

ОМИКСНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ В ДИАГНОСТИКЕ *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS*Ю. А. Беспятых^{1,2}✉, Д. В. Басманов¹¹ Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины Федерального медико-биологического агентства, Москва, Россия² Российский химико-технологический университет имени Д. И. Менделеева, Москва, Россия

Туберкулез, вызываемый бактериями *Mycobacterium tuberculosis*, продолжает оставаться глобальным бременем для нашей страны и всего мира. По данным Всемирной организации здравоохранения, 10 млн случаев впервые выявленного туберкулеза зарегистрировано в 2019 г. Постоянный рост лекарственно-устойчивого туберкулеза усугубляет ситуацию и оказывается основным препятствием в борьбе с заболеванием. Для разработки новых способов диагностики и стратегий лечения крайне важно максимально полное понимание физиологии патогена и его вирулентных свойств. Мультиомиксные подходы в изучении инфекционных агентов являются крайне полезными для понимания сути заболевания. Несмотря на наличие большого количества геномных и транскриптомных данных, патогенный потенциал, выживаемость, персистенция, иммуномодуляция, механизмы лекарственной устойчивости и взаимодействия между хозяином и патогеном остаются малоизученными. Использование протеомных подходов оказалось более информативным и предоставляет более подробную информацию об истинном состоянии клетки в различных условиях. Подходы протеомики и биоинформатики значительно помогли в идентификации и характеристике целевых белков, которые могут быть использованы для создания новых терапевтических средств. В то же время именно интеграция омиксных данных и единовременное использование системного подхода к изучению различных клинически значимых штаммов микобактерий позволяют существенно расширить знания в понимании механизма заболевания и способов борьбы с инфекцией. В обзоре описаны различные омиксные технологии и их роль в разработке диагностических панелей *M. tuberculosis*.

Ключевые слова: туберкулез, диагностика, системный анализ**Финансирование:** работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 20-75-10144.**Вклад авторов:** Ю. А. Беспятых — концепция, написание текста и финальное редактирование; Д. В. Басманов — анализ исходных материалов по биосенсорам и чипам, написание текста.✉ **Для корреспонденции:** Юлия Андреевна Беспятых
ул. Малая Пироговская, д. 1а, г. Москва, 119435, Россия; JuliaBes@rcpcm.org**Статья получена:** 12.04.2022 **Статья принята к печати:** 27.04.2022 **Опубликована онлайн:** 16.05.2022**DOI:** 10.47183/mes.2022.013OMICS TECHNOLOGIES IN THE DIAGNOSTICS OF *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS*Bespyatykh JA^{1,2}✉, Basmanov DV¹¹ Federal Research and Clinical Center of Physical-Chemical Medicine of Federal Medical Biological Agency, Moscow, Russia² Mendeleev University of Chemical Technology of Russia, Moscow, Russia

Tuberculosis, caused by *Mycobacterium tuberculosis*, remains a global burden on our country and entire world. According to the World Health Organization, 10 million incident cases of tuberculosis were registered in 2019. A steady increase in the drug-resistant tuberculosis aggravates the situation and appears to be the major obstacle to the fight against the disease. A thorough understanding of the pathogen physiology and virulence properties is extremely important for the development of new diagnosis methods and treatment strategies. Multiomics approaches to studying the infectious agents are indispensable in understanding the nature of the disease. Despite the availability of sufficient genomic and transcriptomic data, pathogenic potential, survival rate, persistence, immunomodulation, mechanisms underlying drug resistance and host-pathogen interaction remain poorly understood. The use of proteomic approaches has been more informative, and provides more information about the true state of the cell in various conditions. Proteomic and bioinformatic approaches helped considerably in identification and characterization of target proteins that could be used for the development of new therapeutic options. Nevertheless, OMICs data integration with simultaneous use of the system approach to studying various clinically significant mycobacterial strains makes it possible to increase knowledge about the disease mechanisms and infection control methods. The review outlines various OMICs technologies and their role in the development of the *M. tuberculosis* diagnostic panels.

Keywords: tuberculosis, diagnosis, system analysis**Funding:** the study was supported by RSF grant № 20-75-10144.**Author contribution:** Bespyatykh JA — study concept, manuscript writing and editing; Basmanov DV — analysis of raw data on biosensors and microarrays, manuscript writing.✉ **Correspondence should be addressed:** Julia A. Bespyatykh
Malaya Pirogovskaya, 1a, Moscow, 119435, Russia; JuliaBes@rcpcm.org**Received:** 12.04.2022 **Accepted:** 27.04.2022 **Published online:** 16.05.2022**DOI:** 10.47183/mes.2022.013

Mycobacterium tuberculosis является этиологическим агентом туберкулеза и занимает одно из лидирующих мест среди причин смертельных случаев, вызванных инфекционными агентами. Основные проблемы в лечении туберкулеза включают рост числа случаев заражения штаммами с множественной (МЛУ) и широкой лекарственной устойчивостью (ШЛУ), ко-инфекции вируса иммунодефицита человека (ВИЧ) [1]. В настоящее время терапия туберкулеза включает препараты первого ряда, прием которых занимает 6–9 месяцев и имеет серьезные побочные эффекты [2]. Лечение МЛУ/ШЛУ

требует гораздо большей продолжительности и включает противотуберкулезные препараты второго ряда в дополнение к препаратам первого ряда, пиразинамиду и высоким дозам изониазида [3]. Несмотря на имеющуюся этапность режимов лечения, рост числа случаев МЛУ и ШЛУ создает новые препятствия для существующей лекарственной терапии [4]. Таким образом, становятся очевидными потребность в совершенствовании лекарственных препаратов и способов борьбы с инфекцией, а также необходимость разработки новых вакцинных препаратов.

M. tuberculosis передается преимущественно воздушно-капельным путем, при вдыхании аэрозоля, содержащего клетку возбудителя [5]. После попадания в легкие бактерии инфицируют альвеолярные макрофаги и обходят иммунный ответ хозяина [6]. Для дальнейшего распространения в организме микобактерии подавляют защитный механизм, используемый макрофагами, включая аутофагию, окисление фагосом и выброс активных форм кислорода и азота [7, 8]. Кроме того, инфицированные макрофаги продуцируют хемокины, которые привлекают воспалительные клетки, включая нейтрофилы и естественные клетки-киллеры, что способствует дальнейшему развитию воспаления и образованию многоядерных гигантских клеток, называемых гранулемами [9]. Таким образом, именно гранулемы, обеспечивают нишу для жизнедеятельности бактерий, а также служат резервуаром для распространения инфекции.

Секретируемые *M. tuberculosis* белки (секретом) играют ключевую роль в нарушении иммунного ответа и прогрессировании внутриклеточного роста [10, 11]. Ранний секретируемый антиген (ESAT-6), важный фактор вирулентности *M. tuberculosis*, известен тем, что регулирует иммунный ответ хозяина путем подавления провоспалительных реакций, таких как выработка интерферона гамма (IFN) [12] и интерлейкина-12 (IL12) [13]. Кроме того, ESAT-6 стимулирует выработку IL6 в макрофагах [14] и играет важную роль в индуцировании поляризации макрофагов и их перехода в эпителиоидные макрофаги, являющиеся основной составляющей туберкулезной гранулемы [15, 16]. Показано, что секретируемый эффектор Rv1988 метилирует гистоновые белки клетки хозяина и таким образом эпигенетически модулирует антимикобактериальные функции макрофагов [17]. Все это подтверждает значительную роль белков *M. tuberculosis* в вирулентности [18]. Помимо того, высокопроизводительный скрининг протеома в масштабе всей системы потенциальных антигенов *M. tuberculosis* может быть использован для создания новых вакцин [19].

