медикаментозної резистентності й епідеміологічного типування. Проте його значення у повсякденній охороні громадського здоров'я і клінічних дослідженнях ще належить продемонструвати.

У цьому огляді ми встановили, що ПСГ має вищу дискримінаційну здатність порівняно зі звичайним генотипуванням і здатне розділити не-

справжні кластери, що потенційно усуває необхідність зайвих дій охорони громадського здоров'я. Також ПСГ може ідентифікувати факти передачі збудника, які були прогаяні звичайними епідеміологічними дослідженнями. Значення ПСГ для визначення спалахів ТБ, ТБ-епідеміології в реальному часі та молекулярного спостереження ще належить установити. Майбутні дослідження повинні проводитися на популяційному рівні, а також з використанням повного набору епідеміологічних, генотипічних і ПСГ методів. Мінімальні критерії звітування та якості для дослідження методами ПСГ вкрай важливі для забезпечення високого рівня доказів.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. WHO Global tuberculosis report 2012. WHO document WHO/HTM/TB/2012.6. Geneva, 2012.
2. Niemann S., Supply P. Diversity and evolution of Mycobacterium tuberculosis: moving to whole-genome-based approaches. Cold Spring Harbor perspectives in medicine 2014;4(12):a021188 doi: 10.1101/cshperspect.a021188[published Online First: Epub Date].
3. Borgdorff M.W., van Soolingen D. The re-emergence of tuberculosis: What have we learnt from molecular epidemiology? Clinical Microbiology and Infection 2013;19(10):889-901 doi: http://dx.doi.org/10.1111/1469-0691.12253[published Online First: Epub Date].

