

Рекомендованное ВОЗ целевое секвенирование нового поколения, его применение в диагностическом алгоритме и особенности внедрения

Алексей Коробицын
Группа по диагностике,
Глобальная ТБ программа

Рекомендованные ВОЗ диагностические инструменты и инструменты в разработке

2025+



Новые подходы к сбору образцов



Впитывающие полоски в масках для лица

Дыхательные тесты и кожные пластыри



Сверхчувствительный LAM



Сравнение различных подходов к секвенированию

rpoB RRDR
hotspot
81bp

rpoB gene
>3500bp



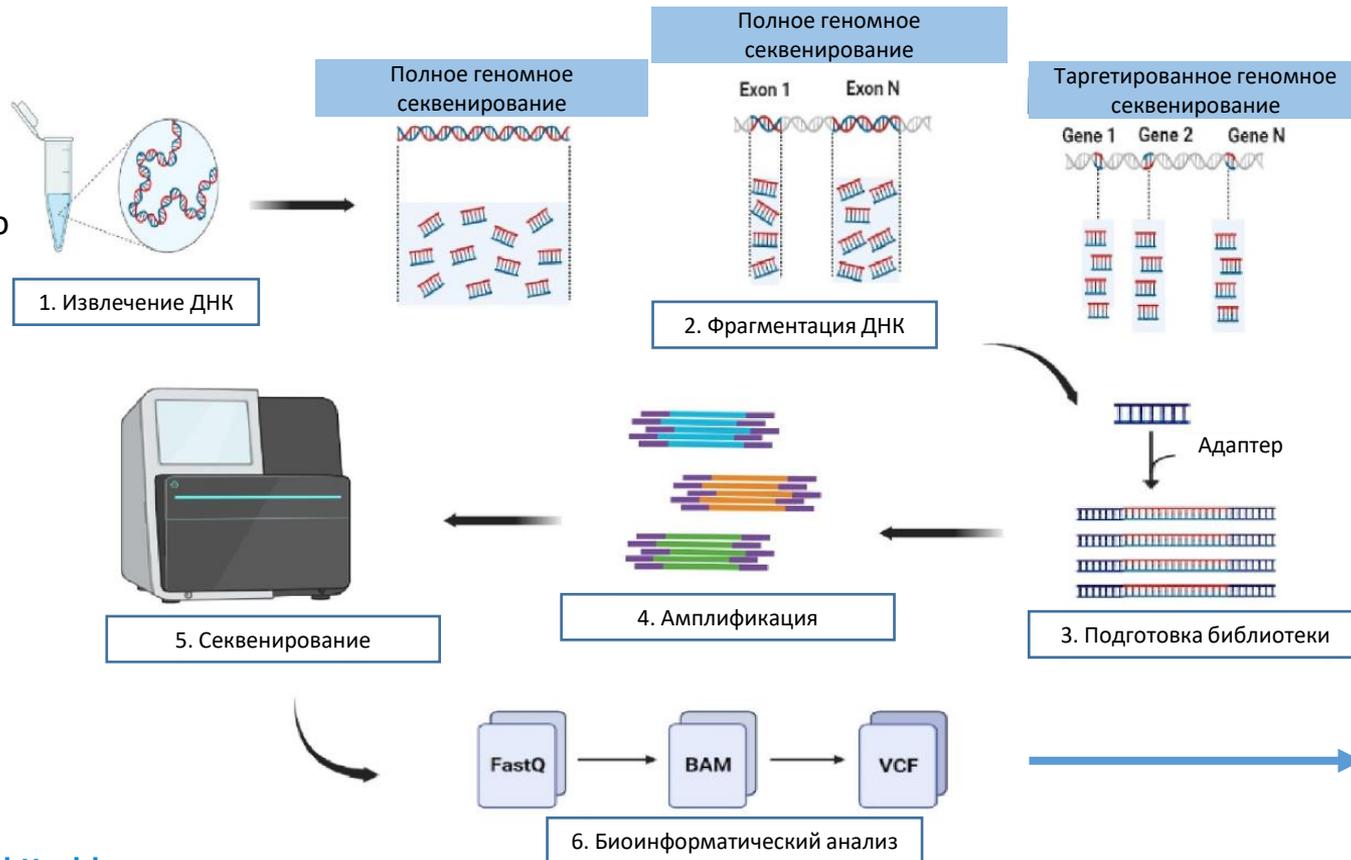
Mtb genome
> 4 million bp

Figure 1. Преимущества и ограничения молекулярных технологий для обнаружения резистентных мутаций в МБТ.