Несмотря на то что геном *M. tuberculosis* был широко изучен еще в начале 2000-х гг., анализ протеома *M. tuberculosis* отставал из-за сложных протоколов выделения белков и необходимости использования сложного и дорогостоящего оборудования [20]. Более 30% протеома до сих пор не охарактеризовано и представлено гипотетическими белками [21]. Расшифровка функции этих белков будет способствовать лучшему пониманию физиологии и вирулентности *M. tuberculosis*. Очевидно, что она возможна только с привлечением других омиксных технологий, таких как транскриптомика и протеогеномика. Несомненно, что важны идентификация и характеристика всех генов, но особое внимание стоит уделить геномным продуктам, ответственным за вирулентность и патогенез. Можно определять как транскрипты, так и белковые продукты и метаболиты, в том числе количественно, что позволит выявить различия в патогенности и лекарственной устойчивости между линиями и штаммами *M. tuberculosis*. В целом, комбинация таких подходов может помочь в поиске новых мишеней для противотуберкулезных препаратов, а также реализации стратегии ВОЗ «Покончить с туберкулезом».

Геномика

На сегодняшний день представление о генетическом потенциале изучаемого объекта будет определять

дальнейшую стратегию любого исследования. Впервые полный геном *M. tuberculosis* H37Rv был опубликован в 1998 г. [22], а развитие технологий секвенирования привело к тому, что на сегодняшний день в базе данных NCBI содержится более 13 тыс. геномов *M. tuberculosis*. Однако стоит отметить, что большинство из них не собраны в кольцо. Долгое время аннотация *M. tuberculosis* H37Rv (27-я версия согласно базе данных TuberculList (<http://tuberculist.epfl.ch/>), содержащая 4018 белок-кодирующих генов, из которых 26% относятся к классу белков с гипотетической функцией, являлась референсной и наиболее полной. В 2019 г. была опубликована полная последовательность штамма RUS_BO, относящегося к семейству Beijing [23].

Микобактерии обладают всеми генами, необходимыми для синтеза незаменимых аминокислот, витаминов, ферментов и кофакторов. Было отмечено, что они имеют высокую долю генов, кодирующих ферменты, участвующие в липогенезе и липолизе. Кроме того, *M. tuberculosis* обладает генами, необходимыми для синтеза гликолитических ферментов и ферментов анаболического пентозофосфатного пути, который генерирует NADPH и пентозы, ферменты цикла Кребса и глиоксилатного цикла, который синтезирует углеводы из жиров. Туберкулезная палочка обладает также ферментами, используемыми в аэробном, микроаэрофильном и бескислородном переносе электронов. Показано, что микобактерии способны выживать в различных условиях среды, в том числе богатых кислородом легких, макрофагах и в центре казеозных гранул [24].

Геном микобактерий богат генами метаболизма жирных кислот, в том числе миколовых, содержащих кислые аспарагин- и глицинбогатые полипептиды. Большую часть генома составляют также гены белков семейств PE (proline-glutamate, $n = 99$) и PPE (proline-proline-glutamate, $n = 68$), вариативность которых, предположительно, обеспечивает различия антигенов и способность ингибировать иммунный ответ [25].

Одной из особенностей генома *M. tuberculosis* является большое число повторяющихся последовательностей ДНК. Например, инсерционные элементы IS (от англ. insertion sequences), способствующие ДНК-полиморфизму микобактерий, и вариативное количество tandemных повторов VNTR (от англ. variable number of tandem repeats). Наряду с IS-элементами содержатся прямые повторы DR (от англ. direct repeat region), разделенные вариативными последовательностями — спейсерами, а также основные полиморфные tandemные повторы MPTR (от англ. major polymorphic tandem repeat) и полиморфная GC-богатая повторяющаяся последовательность PGRS (от англ. polymorphic GC-repetitive sequence). Все эти особенности генома *M. tuberculosis* легли в основу методов диагностики и типирования патогена: полиморфизм длин рестрикционных фрагментов IS6110 (RFLP-типирование) [26], сполиготипирование [27], VNTR-типирование [28]. Дополнительно, в геноме H37Rv были обнаружены последовательности профагов *phiRv1* и *phiRv2*. В связи с тем, что они не были обнаружены в геноме авирулентных H37Ra и *M. bovis* BCG, их ассоциируют с факторами патогенности.

Разработка более специфичных методов типирования, например, включающая лекарственную устойчивость и вирулентность внутри определенных семейств *M. tuberculosis*, требует доподлинно установить функции конкретных генов, их вклад в метаболизм клетки и тем более реализацию уникальных особенностей

патогена. Безусловно, определить все это возможно только с использованием дополнительных методов, таких как транскриптомный и протеомный анализ.

Протеомика

Протеомика является важным инструментом идентификации как известных, так и новых белковых мишеней, которые являются частью системы вирулентности и защитных механизмов клетки, а также ключевым звеном взаимодействия хозяина и патогена. Повышение и снижение синтеза тех или иных белков, связанных с иммунитетом хозяина, с вирулентностью патогена, указывают на их роль в защитных механизмах или патогенезе. Такая регуляция и снижение регуляции полезны для идентификации белков, которые могут оказаться важными в качестве мишеней для лекарств или разработки диагностических инструментов, представляющих различные стадии патогенеза и уровень развития инфекции. Начиная с идентификации любого такого белка для установления его в качестве лекарственной мишени или диагностического маркера, а также для мониторинга кинетики содержания белков в различных органах в ответ на инфекцию, необходимо использовать подход, включающий следующие последовательные шаги: идентификация новых мишеней, проверка их роли *in vitro*, сравнительный анализ уникальности и специфичности мишени, верификация действия мишени в моделях *in vivo*.

Методы протеомного анализа наиболее полно были описаны ранее [20], где в том числе рассмотрены основные результаты протеомного анализа возбудителя туберкулеза. На сегодняшний день они дополнены сведениями об интеграции протеомных и транскриптомных данных, например, для представителей кластера Beijing B0/W148 проведен системный омиксный анализ [23], позволивший выявить дополнительные уникальные особенности представителей.

Актуальность проведения непосредственно системного подхода обусловлена и тем, что наличие транскрипта, в том числе высоко представленного, не всегда ведет к синтезу белка. Соответственно без протеомного анализа транскриптомика не в полной мере показательна. В свою очередь протеомный анализ позволяет зафиксировать конечный продукт, при этом дополнение указанных данных транскриптомными позволяет в большей степени понять физиологию клетки. Существенным недостатком, на сегодняшний день, является также разрозненность характера вновь получаемых данных. Очевидно, что необходимо помещать каждое открытие в контексте других и рассматривать систему как единое целое при разработке диагностических панелей.

Транскриптомика

Как было сказано выше, бактерии должны крайне быстро адаптироваться к изменяющимся условиям окружающей среды, и соответственно изменения в экспрессии генов, возникающие в ответ на защитную реакцию организма-хозяина либо на действие лекарственных препаратов, являются необходимым условием для выживания и функционирования патогенов. Изучение транскриптома (полного набора транскриптов, производимого бактерией) в первую очередь дополняет данные секвенирования генома, и для этого используют различные подходы. Методы, применяемые для анализа транскриптомов микобактерий, подробно рассмотрены ранее [29].

Безусловно, основные открытия транскриптомики связаны с изучением резистентности возбудителя туберкулеза. Развитие технологий способствовало появлению ДНК-микрочипов, которые явились мощным инструментом для изучения дифференциальной экспрессии генов, в том числе в условиях *in vivo* [30]. Однако данный метод не нашел применения в диагностике. Использование транскриптов в качестве диагностических мишеней имеет ряд существенных недостатков, основным из которых является время жизни. Тем не менее транскриптомика является крайне существенной для понимания метаболизма клетки и использования остальных омиксных данных в диагностике. Так как применение именно системного анализа позволило выявить комплексные изменения в представленности белков (на транскриптомном и протеомном уровнях), ответственных за биосинтез жирных липидов в вирулентных штаммах *M. tuberculosis* [23, 31, 32]. Последнее в свою очередь продемонстрировало актуальность понимания того, как различные молекулярные части генома (гены и транскрипты) интегрируются в сети, отражающие метаболизм, регуляцию, сигнализацию и белок-белковые взаимодействия.

Метабомика

Метаболические пути лежат в основе функционирования клетки. Их изучение и реконструкция метаболизма являются важным шагом в моделировании клеточной деятельности и, что самое важное, понимании глубинных механизмов на системном уровне.

