

Порівняльний аналіз Xpert MTB/XDR і tNGS у діагностиці резистентності збудника туберкульозу до фторхінолонів

Барбова А.І., Журило О.А.

ДУ «Національний науковий центр фтизіатрії, пульмонології та алергології ім. Ф.Г. Яновського НАМН України», м. Київ, Україна

Обґрунтування. Стрімке поширення туберкульозу з розширеною резистентністю потребує швидкого та точного визначення молекулярно-генетичного профілю резистентності. Оскільки фторхінолони є основою сучасних укорочених режимів терапії, рекомендованих Всесвітньою організацією охорони здоров'я (ВООЗ), своєчасне виявлення мутацій стійкості в генах *gyrA* та *gyrB*, що асоційовані з резистентністю до фторхінолонів, є важливим для призначення ефективного лікування. Наразі у світовій практиці домінують два генотипові підходи: застосування картриджів Xpert MTB/XDR у системі GeneXpert MTB та цільове секвенування нового покоління (tNGS).

У світі рівень стійкості до фторхінолонів, що виявлений за допомогою сучасних молекулярно-генетичних технологій серед усіх випадків мультирезистентного туберкульозу, коливається в межах 20,0-25,0 %, в Україні цей показник сягає 32,0-38 %. Потреба в подальшій оптимізації тестування медикаментозної резистентності до фторхінолонів з використанням молекулярно-генетичних підходів зумовлює необхідність порівняльної оцінки їхньої ефективності.

Мета. Провести порівняльний аналіз молекулярно-генетичних методів із застосуванням картриджів

Xpert MTB/XDR і tNGS за показниками діагностичної точності, аналітичних можливостей і клінічної доцільності у виявленні резистентності *Mycobacterium tuberculosis* до фторхінолонів.

Результати. За даними систематичних оглядів Cochrane та звітів ВООЗ, аналіз ефективності зазначених молекулярно-генетичних методів демонструє високий рівень збігу результатів (конкордатність становить 94,0-96,0 %), але виявляються важливі технологічні відмінності. З даних, представлених у таблиці, видно, що спостережувана різниця в аналітичній чутливості між двома методами зумовлена їхніми технологічними особливостями та не є критичною. Водночас простежується висока специфічність методів. Основою методу в картриджах Xpert MTB/XDR є технологія полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) у реальному часі зі специфічними зондами, налаштованими лише на відомі, найпоширеніші «гарячі точки» мутацій (кодони 90-94 гена *gyrA* та кодони 500-543 гена *gyrB*).

Через це рідкісні поліморфізми, які з'являються поза цими ділянками, залишаються невиявленими, що знижує чутливість методу в окремих регіонах з унікальним епідеміологічним профілем. Тобто цей

Таблиця. Порівняльна характеристика платформ Xpert MTB/XDR і tNGS у діагностиці резистентності до фторхінолонів		
Критерій порівняння	Платформа з використанням картриджів Xpert MTB/XDR	Технологія цільового секвенування (tNGS)
Цільові генетичні локуси	Фіксовані «гарячі точки» генів <i>gyrA</i> та <i>gyrB</i>	Повільне покриття послідовностей генів <i>gyrA</i> та <i>gyrB</i>
Чутливість методу	93,0-93,5 % (іноді може знижуватися до 87,0 %)	95,0-98,5 % (стабільно висока завдяки виявленню рідкісних мутацій)
Специфічність методу	98,0 % (мінімальний ризик хибнопозитивних результатів)	98,5-100 % (максимальна точність верифікації)
Поріг виявлення гетерорезистентності	Обмежений: 10,0-40,0 % мутантної популяції в зразку	Високий: <5,0 %
Загальний збіг результатів (конкордатність)	94,0-96,0 % при прямому зіставленні з tNGS у рутинних дослідженнях	94,0-96,0 % при прямому зіставленні з Xpert MTB/XDR у рутинних дослідженнях
Час отримання результату	≈2 години	≈72 години (залежить від кількості клітин у зразку)
Вимоги до інфраструктури та персоналу	Автоматизована замкнена система. Вимоги мінімальні. Не потребує окремих приміщень. Легкість виконання та стандартизації. Може виконуватися середнім персоналом у лабораторії	Потребує додаткових приміщень, спеціалізованого обладнання. Потреба в додаткових кадрах і фахівцях з біоінформатичного аналізу. Складна для виконання методика
Основне клінічне призначення	Швидкий старт для призначення терапії протитуберкульозними препаратами другого ряду	Референс-діагностика, епідеміологічний нагляд

■ ТЕЗИ КОНФЕРЕНЦІЇ

метод обмежує виявлення мутацій у генах, що є попередньо запрограмованими мішенями зондів, і здатність виявляти мінорні резистентні мікобактеріальні субпопуляції (гетерорезистентність), змішані зі штамми дикого типу.

На відміну від ПЛР у реальному часі з використанням картриджів Xpert MTB/XDR технологія tNGS ґрунтується на глибокому ампліконному секвенуванні, яке повністю зчитує нуклеотидну послідовність цільових генів, пов'язаних зі стійкістю до фторхінолонів. Це дає змогу виявляти абсолютно всі заміни нуклеотидів, включно з новими варіантами мутацій і низькочастотними мутаціями або змішаними інфекціями, що може попередити клініцистів про появу резистентності. Низькочастотні клони циркулюють у мікобактеріальній популяції в організмі людини на рівні <5,0 %, є носіями мутацій медикаментозної резистентності та формують гетерорезистентність, але не можуть бути технологічно виявлені в системах картриджного ПЛР-типу.

Кожний з методів має свої переваги. Зокрема, молекулярно-генетичний метод з використанням картриджів Xpert MTB/XDR завдяки швидкості, точності,

зручності виконання, що не має особливих вимог до інфраструктури та персоналу, є пріоритетним для застосування в рутинних дослідженнях.

Висновки

Обидва методи характеризуються високою точністю та конкордатністю у визначенні профілю резистентності до фторхінолонів. Молекулярно-генетичний тест Xpert MTB/XDR є оптимальним інструментом першого етапу для негайного ухвалення клінічних рішень і швидкого призначення ефективних схем лікування пацієнтів з туберкульозом з розширеною резистентністю завдяки мінімальному часу аналізу. Водночас tNGS є потужним методом наступного етапу (референс-діагностика) для з'ясування суперечливих результатів, виявлення складних профілів резистентності, спрямування індивідуальних планів лікування, детального епідеміологічного моніторингу, ідентифікації рідкісних клінічно-значущих мутацій, верифікації складних випадків гетерорезистентності та за своїм призначенням може використовуватися в національних референс-лабораторіях.