4. Casali N., Nikolayevskyy V., Balabanova Y. et al. Evolution and transmission of drug-resistant tuberculosis in a Russian population. *Nature genetics* 2014;46(3):279-86.
5. Merker M., Blin C., Mona S. et al. Evolutionary history and global spread of the *Mycobacterium tuberculosis* Beijing lineage. *Nature genetics* 2015;47(3):242-9 doi: 10.1038/ng.3195[published Online First: Epub Date].
6. Mears J., Vynnycky E., Lord J. et al. The prospective evaluation of the TB strain typing service in England: a mixed methods study. *Thorax* 2015 doi: 10.1136/thoraxjnl-2014-206480 [published Online First: Epub Date].
7. Sloot R., Borgdorff M.W., de Beer J.L., van Ingen J., Supply P., van Soolingen D. Clustering of tuberculosis cases based on variable-number tandem-repeat typing in relation to the population structure of *Mycobacterium tuberculosis* in the Netherlands. *Journal of clinical microbiology* 2013;51(7):2427-31 doi: 10.1128/JCM.00489-13[published Online First: Epub Date].
8. Shea K.M., Kammerer J.S., Winston C.A., Navin T.R., Horsburgh C.R., Jr. Estimated rate of reactivation of latent tuberculosis infection in the United States, overall and by population subgroup. *Am J Epidemiol* 2014;179(2):216-25 doi: 10.1093/aje/kwt246[published Online First: Epub Date].
9. Smit P.W., Haanpera M., Rantala P. et al. Molecular epidemiology of tuberculosis in Finland, 2008-2011. *PLoS one* 2013;8(12):e85027 doi: 10.1371/journal.pone.0085027[published Online First: Epub Date].
10. Oelemann M.C., Diel R., Vatin V. et al. Assessment of an optimized mycobacterial interspersed repetitive-unit-variable-number tandem-repeat typing system combined with spoligotyping for population-based molecular epidemiology studies of tuberculosis. *Journal of clinical microbiology* 2007;45(3):691-7.
11. Supply P., Allix C., Lesjean S. et al. Proposal for standardization of optimized mycobacterial interspersed repetitive-unit-variable-number tandem repeat typing of *Mycobacterium tuberculosis*. *Journal of clinical microbiology* 2006;44(12):4498-510.
12. Public Health England. TB Strain Typing and Cluster Investigation Handbook 3rd Edition [Internet]. 2014 (cited 28 Jul 2014). [http://www.hpa.org.uk/webc/HPAwebFile/HPAweb\\_C/1317140774833](http://www.hpa.org.uk/webc/HPAwebFile/HPAweb_C/1317140774833).
13. Weniger T., Krawczyk J., Supply P., Niemann S., Harmsen D. MIRU-VNTRplus: a web tool for polyphasic genotyping of *Mycobacterium tuberculosis* complex bacteria. *Nucleic Acids Res* 2010;38(Web Server issue):W326-31 doi: 10.1093/nar/gkq351[published Online First: Epub Date].
14. Allix-Beguec C., Fauville-Dufaux M., Supply P. Three-year population-based evaluation of standardized mycobacterial interspersed repetitive-unit-variable-number tandem-repeat typing of *Mycobacterium tuberculosis*. *Journal of clinical microbiology* 2008;46(4):1398-406.
15. Niemann S., Koser C.U., Gagneux S. et al. Genomic diversity among drug sensitive and multidrug resistant isolates of *Mycobacterium tuberculosis* with identical DNA fingerprints. *PLoS one* 2009;4(10):e7407 doi: 10.1371/journal.pone.0007407 [published Online First: Epub Date].
16. Walker T.M., Ip C.L., Harrell R.H. et al. Whole-genome sequencing to delineate *Mycobacterium tuberculosis* outbreaks: a retrospective observational study. *The Lancet infectious diseases* 2013;13(2):137-46 doi: 10.1016/S1473-3099(12)70277-3[published Online First: Epub Date].
17. Perez-Lago L., Comas I., Navarro Y. et al. Whole genome sequencing analysis of intrapatient microevolution in *Mycobacterium tuberculosis*: potential impact on the inference of tuberculosis transmission. *Journal of Infectious Diseases* 2014;209(1):98-108.
18. Walker T.M., Kohl T.A., Omar S.V. et al. Whole-genome sequencing for prediction of *Mycobacterium tuberculosis* drug susceptibility and resistance: a retrospective cohort study. *The Lancet infectious diseases* 2015 doi: 10.1016/S1473-3099(15)00062-6 [published Online First: Epub Date].
19. Koser C.U., Ellington M.J., Cartwright E.J.P. et al. Routine Use of Microbial Whole Genome Sequencing in Diagnostic and Public Health Microbiology. *PLoS Pathogens* 2012;8(8) doi: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.ppat.1002824>[published Online First: Epub Date].
20. Loman N.J., Constantinidou C., Chan J.Z. et al. High-throughput bacterial genome sequencing: an embarrassment of choice, a world of opportunity. *Nature reviews. Microbiology* 2012;10(9):599-606 doi: 10.1038/nrmicro2850[published Online First: Epub Date].
21. Brown A.C., Bryant J.M., Einer-Jensen K. et al. Rapid Whole Genome Sequencing of *M. tuberculosis* directly from clinical samples. *Journal of clinical microbiology* 2015 doi: 10.1128/JCM.00486-15[published Online First: Epub Date].
22. Gardy J.L., Johnston J.C., Ho Sui S.J. et al. Whole-genome sequencing and social-network analysis of a tuberculosis outbreak. *The New England journal of medicine* 2011;364(8):730-9 doi: 10.1056/NEJMoa1003176[published Online First: Epub Date].
23. Schurch A.C., Kremer K., Daviena O. et al. High-resolution typing by integration of genome sequencing data in a large tuberculosis cluster. *Journal of clinical microbiology* 2010;48(9):3403-6 doi: 10.1128/JCM.00370-10[published Online First: Epub Date].
24. Kohl T.A., Diel R., Harmsen D. et al. Whole-genome-based *Mycobacterium tuberculosis* surveillance: a standardized, portable, and expandable approach. *Journal of clinical microbiology* 2014;52(7):2479-86 doi: 10.1128/JCM.00567-14[published Online First: Epub Date].
25. Ford C.B., Lin P.L., Chase M.R. et al. Use of whole genome sequencing to estimate the mutation rate of *Mycobacterium tuberculosis* during latent infection. *Nature genetics* 2011;43(5):482-6.
26. Moher D., Liberati A., Tetzlaff J., Altman D.G., Group P. Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: the PRISMA statement. *Bmj* 2009;339:b2535 doi: 10.1136/bmj.b2535[published Online First: Epub Date].
27. Kato-Maeda M., Metcalfe J.Z., Flores L. Genotyping of *Mycobacterium tuberculosis*: application in epidemiologic studies. *Future Microbiol* 2011;6(2):203-16 doi: 10.2217/fmb.10.165[published Online First: Epub Date].
28. Bryant J.M., Schurch A.C., van Deutekom H. et al. Inferring patient to patient transmission of *Mycobacterium tuberculosis* from whole genome sequencing data. *BMC Infectious Diseases* 2013;13(1) doi: <http://dx.doi.org/10.1186/1471-2334-13-110>[published Online First: Epub Date].
29. Luo T., Yang C., Peng Y. et al. Whole-genome sequencing to detect recent transmission of *Mycobacterium tuberculosis* in settings with a high burden of tuberculosis. *Tuberculosis* 2014;94(4):434-40 doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tube.2014.04.005> [published Online First: Epub Date].
30. Schurch A.C., Kremer K., Kiers A. et al. The tempo and mode of molecular evolution of *Mycobacterium tuberculosis* at patient-to-patient scale.[Erratum appears in *Infect Genet Evol.* 2010 Aug;10(6):805]. *Infection, Genetics & Evolution* 2010;10(1):108-14.
31. Kato-Maeda M., Ho C., Passarelli B. et al. Use of whole genome sequencing to determine the microevolution of *Mycobacterium tuberculosis* during an outbreak. *PLoS ONE [Electronic Resource]* 2013;8(3).
32. Mehaffey C., Guthrie J.L., Alexander D.C., Stuart R., Rea E., Jamieson F.B. Marked microevolution of a unique *Mycobacterium tuberculosis* Strain in 17 years of ongoing transmission in a high risk population. *PLoS one* 2014;9(11) doi: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0112928>[published Online First: Epub Date].