Микобактерии обязаны многими своими уникальными свойствами миколовым кислотам — компонентам их клеточных стенок. В ряде работ показана важность миколовых кислот для роста, выживания и патогенности бактерий [33]. Именно поэтому биосинтез миколовых кислот стал предметом многих биохимических и генетических исследований [34]. Так, была построена подробная модель синтеза миколовой кислоты в *M. tuberculosis*, включающая 197 метаболитов, участвующих в 219 реакциях, катализируемых 28 белками. В ходе сравнительного анализа метаболических путей *M. tuberculosis* H37Rv и человека было показано, что AccD3, Fas, FabH, Pks13, DesA1/2, DesA3 являются потенциальными мишенями для разработки противотуберкулезных препаратов [35].

Непрерывное накопление данных о белках *M. tuberculosis*, расшифровка их ферментных свойств позволили смоделировать ряд метаболических сетей микобактерий. Так, геномная метаболическая сеть GSMN (от англ. genome-scale metabolic network) включает в себя 849 уникальных реакций с участием 739 метаболитов и 726 генов [36]. Следует отметить, что на сегодняшний день многое остается неясным из-за неполной характеристики некоторых белков и неполной информации об их биохимических реакциях. В то же время использование имеющихся метаболических сетей позволило определить 318 белков, необходимых для роста микобактерии [35]. Таким образом, можно предположить, что именно эти 318 белков играют важную роль в поддержании их метаболизма.

Белок-белковые взаимодействия формируют основу для путей передачи сигнала в клетке, а также различных транскрипционных регуляторных сетей. Наиболее расширенная версия сети протеомных взаимодействий *M. tuberculosis* H37Rv на сегодняшний день представлена базой данных STRING [37]. STRING включает литературные

данные, описывающие взаимодействия, изученные экспериментально, а также полученные в результате анализа генома с использованием биоинформатических алгоритмов. Таким образом, сеть охватывает различные типы прямых или опосредованных взаимодействий и связей, таких как: а) физическое образование комплекса между двумя белками, необходимыми для формирования функциональной единицы; б) корегуляция генов, принадлежащих к одному оперону или к общему соседству; в) взаимодействие белков в данном метаболическом пути и, следовательно, влияющих друг на друга; г) связи между белками на основе преобладающего сосуществования, совместной экспрессии или слияния доменов. Сеть является первым комплексным представлением о связях между различными белками, аналогичным получению карты дорог города. В настоящее время наполнение базы данных происходит непосредственно в ходе интеграции системного анализа, в том числе основной акцент делается на экспериментальном уточнении предсказанных взаимосвязей. На основе этой информации была получена матрица функционального расстояния и последующий индекс близости белков, которые помогают понять, как влияние конкретного взятого белка может распространяться на метаболическую сеть в целом. Данный индекс был использован для прогнозирования стратегии максимального нарушения метаболизма путем ингибирования наименьшего количества белков. В ходе исследования было установлено, что ингибирование комбинации из четырех белков одновременно может повлиять суммарно на 471 белок, относящийся к 33 путям, что приводит к нарушению метаболизма на 75% [38].

Омиксы в диагностике

В области поисков биомаркеров туберкулеза исследования идут непрерывно, выявлено множество перспективных кандидатов для определения риска заражения, риска заболевания, вероятности излечения и защиты от инфекции [39]. Большинство таких биомаркеров связаны с иммунитетом организма хозяина и включают в себя белки, метаболиты, клеточные маркеры и транскрипты [40]. Несмотря на многочисленные сообщения о корреляции с различными стадиями туберкулеза, особенно у детей [41], на сегодняшний день нет коммерчески доступных прогностических биомаркеров. Безусловно, это говорит о недостаточной клинической значимости описанных маркеров и необходимости ведения дальнейших поисков.

Наибольшие успехи были достигнуты в области молекулярного тестирования как на наличие *M. tuberculosis*, так и на лекарственную устойчивость с использованием геномных данных. Так, Xpert XDR (Cepheid; CA, США) позволяет обнаружить генетический материал *M. tuberculosis* вместе с мутациями, вызывающими устойчивость к рифампицину, изониазиду, инъекционным препаратам и фторхинолонам. В свою очередь российский аналог, гидрогелевые чипы разработки Института молекулярной биологии им. Энгельгардта РАН [42], в частности ТБ-ТЕСТ, позволяет проводить типирование и одновременно определять устойчивость суммарно по 114 генетическим детерминантам: из них 28 мутаций — в гене *groB*, ответственных за устойчивость к рифампицину; 11 мутаций — в гене *katG*, по пять мутаций — 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 *rrs*; 5 — в *eis*, приводящих к устойчивости к аминогликозидам и капреомицину [43].

Полногеномное секвенирование становится все более привлекательным вариантом для выявления лекарственной устойчивости у *M. tuberculosis* и может быть также использовано для улучшения понимания передачи туберкулеза [44]. Эта технология основана на выявлении мутаций в геноме *M. tuberculosis*, ассоциированных с лекарственной устойчивостью, и данные показывают корреляцию между генетическими мутациями и результатами культурального исследования лекарственной чувствительности, по крайней мере, для четырех препаратов первого ряда (изониазид, рифампицин, этамбутол и пиразинамид) [45, 46]. В то же время некоторые расхождения в данных фенотипического и генетического профиля лекарственной устойчивости свидетельствуют в пользу того, что, не всегда используя геномные данные, можно однозначно установить лекарственную чувствительность бактерии. Принимая во внимание тот факт, что структура популяции *M. tuberculosis* неоднородна и имеет свои особенности, в том числе региональные, можно говорить о разработке региональных диагностических тест-систем. Известно, что на территории нашей страны преобладают штаммы семейства Beijing (50–80% всех случаев) [47]. Для данного генетического семейства доказаны строгая ассоциация с формированием лекарственной устойчивости и большая вирулентность по сравнению с другими генотипами [48]. Последнее подтверждено как на уровне *in vivo* моделей [49], так и на уровне эпидемиологических исследований. Повышенная представленность факторов вирулентности продемонстрирована для штаммов семейства Beijing на молекулярном уровне, в том числе и в ходе симтемного омиксного анализа [23, 32, 50].

Принимая во внимание все вышесказанное, можно предположить, что наиболее перспективна ранняя диагностика именно штаммов семейства Beijing. В контексте данной задачи на сегодняшний день наиболее актуально использование микрофлюидного безмаркерного биосенсора на поверхностных оптических волнах в одномерном фотонном кристалле (ПВФК-биосенсора). ПВФК-биосенсор позволяет анализировать широкий диапазон взаимодействий: от образования различных белково-белковых комплексов до взаимодействия олигонуклеотидов различной последовательности. Основным преимуществом технологии является прохождение реакций в изолированной зоне минимального объема, что исключает контаминацию, сокращает время анализа, делает удобной процедуру анализа для оператора. Регистрация таких взаимодействий проводится в реальном времени и не требует предварительного мечения целевых биомолекул [51], что в свою очередь значительно упрощает и ускоряет процесс анализа.

С учетом потенциала ПВФК-биосенсора с двумерным пространственным разрешением [52] нами был предложен принципиально новый метод типирования возбудителя туберкулеза [53]: модификация поверхности фотонного кристалла декстраном и использование системы из олигонуклеотидов для детекции одноцепочечной ДНК *M. tuberculosis*. Стоит отметить, что метод модификации поверхности оптимизирован непосредственно для детекции туберкулезной ДНК [54]. Дополнительно предложен вариант упрощенной дифференциальной детекции штаммов семейства Beijing и LAM как наиболее распространенных на территории нашей страны. Такой подход позволит не только упростить сам процесс

диагностики, но и снизить затраты на разработку и производство диагностической тест-системы. При этом саму платформу можно использовать для протеомного типирования *M. tuberculosis*.

Для диагностики латентной туберкулезной инфекции в настоящее время используют два основных иммунных подхода, которые включены в руководство ВОЗ [55]: туберкулиновый кожный тест TST (от англ. tuberculin skin test) и тест на высвобождение интерферона- γ IGRA (от англ. interferon- γ release assay). Хотя IGRA обладает более высокой специфичностью, по сравнению с TST, ни один из этих тестов не позволяет точно отличить латентную туберкулезную инфекцию от активного туберкулеза. Оба теста имеют низкую чувствительность в различных группах населения с ослабленным иммунитетом. Когортные исследования показали, что и TST, и IGRA имеют низкую прогностическую ценность в отношении перехода латентной инфекции в активный туберкулез [56], поэтому важно тестировать только людей с риском прогрессирования и использовать все клинические данные в дополнение к результатам тестов. Для оценки результатов существуют удобные калькуляторы, такие как Online TST/IGRA Interpreter. Кожный тест C-Tb (Statens Serum Institut; Копенгаген, Дания), основанный на более специфичных для туберкулеза антигенах ESAT-6 и CFP10, показал схожий с TST профиль безопасности и точность, аналогичную IGRA, в ходе третьей фазы клинических испытаний [57, 58].