Процесс секвенирования

- Глубина покрытия
- Ширина покрытия

NB:
количество
входной
ДНК
критично



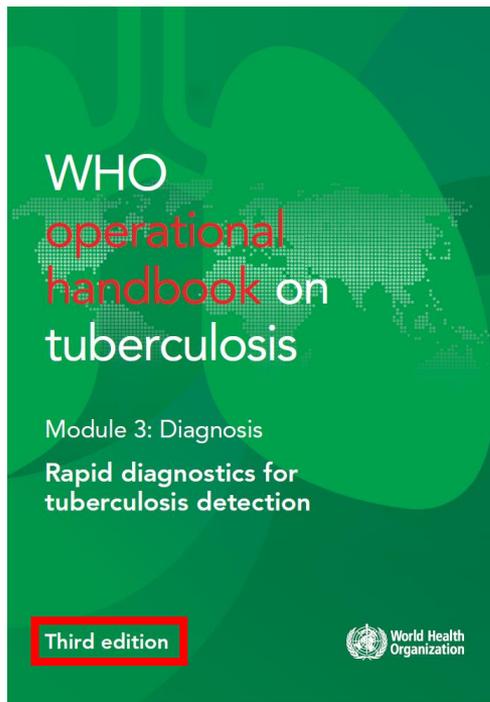
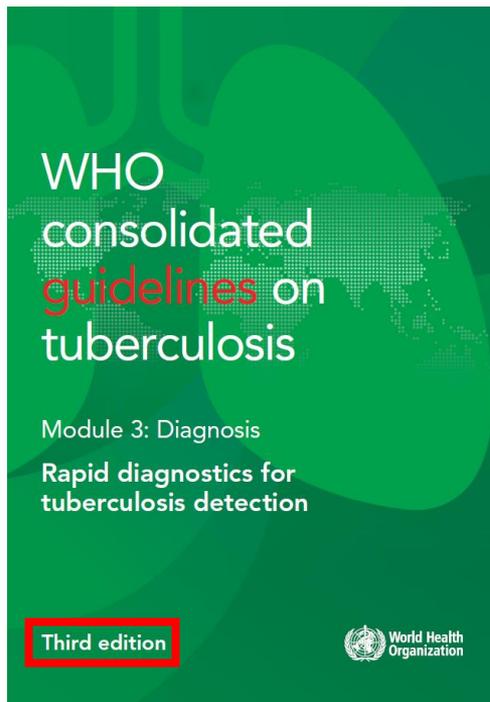
Класс продуктов таргетированного NGS

- Используют массовое параллельное секвенирование для выявления устойчивости к противотуберкулезным препаратам
- Начинают с обработанного клинического образца
- Заканчиваются отчетом для конечного пользователя, касающимся обнаруженных *M.tb.* мутаций на наличие (или отсутствие) лекарственной устойчивости, на основе интерпретации стандартного каталога мутаций.