33. Roetzer A., Diel R., Kohl T.A. et al. Whole Genome Sequencing versus Traditional Genotyping for Investigation of a Mycobacterium tuberculosis Outbreak: A Longitudinal Molecular Epidemiological Study. PLoS medicine 2013; 10(2):e1001387 doi: 10.1371/journal.pmed.1001387[published Online First: Epub Date].

34. Koser C.U., Bryant J.M., Becq J. et al. Whole-genome sequencing for rapid susceptibility testing of M. tuberculosis. New England Journal of Medicine 2013;369(3):290-2.

35. Walker T.M., Lalor M.K., Broda A. et al. Assessment of Mycobacterium tuberculosis transmission in Oxfordshire, UK, 2007-12, with whole pathogen genome sequences: An observational study. The Lancet Respiratory Medicine 2014;2(4):285-92 doi: <http://dx.doi.org/10.1016/S2213-2600%2814%2970027-X>[published Online First: Epub Date].

36. Allix-Beguec C., Wahl C., Hanekom M. et al. Proposal of a consensus set of hypervariable mycobacterial interspersed repetitive-unit-variable-number tandem-repeat loci for subtyping of Mycobacterium tuberculosis Beijing isolates. Journal of clinical microbiology 2014;52(1):164-72 doi: 10.1128/JCM.02519-13 [published Online First: Epub Date].

37. Torok M.E., Reuter S., Bryant J. et al. Rapid whole-genome sequencing for investigation of a suspected tuberculosis outbreak. Journal of clinical microbiology 2013;51(2):611-4.

38. Fox G.J., Barry S.E., Britton W.J., Marks G.B. Contact investigation for tuberculosis: a systematic review and meta-analysis. The European respiratory journal 2013;41(1):140-56 doi: 10.1183/09031936.00070812[published Online First: Epub Date].

39. Schulz K.F., Altman D.G., Moher D., Group C. CONSORT 2010 statement: updated guidelines for reporting parallel group randomized trials. Annals of internal medicine 2010;152(11):726-32 doi: 10.7326/0003-4819-152-11-201006010-00232[published Online First: Epub Date].

40. von Elm E., Altman D.G., Egger M. et al. The Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology (STROBE) statement: guidelines for reporting observational studies. Journal of clinical epidemiology 2008;61(4):344-9 doi: 10.1016/j.jclinepi.2007.11.008[published Online First: Epub Date].

*Надійшла 17.10.2016*

*Рецензент д-р мед. наук, проф. В. В. Бабієнко*

*Передплатуйте  
і читайте  
журнал*

# ІНТЕГРАТИВНА АНТРОПОЛОГІЯ

*У ВИПУСКАХ ЖУРНАЛУ:*

**Передплата приймається  
у будь-якому  
передплатному пункті**

**Передплатний індекс 08210**

- ◆ Методологія інтегративних процесів
- ◆ Генетичні аспекти біології та медицини
- ◆ Патологічні стани і сучасні технології
- ◆ Філософські проблеми геронтології та гериатрії
- ◆ Дискусії