Несколькими группами исследователей сообщалось о потенциальной возможности использовать белок HspX в качестве маркера заболевания и в том числе латентной формы [59, 60]. Однако последующий системный анализ различных штаммов *M. tuberculosis* продемонстрировал несостоятельность такого подхода [32]. Таким образом,

поиск биомаркеров инфекционного процесса до сих пор остается наиболее актуальной задачей для исследователей во всем мире.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Туберкулез остается одной из главных проблем здравоохранения в нашей стране. Несмотря на наличие различных тест-систем, идентификация и особенно типирование патогена остаются актуальной задачей как в России, так и во всем мире. Имеющиеся технологии базируются преимущественно на использовании хорошо изученных геномных данных. За последние десятилетия в мире появилось множество других омиксных технологий, таких как метагеномика, транскриптомика, протеомика, метаболомика и культуромика, которые играют ключевую роль в понимании основных механизмов вирулентности, резистентности и патогенности бактерии. Мы рассмотрели различные омиксные технологии и возможность их использования в качестве диагностического инструмента. Согласно последним научным достижениям, омиксные технологии следует использовать согласованно, а не по отдельности, для получения значимых результатов в понимании патогенеза *Mycobacterium tuberculosis*. Помимо этого, для детального и целостного понимания необходимы новые технологии, такие как биоинформатика, нанотехнологии, одноклеточная геномика, а также новые технологии экспрессии генов, такие как наностринг, и инструменты визуализации. Рассматриваемые вместе наборы имеющихся и вновь получаемых омиксных данных должны создать интегрированное представление о глобальной регуляции генов *M. tuberculosis* и способствовать как развитию диагностических панелей, так и разработке новых эффективных методов лечения.

Литература

1. Rachow A, Ivanova O, Wallis R, Charalambous S, Jani I, Bhatt N, et al. TB sequel: Incidence, pathogenesis and risk factors of long-term medical and social sequelae of pulmonary TB — A study protocol 11 Medical and Health Sciences 1117 Public Health and Health Services. BMC Pulm Med. 2019; 19: 1–9. DOI: 10.1186/S12890-018-0777-3/TABLES/2.
2. Podany AT, Swindells S. Current strategies to treat tuberculosis. F1000Research. 2016; 5. DOI: 10.12688/F1000RESEARCH.7403.1/DOI.
3. Tiberi S, Scardigli A, Centis R, D'Ambrosio L, Muñoz-Torrico M, Salazar-Lezama MÁ, et al. Classifying new anti-tuberculosis drugs: rationale and future perspectives. Int J Infect Dis. 2017; 56: 181–4. DOI: 10.1016/J.IJID.2016.10.026.
4. Migliori GB, Tiberi S, Zumla A, Petersen E, Chakaya JM, Wejse C, et al. MDR/XDR-TB management of patients and contacts: Challenges facing the new decade. The 2020 clinical update by the Global Tuberculosis Network. Int J Infect Dis. 2020; 92S: S15–S25. DOI: 10.1016/J.IJID.2020.01.042.
5. Patterson B, Wood R. Is cough really necessary for TB transmission? Tuberculosis. 2019; 117: 31–35. DOI: 10.1016/J.TUBE.2019.05.003.
6. Chai Q, Wang L, Liu CH, Ge B. New insights into the evasion of host innate immunity by *Mycobacterium tuberculosis*. Cell Mol Immunol. 2020; 17: 901–13. DOI: 10.1038/s41423-020-0502-z.
7. Bradfute SB, Castillo EF, Arko-Mensah J, Chauhan S, Jiang S, Mandell M, et al. Autophagy as an immune effector against tuberculosis. Curr Opin Microbiol. 2013; 16: 355. DOI: 10.1016/J.MIB.2013.05.003.
8. Weiss G, Schaible UE. Macrophage defense mechanisms against intracellular bacteria. Immunol Rev. 2015; 264: 182–203. DOI: 10.1111/IMR.12266. PMID: 25703560.
9. Ehlers S, Schaible UE. The granuloma in tuberculosis: dynamics of a host-pathogen collusion. Front Immunol. 2013; 3. DOI: 10.3389/FIMMU.2012.00411. PMID: 23308075.
10. Qiang L, Wang J, Zhang Y, Ge P, Chai Q, Li B, et al. Mycobacterium tuberculosis Mce2E suppresses the macrophage innate immune response and promotes epithelial cell proliferation. Cell Mol Immunol. 2019; 16: 380–91. DOI: 10.1038/S41423-018-0016-0. PMID: 29572547.
11. Su H, Zhu S, Zhu L, Kong C, Huang Q, Zhang Z, et al. Mycobacterium tuberculosis latent antigen Rv2029c from the multistage DNA vaccine A39 drives TH1 responses via TLR-mediated macrophage activation. Front Microbiol. 2017; 8: 2266. DOI: 10.3389/FMICB.2017.02266/BIBTEX.
12. Peng H, Wang X, Barnes PF, Tang H, Townsend JC, Samten B. The Mycobacterium tuberculosis Early Secreted Antigenic Target of 6 kDa Inhibits T Cell Interferon- γ Production through the p38 Mitogen-activated Protein Kinase Pathway. J Biol Chem. 2011; 286: 24508–18. DOI: 10.1074/JBC.M111.234062. PMID: 21586573.
13. Wang X, Barnes PF, Huang F, Alvarez IB, Neuenschwander PF, Sherman DR, et al. Early secreted antigenic target of 6-kDa protein of *Mycobacterium tuberculosis* primes dendritic cells to stimulate Th17 and inhibit Th1 immune responses. J Immunol. 2012; 189: 3092–103. DOI: 10.4049/JIMMUNOL.1200573. PMID: 22904313.
14. Jung BG, Wang X, Yi N, Ma J, Turner J, Samten B. Early Secreted Antigenic Target of 6-kDa of *Mycobacterium tuberculosis*