Процесс ВОЗ по разработке рекомендаций

- В 2022 году ВОЗ заказала серию систематических обзоров опубликованных и неопубликованных данных о классе продуктов таргетированного NGS, которые коммерчески разрабатываются для выявления лекарственной устойчивости туберкулеза.
- Систематические обзоры включали данные о точности диагностики, экономическую информацию, а также качественные данные о осуществимости, приемлемости, справедливости, а также ценностях и предпочтениях конечного пользователя.
- ВОЗ созвала группу по разработке рекомендаций 2–5 мая 2023 г. для обсуждения результатов систематических обзоров и выработки рекомендаций по этой технологии.
- 25 июля ВОЗ опубликовала оперативное сообщение, включающее предварительные результаты процесса.
- Выпуск полных рекомендаций: март 2024 г.

Рекомендации и справочник ВОЗ по диагностике туберкулеза



Продукты, включенные в оценку

- **Deerplex[®] Мус -ТВ** (GenoScreen): для рифампицина, изониазида, пиразинамида, этамбутола, фторхинолонов, бедаквилина, линезолида, клофазимина, амикацина и стрептомицина.
- **AmPORE -ТВ[®]** (Oxford Nanopore Technologies): для рифампицина, изониазида, фторхинолонов, линезолида, амикацина и стрептомицина.
- **TBseq[®]** (ShengTing Biotech): для этамбутола.

Результаты тестирования среди людей с РУ-ТБ

- Точны для изониазида, левофлоксацина, моксифлоксацина, пиразинамида и этамбутола (объединенная чувствительность $\geq 95\%$)
- Приемлемы для бедаквилина (68%), линезолида (69%), клофазимины (70%), амикацина (87%) и пиразинамида (90%).
- Специфичность составила $\geq 95\%$ для всех препаратов, кроме стрептомицина (75%).

Рекомендации (бактериологически подтвержденный ТБ)

У людей с бактериологически подтвержденным ТБ легких можно использовать технологии таргетированного NGS на образцах из дыхательных путей для диагностики устойчивости к RIF, INH, Fq, Z и E, а не фТЛЧ на основе культуры . *(Условная рекомендация, достоверность доказательств умеренная [INH и Z], низкая [RIF, Fq и E])*

Примечания

- Приоритет следует отдавать лицам с более высоким риском резистентности к препаратам первой линии, включая лиц, которые:
 - продолжают оставаться положительными по мазку или посеву после 2 или более месяцев лечения или испытывают неэффективность лечения;
 - ранее лечились от туберкулеза,
 - находятся в контакте с человеком, имеющим устойчивость к противотуберкулезным препаратам; или
 - проживают в условиях или принадлежат к подгруппам, где существует высокая вероятность устойчивости к RIF, INH или FQ (используемым в новых более коротких схемах), или где существует высокая распространенность штаммов *M. tb*, несущих мутации, не обнаруживаемые другими быстрыми молекулярными методами.

Рекомендации (РУ-ТБ)

У людей с бактериологически подтвержденным РУ-ТБ легких можно использовать технологии таргетированного NGS на образцах из дыхательных путей для диагностики устойчивости к INH, Fq, Bdq, Lzl, Cfz, Z, E, Amk и S, а не фТЛЧ на основе культуры. *(Условная рекомендация, достоверность доказательств высокая [INH, Fq и Z], умеренная [E], низкая [Bdq, Lzl, Cfz и S], очень низкая [Amk])*

Примечания

- Приоритет следует отдавать лицам с более высоким риском резистентности к препаратам, используемым для лечения РУ-ТБ, включая лиц, которые:
 - продолжают оставаться положительными по мазку или посеву через 2 месяца или более лечения или у которых была отмечена неэффективность лечения;
 - ранее лечились от туберкулеза, в том числе новыми и перепрофилированными препаратами;
 - находятся в контакте с человеком, имеющим устойчивость к противотуберкулезным препаратам, в том числе к новым и перепрофилированным препаратам; или
 - имеют пре-ШЛУ-ТБ с устойчивостью к фторхинолонам.