- Stimulates IL6 Production by Macrophages through Activation of STAT3. *Sci Rep.* 2017; 7. DOI: 10.1038/SREP40984. PMID: 28106119.
15. Refai A, Gritli S, Barbouche MR, Essafi M. Mycobacterium tuberculosis Virulent Factor ESAT-6 Drives Macrophage Differentiation Toward the Pro-inflammatory M1 Phenotype and Subsequently Switches It to the Anti-inflammatory M2 Phenotype. *Front Cell Infect Microbiol.* 2018; 8. DOI: 10.3389/FCIMB.2018.00327. PMID: 30283745.
 16. Lin J, Jiang Y, Liu D, Dai X, Wang M, Dai Y. Early secreted antigenic target of 6-kDa of *Mycobacterium tuberculosis* induces transition of macrophages into epithelioid macrophages by downregulating iNOS / NO-mediated H3K27 trimethylation in macrophages. *Mol Immunol.* 2020; 117: 189–200. DOI: 10.1016/J.MOLIMM.2019.11.013. PMID: 31816492.
 17. Yaseen I, Kaur P, Nandicoori VK, Khosla S. Mycobacteria modulate host epigenetic machinery by Rv1988 methylation of a non-tail arginine of histone H3. *Nat Commun* 2015 6. 2015; 6: 1–13. DOI: 10.1038/ncomms9922. PMID: 26568365.
 18. Schubert OT, Mouritsen J, Ludwig C, Röst HL, Rosenberger G, Arthur PK, et al. The Mtb proteome library: A resource of assays to quantify the complete proteome of mycobacterium tuberculosis. *Cell Host Microbe.* 2013; 13: 602–12. DOI: 10.1016/j.chom.2013.04.008.
 19. Kunnath-Velayudhan S, Porcelli SA. Recent Advances in Defining the Immunoproteome of *Mycobacterium tuberculosis*. *Front Immunol.* 2013; 0: 335. DOI: 10.3389/FIMMU.2013.00335.
 20. Беспятых Ю. А., Шитиков Е. А., Ильина Е. Н. Протеомные подходы в изучении микобактерий. *Acta Naturae.* 2017; 9, 1 (32): 16–26. DOI: 10.32607/20758251-2017-9-1-15-25. PMID: 28461970.
 21. Uddin R, Siddiqui QN, Sufian M, Azam SS, Wadood A. Proteome-wide subtractive approach to prioritize a hypothetical protein of XDR-*Mycobacterium tuberculosis* as potential drug target. *Genes Genomics.* 2019; 41: 1281–92. DOI: 10.1007/S13258-019-00857-Z. PMID: 31388979.
 22. Cole ST, Brosch R, Parkhill J, Garnier T, Churcher C, Harris D, et al. Deciphering the biology of mycobacterium tuberculosis from the complete genome sequence. *Nature.* 1998; 537–44.
 23. Bespyatykh J, Shitikov E, Guliaev A, Smolyakov A, Klimina K, Veselovsky V, et al. System OMCs analysis of *Mycobacterium tuberculosis* Beijing B0/W148 cluster. *Sci Rep.* 2019; 9. DOI: 10.1038/s41598-019-55896-z. PMID: 31848428.
 24. Upadhyay S, Mittal E, Phillips JA. Tuberculosis and the art of macrophage manipulation. *Pathog Dis.* 2018; 76: 37. DOI: 10.1093/FEMSPD/FTY037. PMID: 29762680.
 25. Tientcheu LD, Koch A, Ndengane M, Andoseh G, Kampmann B, Wilkinson RJ. Immunological consequences of strain variation within the *Mycobacterium tuberculosis* complex. *Eur J Immunol.* 2017; 47: 432. DOI: 10.1002/EJL.201646562. PMID: 28150302.
 26. Van Embden JD, Cave MD, Crawford JT, Dale JW, Eisenach KD, Gicquel B, et al. Strain identification of *Mycobacterium tuberculosis* by DNA fingerprinting: recommendations for a standardized methodology. *J Clin Microbiol.* 1993; 31: 406–9. PMID: 8381814.
 27. Bespyatykh JA, Zimenkov DV, Shitikov EA, Kulagina EV, Lapa SA, Gryadunov DA, et al. Spoligotyping of *Mycobacterium tuberculosis* complex isolates using hydrogel oligonucleotide microarrays. *Infect Genet Evol.* 2014; 26. DOI: 10.1016/j.meegid.2014.04.024.
 28. Frothingham R, Meeker-O'Connell WA. Genetic diversity in the *Mycobacterium tuberculosis* complex based on variable numbers of tandem DNA repeats. *Microbiology.* 1998; 144 (Pt 5): 1189–96. DOI: 10.1099/00221287-144-5-1189. PMID: 9611793.
 29. Скворцова Т. А., Ажикина Т. Л. Анализ транскриптомов патогенных бактерий в инфицированном организме: проблемы и способы их решения (обзорная статья). *Биоорганическая химия.* 2010; 36: 596–606.
 30. Coppola M, Lai RPJ, Wilkinson RJ, Ottenhoff THM. The In Vivo Transcriptomic Blueprint of *Mycobacterium tuberculosis* in the Lung. *Front Immunol.* 2021; 12: 5212. DOI: 10.3389/FIMMU.2021.763364/BIBTEX. PMID: 35003075.
 31. Bespyatykh J, Shitikov E, Butenko I, Altukhov I, Alexeev D, Mokrousov I, et al. Proteome analysis of the *Mycobacterium tuberculosis* Beijing B0/W148 cluster. *Sci Rep.* 2016; 6. DOI: 10.1038/srep28985.
 32. Bespyatykh J, Shitikov E, Bespyatykh D, Guliaev A, Klimina K, Veselovsky V, et al. Metabolic Changes of *Mycobacterium tuberculosis* during the Anti-Tuberculosis Therapy. *Pathog (Basel, Switzerland).* 2020; 9. DOI: 10.3390/PATHOGENS9020131. PMID: 32085490.
 33. Nataraj V, Varela C, Javid A, Singh A, Besra GS, Bhatt A. Mycolic acids: deciphering and targeting the Achilles' heel of the tubercle bacillus. *Mol Microbiol.* 2015; 98: 7. DOI: 10.1111/MMI.13101. PMID: 26135034.
 34. Takayama K, Wang C, Besra GS. Pathway to Synthesis and Processing of Mycolic Acids in *Mycobacterium tuberculosis*. *Clin Microbiol Rev.* 2005; 18: 81. DOI: 10.1128/CMR.18.1.81-101.2005. PMID: 15653820.
 35. Chandra N, Kumar D, Rao K. Systems biology of tuberculosis. *Tuberculosis (Edinb).* 2011; 91: 487–96. DOI: 10.1016/J.TUBE.2011.02.008. PMID: 21459043.
 36. Beste DJV, Hooper T, Stewart G, Bonde B, Avignone-Rossa C, Bushell ME, et al. GSMN-TB: A web-based genome-scale network model of *Mycobacterium tuberculosis* metabolism. *Genome Biol.* 2007; 8: 1–18. DOI: 10.1186/GB-2007-8-5-R89/FIGURES/5. PMID: 17521419.
 37. Von Mering C, Huynen M, Jaeggi D, Schmidt S, Bork P, Snel B. STRING: a database of predicted functional associations between proteins. *Nucleic Acids Res.* 2003; 31: 258–61. DOI: 10.1093/NAR/GKG034. PMID: 12519996.
 38. Raman K, Vashisht R, Chandra N. Strategies for efficient disruption of metabolism in *Mycobacterium tuberculosis* from network analysis. *Mol Biosyst.* 2009; 5: 1740–51. DOI: 10.1039/B905817F. PMID: 19593474.
 39. Goletti D, Lee MR, Wang JY, Walter N, Ottenhoff THM. Update on tuberculosis biomarkers: From correlates of risk, to correlates of active disease and of cure from disease. *Respirology.* 2018; 23: 455–66. DOI: 10.1111/RESP.13272. PMID: 29457312.
 40. La Manna MP, Orlando V, Li Donni P, Sirci G, Di Carlo P, Cascio A, et al. Identification of plasma biomarkers for discrimination between tuberculosis infection/disease and pulmonary non tuberculosis disease. *PLoS One.* 2018; 13. DOI: 10.1371/JOURNAL.PONE.0192664. PMID: 29543810.
 41. Togun TO, MacLean E, Kampmann B, Pai M. Biomarkers for diagnosis of childhood tuberculosis: A systematic review. *PLoS One.* 2018; 13: e0204029. DOI: 10.1371/JOURNAL.PONE.0204029. PMID: 30212540.
 42. Zimenkov DV, Antonova OV, Kuzmin AV, Isaeva YD, Krylova LY, Popov SA, et al. Detection of second-line drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis* using oligonucleotide microarrays. *BMC Infect Dis.* 2013; 13: 1–8. DOI: 10.1186/1471-2334-13-240/TABLES/4. PMID: 23705640.
 43. Беспятых Ю. А., Шитиков Е. А., Зименков Д. В., Кулагина Е. В., Грядун Д. А., Носова Е. Ю., и др. Определение лекарственной устойчивости и генотипирование клинических штаммов *Mycobacterium tuberculosis* при помощи экспериментального набора «ТБ-ТЕСТ». *Пульмонология.* 2013; 4: 77–81. DOI: 10.18093/0869-0189-2013-0-4-77-81.
 44. Satta G, Lipman M, Smith GP, Arnold C, Kon OM, McHugh TD. *Mycobacterium tuberculosis* and whole-genome sequencing: how close are we to unleashing its full potential? *Clin Microbiol Infect.* 2018; 24: 604–9. DOI: 10.1016/J.CMI.2017.10.030. PMID: 29108952.
 45. Allix-Bequec C, Arandjelovic I, Lijun Bi, Beckert P, Bonnet M, Bradley P, et al. Prediction of Susceptibility to First-Line Tuberculosis Drugs by DNA Sequencing. *N Engl J Med.* 2018; 379: 1403–15. DOI: 10.1056/NEJMOA1800474. PMID: 30280646.
 46. Cox H, Mizrahi V. The Coming of Age of Drug-Susceptibility Testing for Tuberculosis. *N Engl J Med.* 2018; 379: 1474–5. DOI: 10.1056/NEJME1811861. PMID: 30256713.
 47. Shitikov E, Kolchenko S, Mokrousov I, Bespyatykh J, Ischenko D, Ilina E, et al. Evolutionary pathway analysis and unified classification of East Asian lineage of *Mycobacterium tuberculosis*. *Sci Rep.* 2017; 7: 9227. DOI: 10.1038/s41598-017-10018-5.
 48. Ribeiro SCM, Gomes LL, Amaral EP, Andrade MRM, Almeida FM, Rezende AL, et al. *Mycobacterium tuberculosis* strains of the modern sublineage of the Beijing family are more likely to display

- increased virulence than strains of the ancient sublineage. *J Clin Microbiol.* 2014; 52: 2615–24. DOI: 10.1128/JCM.00498-14. PMID: 24829250.
49. Беспятых Ю. А., Виноградова Т. И., Маничева О. А., Заболотных Н. В., Догондзе М. З., Витовская М. Л., и др. Вирулентность *Mycobacterium tuberculosis* генотипа Beijing в условиях in vivo. *Инфекция и иммунитет.* 2019; 9 (1): 173–82. DOI: 10.15789/2220-7619-2019-1-173-182.
 50. Bespyatykh J, Smolyakov A, Guliaev A, Shitikov E, Arapidi G, Butenko I, et al. Proteogenomic analysis of *Mycobacterium tuberculosis* Beijing B0/W148 cluster strains. *J Proteomics.* 2019; 192: 18–26. DOI: 10.1016/j.jprot.2018.07.002.
 51. Konopsky VN, Karakouz T, Alieva EV, Vicario C, Sekatskii SK, Dietler G. Photonic Crystal Biosensor Based on Optical Surface Waves. *Sensors.* 2013; 13: 2566–78. DOI: 10.3390/S130202566. PMID: 23429517.
 52. Konopsky V, Mitko T, Aldarov K, Alieva E, Basmanov D, Moskalets A, et al. Photonic crystal surface mode imaging for multiplexed and high-throughput label-free biosensing. *Biosens Bioelectron.* 2020; 168. DOI: 10.1016/J.BIOS.2020.112575. PMID: 32892115.
 53. Митько Т. В., Шажуров Р. И., Ширшиков Ф. В., Сизова С. В., Алиева Е. В., Конопский В. Н., и др. Создание микрофлюидного биосенсора для диагностики и типирования *Mycobacterium tuberculosis*. *Клиническая практика.* 2021; 12 (2): 14–20. DOI: <https://doi.org/10.17816/clinpract71815>.
 54. Sizova S, Shakurov R, Mitko T, Shirshikov F, Solovyeva D, Konopsky V, et al. The Elaboration of Effective Coatings for Photonic Crystal Chips in Optical Biosensors. *Polymers (Base).* 2021; 14. DOI: 10.3390/POLYM14010152. PMID: 35012173.
 55. WHO. Latent tuberculosis infection: updated and consolidated guidelines for programmatic management [cited 2022 Apr 11]. Available from: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/260233>.
 56. Pai M, Denkinger CM, Kik SV, Rangaka MX, Zwerling A, Oxlade O, et al. Gamma interferon release assays for detection of *Mycobacterium tuberculosis* infection. *Clin Microbiol Rev.* 2014; 27: 3–20. DOI: 10.1128/CMR.00034-13. PMID: 24396134.
 57. Aggerbeck H, Ruhwald M, Hoff ST, Borregaard B, Hellstrom E, Malahleha M, et al. C-Tb skin test to diagnose *Mycobacterium tuberculosis* infection in children and HIV-infected adults: A phase 3 trial. *PLoS One.* 2018; 13. DOI: 10.1371/JOURNAL.PONE.0204554. PMID: 30248152.
 58. Ruhwald M, Aggerbeck H, Gallardo RV, Hoff ST, Villate JI, Borregaard B, et al. Safety and efficacy of the C-Tb skin test to diagnose *Mycobacterium tuberculosis* infection, compared with an interferon — release assay and the tuberculin skin test: a phase 3, double-blind, randomised, controlled trial. *Lancet Respir Med.* 2017; 5: 259–68. DOI: 10.1016/S2213-2600(16)30436-2. PMID: 28159608.
 59. Castro-Garza J, García-Jacobo P, Rivera-Morales LG, Quinn FD, Barber J, Karls R, et al. Detection of anti-HspX antibodies and HspX protein in patient sera for the identification of recent latent infection by *Mycobacterium tuberculosis*. *PLoS One.* 2017; 12. DOI: 10.1371/JOURNAL.PONE.0181714. PMID: 28813434.
 60. Dhiman A, Haldar S, Mishra SK, Sharma N, Bansal A, Ahmad Y, et al. Generation and application of DNA aptamers against HspX for accurate diagnosis of tuberculous meningitis. *Tuberculosis (Edinb).* 2018; 112: 27–36. DOI: 10.1016/J.TUBE.2018.07.004. PMID: 30205966.

References

1. Rachow A, Ivanova O, Wallis R, Charalambous S, Jani I, Bhatt N, et al. TB sequel: Incidence, pathogenesis and risk factors of long-term medical and social sequelae of pulmonary TB — A study protocol 11 Medical and Health Sciences 1117 Public Health and Health Services. *BMC Pulm Med.* 2019; 19: 1–9. DOI: 10.1186/S12890-018-0777-3/TABLES/2.
2. Podany AT, Swindells S. Current strategies to treat tuberculosis. *F1000Research.* 2016; 5. DOI: 10.12688/F1000RESEARCH.7403.1/DOI.
3. Tiberi S, Scardigli A, Centis R, D'Ambrosio L, Muñoz-Torrico M, Salazar-Lezama MÁ, et al. Classifying new anti-tuberculosis drugs: rationale and future perspectives. *Int J Infect Dis.* 2017; 56: 181–4. DOI: 10.1016/J.IJID.2016.10.026.
4. Migliori GB, Tiberi S, Zumla A, Petersen E, Chakaya JM, Wejse C, et al. MDR/XDR-TB management of patients and contacts: Challenges facing the new decade. The 2020 clinical update by the Global Tuberculosis Network. *Int J Infect Dis.* 2020; 92S: S15–S25. DOI: 10.1016/J.IJID.2020.01.042.
5. Patterson B, Wood R. Is cough really necessary for TB transmission? *Tuberculosis.* 2019; 117: 31–35. DOI: 10.1016/J.TUBE.2019.05.003.
6. Chai Q, Wang L, Liu CH, Ge B. New insights into the evasion of host innate immunity by *Mycobacterium tuberculosis*. *Cell Mol Immunol.* 2020; 17: 901–13. DOI: 10.1038/s41423-020-0502-z.
7. Bradfute SB, Castillo EF, Arko-Mensah J, Chauhan S, Jiang S, Mandell M, et al. Autophagy as an immune effector against tuberculosis. *Curr Opin Microbiol.* 2013; 16: 355. DOI: 10.1016/J.MIB.2013.05.003.
8. Weiss G, Schaible UE. Macrophage defense mechanisms against intracellular bacteria. *Immunol Rev.* 2015; 264: 182–203. DOI: 10.1111/IMR.12266. PMID: 25703560.
9. Ehlers S, Schaible UE. The granuloma in tuberculosis: dynamics of a host-pathogen collusion. *Front Immunol.* 2013; 3. DOI: 10.3389/FIMMU.2012.00411. PMID: 23308075.
10. Qiang L, Wang J, Zhang Y, Ge P, Chai Q, Li B, et al. *Mycobacterium tuberculosis* Mce2E suppresses the macrophage innate immune response and promotes epithelial cell proliferation. *Cell Mol Immunol.* 2019; 16: 380–91. DOI: 10.1038/S41423-018-0016-0. PMID: 29572547.
11. Su H, Zhu S, Zhu L, Kong C, Huang Q, Zhang Z, et al. *Mycobacterium tuberculosis* latent antigen Rv2029c from the multistage DNA vaccine A39 drives TH1 responses via TLR-mediated macrophage activation. *Front Microbiol.* 2017; 8: 2266. DOI: 10.3389/FMICB.2017.02266/BIBTEX.
12. Peng H, Wang X, Barnes PF, Tang H, Townsend JC, Samten B. The *Mycobacterium tuberculosis* Early Secreted Antigenic Target of 6 kDa Inhibits T Cell Interferon- γ Production through the p38 Mitogen-activated Protein Kinase Pathway. *J Biol Chem.* 2011; 286: 24508–18. DOI: 10.1074/JBC.M111.234062. PMID: 21586573.
13. Wang X, Barnes PF, Huang F, Alvarez IB, Neuenschwander PF, Sherman DR, et al. Early secreted antigenic target of 6-kDa protein of *Mycobacterium tuberculosis* primes dendritic cells to stimulate Th17 and inhibit Th1 immune responses. *J Immunol.* 2012; 189: 3092–103. DOI: 10.4049/JIMMUNOL.1200573. PMID: 22904313.
14. Jung BG, Wang X, Yi N, Ma J, Turner J, Samten B. Early Secreted Antigenic Target of 6-kDa of *Mycobacterium tuberculosis* Stimulates IL6 Production by Macrophages through Activation of STAT3. *Sci Rep.* 2017; 7. DOI: 10.1038/SREP40984. PMID: 28106119.
15. Refai A, Gritli S, Barbouche MR, Essafi M. *Mycobacterium tuberculosis* Virulent Factor ESAT-6 Drives Macrophage Differentiation Toward the Pro-inflammatory M1 Phenotype and Subsequently Switches It to the Anti-inflammatory M2 Phenotype. *Front Cell Infect Microbiol.* 2018; 8. DOI: 10.3389/FMICB.2018.00327. PMID: 30283745.
16. Lin J, Jiang Y, Liu D, Dai X, Wang M, Dai Y. Early secreted antigenic target of 6-kDa of *Mycobacterium tuberculosis* induces transition of macrophages into epithelioid macrophages by downregulating iNOS / NO-mediated H3K27 trimethylation in macrophages. *Mol Immunol.* 2020; 117: 189–200. DOI: 10.1016/J.MOLIMM.2019.11.013. PMID: 31816492.
17. Yaseen I, Kaur P, Nandicoori VK, Khosla S. *Mycobacteria* modulate host epigenetic machinery by Rv1988 methylation of a non-tail arginine of histone H3. *Nat Commun.* 2015 6: 1–13. DOI: 10.1038/ncomms9922. PMID: 26568365.
18. Schubert OT, Mouritsen J, Ludwig C, Röst HL, Rosenberger G,