Рекомендации по реализации (общие)

- **Одобрение** национальных регулирующих органов или других соответствующих органов.
- В своем нынешнем формате таргетированного NGS представляет собой тест высокой сложности, наиболее подходящий для централизованных лабораторий, оснащенных **специализированными навыками и инфраструктурой** .
- Таргетированные NGS тесты **не заменяют существующие экспресс-тесты, которые более доступны и проще в выполнении** для выявления устойчивости к RIF, INH и FQ .
 - Однако, если таргетированное NGS можно провести быстро, его можно рассматривать как альтернативный первоначальный вариант для приоритетных групп населения.
- Приоритет следует отдавать образцам с **высокой бактериальной нагрузкой**, определяемой первоначальными бактериологическими тестами (например, полуколичественный высокий/средний или положительный мазок).
 - В ситуациях, когда бактериальная нагрузка низкая (например, полуколичественная низкая/очень низкая/следы или отрицательный мазок), рекомендации по-прежнему остаются в силе, хотя частота неопределенных результатов, вероятно, будет выше;
 - поэтому фТЛЧ , вероятно, по-прежнему потребуется для образцов с низкой бактериальной нагрузкой.

Соображения по внедрению (BDQ, LZD, CFZ)

Поскольку чувствительность к устойчивости к BDQ, LZD и CFZ неоптимальна, учет претестовой вероятности важен для интерпретации результатов таргетированного NGS для этих препаратов. Дальнейшее тестирование образцов с чувствительным результатом (с использованием фТЛЧ на основе культуры) будет оправдано, особенно когда риск устойчивости высок. Поскольку специфичность высока, результат, указывающий на резистентность, может использоваться для определения терапии, особенно среди тех, кто подвержен риску резистентности.

Низкая претестовая вероятность

- Хорошая отрицательная прогностическая ценность

Высокая претестовая вероятность

- Хорошая положительная прогностическая ценность

Table 65: Should TNGS be used to diagnose drug resistance to bedaquiline (BDQ) (pDST) in patients with bacteriologically confirmed rifampin-resistant pulmonary TB disease?

Outcome	№ of studies (№ of patients)	Study design	Factors that may decrease certainty of evidence					Effect per 1,000 patients tested			Te: accur Co
			Risk of bias	Indirectness	Inconsistency	Imprecision	Publication bias	pre-test probability of 1%	pre-test probability of 3%	pre-test probability of 5%	
True positives (patients with drug resistance to bedaquiline (BDQ) (pDST))	3 studies 31 patients ^a	cross-sectional (cohort type accuracy study)	not serious ^b	not serious	not serious ^c	very serious ^d	none	7 (4 to 9)	20 (13 to 28)	34 (22 to 47)	⊕⊕⊕ Low
False negatives (patients incorrectly classified as not having drug resistance to bedaquiline (BDQ) (pDST))								3 (1 to 6)	10 (2 to 7)	16 (3 to 28)	
True negatives (patients without drug resistance to bedaquiline (BDQ) (pDST))	4 studies 519 patients ^e	cross-sectional (cohort type accuracy study)	not serious ^b	not serious	not serious	not serious	none	960 (931 to 990)	941 (912 to 970)	922 (893 to 950)	⊕⊕⊕ High
False positives (patients incorrectly classified as having drug resistance to bedaquiline (BDQ) (pDST))								30 (0 to 59)	29 (0 to 58)	28 (0 to 57)	

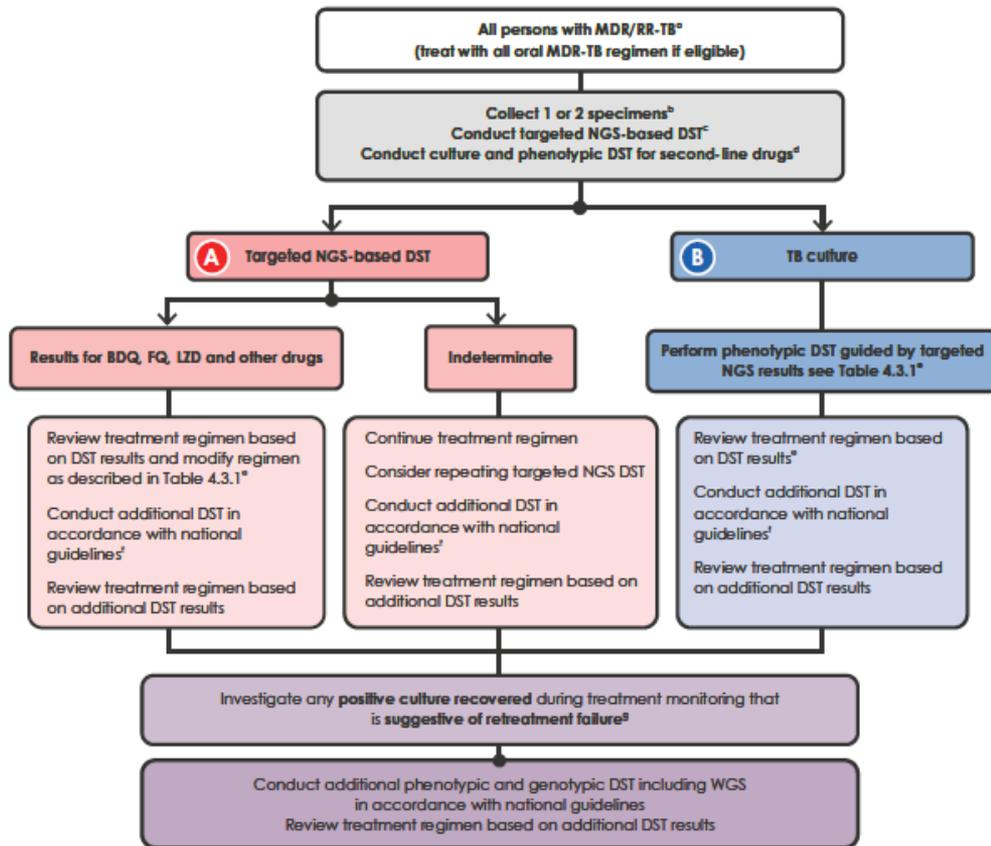
Prevalences	1%	3%	5%
-------------	----	----	----

b. Explanations

- This model is not controlled for CT value as that variable was collinear in the original model.
- Prevalence of resistance to bedaquiline across data used in the model was 6% (CI 4% to 8%).
- One study had very low sensitivity but it only had 3 resistant samples. It identified 0.3.
- Very wide 95% confidence intervals for sensitivity.
- This model is not controlled for rifampicin resistance as this variable was collinear in the original model. Instead, the data have been restricted to isolated that are resistant to rifampicin by Xpert, and then controlled for CT value.

Обновлен алгоритм диагностики с использованием таргетированного NGS

3a



Заключение

- Новые рекомендации по таргетированному NGS знаменуют собой серьезный сдвиг в диагностике лекарственно-устойчивого туберкулеза.
 - Устраняет важные пробелы в диагностике новых и перепрофилированных лекарств, несмотря на менее оптимальную эффективность.
- Стоимость и осуществимость являются потенциальными препятствиями, но открывают важные возможности после Covid.
 - Во многих странах имеются секвенаторы и имеется опыт
- Лучший подход к реализации еще не определен, но, вероятно, будет зависеть от контекста.
- Необходимо больше доказательств о новых препаратах и влиянии таргетированного NGS на важные исходы у пациентов.

Благодарности

- Глобальная программа ВОЗ по борьбе с туберкулезом
 - Назир Исмаил,
 - Алексей Коробицын,
 - Карл-Майкл Натансон
- Другие сотрудники ВОЗ в штаб-квартире, региональных и страновых офисах
- Группа разработки рекомендаций и другие эксперты
- Сотрудники национальных программ по борьбе с туберкулезом в государствах-членах
- USAID, Unitaid, Глобальный фонд

Спасибо

It's time for action
It's time to **END TB**