- Arthur PK, et al. The Mtb proteome library: A resource of assays to quantify the complete proteome of mycobacterium tuberculosis. *Cell Host Microbe*. 2013; 13: 602–12. DOI: 10.1016/j.chom.2013.04.008.
19. Kunnath-Velayudhan S, Porcelli SA. Recent Advances in Defining the Immunoproteome of Mycobacterium tuberculosis. *Front Immunol*. 2013; 0: 335. DOI: 10.3389/FIMMU.2013.00335.
 20. Беспятых Ю. А., Шитиков Е. А., Ильина Е. Н. Протеомные подходы в изучении микобактерий. *Acta Naturae*. 2017; 9, 1 (32): 16–26. DOI: 10.32607/20758251-2017-9-1-15-25. PMID: 28461970.
 21. Uddin R, Siddiqui QN, Sufian M, Azam SS, Wadood A. Proteome-wide subtractive approach to prioritize a hypothetical protein of XDR-Mycobacterium tuberculosis as potential drug target. *Genes Genomics*. 2019; 41: 1281–92. DOI: 10.1007/S13258-019-00857-Z. PMID: 31388979.
 22. Cole ST, Brosch R, Parkhill J, Garnier T, Churcher C, Harris D, et al. Deciphering the biology of mycobacterium tuberculosis from the complete genome sequence. *Nature*. 1998; 537–44.
 23. Bespyatykh J, Shitikov E, Guliaev A, Smolyakov A, Klimina K, Veselovsky V, et al. System OMCs analysis of Mycobacterium tuberculosis Beijing B0/W148 cluster. *Sci Rep*. 2019; 9. DOI: 10.1038/s41598-019-55896-z. PMID: 31848428.
 24. Upadhyay S, Mittal E, Phillips JA. Tuberculosis and the art of macrophage manipulation. *Pathog Dis*. 2018; 76: 37. DOI: 10.1093/FEMSPD/FTY037. PMID: 29762680.
 25. Tientcheu LD, Koch A, Ndengane M, Andoseh G, Kampmann B, Wilkinson RJ. Immunological consequences of strain variation within the Mycobacterium tuberculosis complex. *Eur J Immunol*. 2017; 47: 432. DOI: 10.1002/EJL.201646562. PMID: 28150302.
 26. Van Embden JD, Cave MD, Crawford JT, Dale JW, Eisenach KD, Gicquel B, et al. Strain identification of Mycobacterium tuberculosis by DNA fingerprinting: recommendations for a standardized methodology. *J Clin Microbiol*. 1993; 31: 406–9. PMID: 8381814.
 27. Bespyatykh JA, Zimenkov DV, Shitikov EA, Kulagina EV, Lapa SA, Gryadunov DA, et al. Spoligotyping of Mycobacterium tuberculosis complex isolates using hydrogel oligonucleotide microarrays. *Infect Genet Evol*. 2014; 26. DOI: 10.1016/j.meegid.2014.04.024.
 28. Frothingham R, Meeker-O'Connell WA. Genetic diversity in the Mycobacterium tuberculosis complex based on variable numbers of tandem DNA repeats. *Microbiology*. 1998; 144 (Pt 5): 1189–96. DOI: 10.1099/00221287-144-5-1189. PMID: 9611793.
 29. Skvorcova TA, Azhikina TL. Analiz transkriptomov patogennykh bakterij v inficirovannom organizme: problemy i sposoby ix resheniya (obzornaya stat'ya). *Bioorganicheskaya ximiya*. 2010; 36: 596–606. Russian.
 30. Coppola M, Lai RPJ, Wilkinson RJ, Ottenhoff THM. The In Vivo Transcriptomic Blueprint of Mycobacterium tuberculosis in the Lung. *Front Immunol*. 2021; 12: 5212. DOI: 10.3389/FIMMU.2021.763364/BIBTEX. PMID: 35003075.
 31. Bespyatykh J, Shitikov E, Butenko I, Altukhov I, Alexeev D, Mokrousov I, et al. Proteome analysis of the Mycobacterium tuberculosis Beijing B0/W148 cluster. *Sci Rep*. 2016; 6. DOI: 10.1038/srep28985.
 32. Bespyatykh J, Shitikov E, Bespyatykh D, Guliaev A, Klimina K, Veselovsky V, et al. Metabolic Changes of Mycobacterium tuberculosis during the Anti-Tuberculosis Therapy. *Pathog (Basel, Switzerland)*. 2020; 9. DOI: 10.3390/PATHOGENS9020131. PMID: 32085490.
 33. Nataraj V, Varela C, Javid A, Singh A, Besra GS, Bhatt A. Mycolic acids: deciphering and targeting the Achilles' heel of the tubercle bacillus. *Mol Microbiol*. 2015; 98: 7. DOI: 10.1111/MMI.13101. PMID: 26135034.
 34. Takayama K, Wang C, Besra GS. Pathway to Synthesis and Processing of Mycolic Acids in Mycobacterium tuberculosis. *Clin Microbiol Rev*. 2005; 18: 81. DOI: 10.1128/CMR.18.1.81-101.2005. PMID: 15653820.
 35. Chandra N, Kumar D, Rao K. Systems biology of tuberculosis. *Tuberculosis (Edinb)*. 2011; 91: 487–96. DOI: 10.1016/J.TUBE.2011.02.008. PMID: 21459043.
 36. Beste DJV, Hooper T, Stewart G, Bonde B, Avignone-Rossa C, Bushell ME, et al. GSMN-TB: A web-based genome-scale network model of Mycobacterium tuberculosis metabolism. *Genome Biol*. 2007; 8: 1–18. DOI: 10.1186/GB-2007-8-5-R89/FIGURES/5. PMID: 17521419.
 37. Von Mering C, Huynen M, Jaeggi D, Schmidt S, Bork P, Snel B. STRING: a database of predicted functional associations between proteins. *Nucleic Acids Res*. 2003; 31: 258–61. DOI: 10.1093/NAR/GKG034. PMID: 12519996.
 38. Raman K, Vashisht R, Chandra N. Strategies for efficient disruption of metabolism in Mycobacterium tuberculosis from network analysis. *Mol Biosyst*. 2009; 5: 1740–51. DOI: 10.1039/B905817F. PMID: 19593474.
 39. Goletti D, Lee MR, Wang JY, Walter N, Ottenhoff THM. Update on tuberculosis biomarkers: From correlates of risk, to correlates of active disease and of cure from disease. *Respirology*. 2018; 23: 455–66. DOI: 10.1111/RESP.13272. PMID: 29457312.
 40. La Manna MP, Orlando V, Li Donni P, Sireci G, Di Carlo P, Cascio A, et al. Identification of plasma biomarkers for discrimination between tuberculosis infection/disease and pulmonary non tuberculosis disease. *PLoS One*. 2018; 13. DOI: 10.1371/JOURNAL.PONE.0192664. PMID: 29543810.
 41. Togun TO, MacLean E, Kampmann B, Pai M. Biomarkers for diagnosis of childhood tuberculosis: A systematic review. *PLoS One*. 2018; 13: e0204029. DOI: 10.1371/JOURNAL.PONE.0204029. PMID: 30212540.
 42. Zimenkov DV, Antonova OV, Kuzmin AV, Isaeva YD, Krylova LY, Popov SA, et al. Detection of second-line drug resistance in Mycobacterium tuberculosis using oligonucleotide microarrays. *BMC Infect Dis*. 2013; 13: 1–8. DOI: 10.1186/1471-2334-13-240/TABLES/4. PMID: 23705640.
 43. Bespyatykh YuA, Shitikov EA, Zimenkov DV, Kulagina EV, Gryadunov D. A, Nosova EYu, i dr. Opredelenie lekarstvennoj ustojchivosti i genotipirovanie klinicheskix shtammov *Mycobacterium tuberculosis* pri pomoshhi ehksperimental'nogo nabora «TB-TEST». *Pul'monologiya*. 2013; 4: 77–81. DOI: 10.18093/0869-0189-2013-0-4-77-81. Russian.
 44. Satta G, Lipman M, Smith GP, Arnold C, Kon OM, McHugh TD. Mycobacterium tuberculosis and whole-genome sequencing: how close are we to unleashing its full potential? *Clin Microbiol Infect*. 2018; 24: 604–9. DOI: 10.1016/J.CMI.2017.10.030. PMID: 29108952.
 45. Allix-Bequec C, Arandjelovic I, Lijun Bi, Beckert P, Bonnet M, Bradley P, et al. Prediction of Susceptibility to First-Line Tuberculosis Drugs by DNA Sequencing. *N Engl J Med*. 2018; 379: 1403–15. DOI: 10.1056/NEJMOA1800474. PMID: 30280646.
 46. Cox H, Mizrahi V. The Coming of Age of Drug-Susceptibility Testing for Tuberculosis. *N Engl J Med*. 2018; 379: 1474–5. DOI: 10.1056/NEJME1811861. PMID: 30256713.
 47. Shitikov E, Kolchenko S, Mokrousov I, Bespyatykh J, Ischenko D, Ilina E, et al. Evolutionary pathway analysis and unified classification of East Asian lineage of Mycobacterium tuberculosis. *Sci Rep*. 2017; 7: 9227. DOI: 10.1038/s41598-017-10018-5.
 48. Ribeiro SCM, Gomes LL, Amaral EP, Andrade MRM, Almeida FM, Rezende AL, et al. Mycobacterium tuberculosis strains of the modern sublineage of the Beijing family are more likely to display increased virulence than strains of the ancient sublineage. *J Clin Microbiol*. 2014; 52: 2615–24. DOI: 10.1128/JCM.00498-14. PMID: 24829250.
 49. Bespyatykh YuA, Vinogradova TI, Manicheva OA, Zabolotnykh NV, Dogonadze MZ, Vitovskaya ML, i dr. Virulentnost' Mycobacterium tuberculosis genotipa Beijing v usloviyax in vivo. *Infekciya i immunitet*. 2019; 9 (1): 173–82. DOI: 10.15789/2220-7619-2019-1-173-182. Russian.
 50. Bespyatykh J, Smolyakov A, Guliaev A, Shitikov E, Arapidi G, Butenko I, et al. Proteogenomic analysis of Mycobacterium tuberculosis Beijing B0/W148 cluster strains. *J Proteomics*. 2019; 192: 18–26. DOI: 10.1016/j.jprot.2018.07.002.
 51. Konopsky VN, Karakouz T, Alieva EV, Vicario C, Sekatskii SK, Dietler G. Photonic Crystal Biosensor Based on Optical Surface Waves. *Sensors*. 2013; 13: 2566–78. DOI: 10.3390/S130202566. PMID: 23429517.
 52. Konopsky V, Mitko T, Aldarov K, Alieva E, Basmanov D, Moskalets A, et al. Photonic crystal surface mode imaging for multiplexed and high-throughput label-free biosensing. *Biosens Bioelectron*. 2020; 168. DOI: 10.1016/J.BIOS.2020.112575. PMID: 32892115.

53. Mitko TV, Shakurov RI, Shirshikov FV, Sizova SV, Alieva EV, Konopskij VN, i dr. Sozdanie mikroflyuidnogo biosensora dlya diagnostiki i tipirovaniya Mycobacterium tuberculosis. *Klinicheskaya praktika*. 2021; 12 (2): 14–20. DOI: <https://doi.org/10.17816/clinpract71815>. Russian.
54. Sizova S, Shakurov R, Mitko T, Shirshikov F, Solovyeva D, Konopsky V, et al. The Elaboration of Effective Coatings for Photonic Crystal Chips in Optical Biosensors. *Polymers (Basel)*. 2021; 14. DOI: 10.3390/POLYM14010152. PMID: 35012173.
55. WHO. Latent tuberculosis infection: updated and consolidated guidelines for programmatic management [cited 2022 Apr 11]. Available from: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/260233>.
56. Pai M, Denkinger CM, Kik SV, Rangaka MX, Zwerling A, Oxlade O, et al. Gamma interferon release assays for detection of Mycobacterium tuberculosis infection. *Clin Microbiol Rev*. 2014; 27: 3–20. DOI: 10.1128/CMR.00034-13. PMID: 24396134.
57. Aggerbeck H, Ruhwald M, Hoff ST, Borregaard B, Hellstrom E, Malahleha M, et al. C-Tb skin test to diagnose Mycobacterium tuberculosis infection in children and HIV-infected adults: A phase 3 trial. *PLoS One*. 2018; 13. DOI: 10.1371/JOURNAL.PONE.0204554. PMID: 30248152.
58. Ruhwald M, Aggerbeck H, Gallardo RV, Hoff ST, Villate JI, Borregaard B, et al. Safety and efficacy of the C-Tb skin test to diagnose Mycobacterium tuberculosis infection, compared with an interferon — release assay and the tuberculin skin test: a phase 3, double-blind, randomised, controlled trial. *Lancet Respir Med*. 2017; 5: 259–68. DOI: 10.1016/S2213-2600(16)30436-2. PMID: 28159608.
59. Castro-Garza J, García-Jacobo P, Rivera-Morales LG, Quinn FD, Barber J, Karls R, et al. Detection of anti-HspX antibodies and HspX protein in patient sera for the identification of recent latent infection by Mycobacterium tuberculosis. *PLoS One*. 2017; 12. DOI: 10.1371/JOURNAL.PONE.0181714. PMID: 28813434.
60. Dhiman A, Haldar S, Mishra SK, Sharma N, Bansal A, Ahmad Y, et al. Generation and application of DNA aptamers against HspX for accurate diagnosis of tuberculous meningitis. *Tuberculosis (Edinb)*. 2018; 112: 27–36. DOI: 10.1016/J.TUBE.2018.07.004. PMID: 30205966.