

Укладачі: Журило О. А., д-р мед. наук, професор; Барбова А. І., канд. мед. наук, старш. наук. співроб.; Трофімова П. С., канд. мед. наук, наук. співроб.; Миронченко С. В., канд. мед. наук, мол. наук. співроб.; Яременко М. С., мол. наук. співроб.; Чернов О. В. лабораторний спеціаліст проекту USAID «Підтримка зусиль у протидії ТБ в Україні (PATH).

Рецензенти:

Гуменюк Г. Л., професор кафедри фтизіатрії і пульмонології Національного університету охорони здоров'я України імені П. Л. Шупика, д-р мед. наук.

Ліскіна І. В., д-р мед. наук, зав. лабораторії патоморфології ННЦ ФПА НАМНУ

Голова профільної проблемної комісії МОЗ та НАМН України: академік НАМН України, д-р мед. наук, професор Ю. І. Фещенко

Голова експертної комісії: д-р мед. наук, професор І. А. Калабуха

Відповідальний за випуск:

Державна установа «Національний науковий центр фтизіатрії, пульмонології та алергології імені Ф. Г. Яновського Національної академії медичних наук України», 10, вул. М. Амосова, м. Київ, 03038

тел. (044) 275 54 88, факс. (044) 275 21 18

E-mail: secretar@ifp.kiev.ua

Тираж 80 прим.

НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ МЕДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ
Державна установа
“Національний науковий центр фтизіатрії, пульмонології
та алергології імені Ф. Г. Яновського
Національної академії медичних наук України”
(ННЦ ФПА НАМНУ)

УДК: 616-002.5, 616-002.5:576.852.211-07-001.5.

Випуск із проблеми
"Фтизіатрія і пульмонологія"

ЗАТВЕРДЖЕНО

Вченою радою Державної установи
«Національний науковий центр фтизіатрії,
пульмонології та алергології
імені Ф. Г. Яновського НАМН України»,
протокол № 4
від «22» квітня 2025 р.

**НОВИЙ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧНИЙ МЕТОД
ЦІЛЬОВОГО СЕКВЕНУВАННЯ НОВОГО ПОКОЛІННЯ ДЛЯ
ВИЗНАЧЕННЯ СПЕКТРУ КЛІНІЧНО ЗНАЧУЩИХ
МУТАЦІЙ ДНК M. TUBERCULOSIS**

(інформаційний лист)

Київ 2025

*Пропонується для впровадження в практику роботи бактеріологічних лабораторій протитуберкульозних закладів України новий молекулярно-генетичний метод визначення спектру клінічно значущих мутацій ДНК *M. tuberculosis*, який апробовано і верифіковано в лабораторії мікробіології і біохімії ННЦ ФПА НАМНУ і рекомендується для імплементації в алгоритм діагностики туберкульозу в Україні.*

Дана розробка пропонується вперше, аналоги відсутні.

Цільове (таргетне) секвенування нового покоління (цСНП) – це інструмент для прямого виявлення клінічно значущих мутацій ДНК *M. tuberculosis* (МБТ), що є основою для своєчасного призначення ефективних схем лікування хворому на туберкульоз (ТБ) та моніторингу специфічної терапії кожного випадку ТБ. Особливе значення для клініцистів це має у прийнятті рішень щодо найкращих режимів лікування у випадках з МЛС-ТБ, пре-ШЛС-ТБ та ШЛС-ТБ. Крім того, генетичний тест медикаментозної чутливості (гТМЧ) на основі цСНП долає багато обмежень, що мають молекулярні тести, які рекомендовані на сьогодні ВООЗ, та можуть пропускати мутації за межами специфічних локусів, асоційованих з медикаментозною резистентністю, і призводити до хибнонегативних результатів, та/або у випадках мовчазних чи нейтральних мутацій, навпаки, надавати хибнопозитивні результати лікарської стійкості (ЛС) МБТ.

Метод цСНП дозволяє у зразках мокротиння, де виявлені МБТ, з використанням наборів Deeplex Мус-ТВ для виявлення ДНК МБТ, визначати мутації, пов'язані зі стійкістю до ізоніазиду, рифампіцину, етіонаміду, піразинаміду, етамбутолу, стрептоміцину, канаміцину, амікацину, капреоміцину, левофлоксацину, моксифлоксацину, лінезоліду, клофазиміну та бедаквіліну.

Цільове СНП здійснюється згідно стандартних операційних процедур (Верифікація методу цільового секвенування наступного покоління з використанням набору реагентів Deeplex Мус-ТВ (Genoscreen, Лілль, Франція) для визначення лікарської стійкості у зразках мокротиння / О. А. Журило та ін. // Укр. пульмонолог. журн. 2025. № 1. С. 23-30. DOI: 10.31215/2306-4927-2025-33-1-23-30).

Виділення ДНК мікобактерій для цСНП відбувається відповідно до СОП «Виділення високомолекулярної ДНК мікобактерій за допомогою набору реагентів QIAamp® DNA Mini Kit». Контроль якості та кількості ДНК проводиться згідно СОП «Вимірювання концентрації ДНК за допомогою спектрофотометра Denovix та флюориметра Quantus». Бібліотеки ДНК готуються у відповідності до СОП «Приготування бібліотеки ДНК для цільового секвенування з послідовним використанням наборів Deeplex® Мус-ТВ та Nextera XT». Секвенування зразків проводиться згідно СОП «Запуск секвенування на платформі Illumina MiSeq». Аналіз і інтерпретація файлів даних секвенування у форматі FASTQ виконується за допомогою додатку Deeplex Web Application відповідно до СОП «Аналіз файлів даних FASTQ за допомогою додатку Deeplex Web Application».

Перевагою методу є надійність платформи Illumina MiSeq, її мінімальні вимоги до біобезпеки та стислі терміни виконання досліджень – до 3-х діб.

Наявність достатньої кількості бактерій (геномів МБТ) для ампліфікації мішені є необхідною умовою для проведення молекулярного тесту. Отримані результати демонструють ефективність методу для рутинної діагностики зразків, де бактеріальне навантаження оцінюється як КСБ2+ або КСБ3+.

В результаті проведеного порівняльного аналізу профілю ЛС МБТ від пацієнтів з МС-ТБ з відомими мутаціями за результатами GeneXpert MTB/Rif Ultra та XDR та визначеною фенотипічною стійкістю до ПТП I-го і II-го ряду в системі BACTEC MGIT та результатами ЛС цих МБТ, отриманих за допомогою нового методу цСНП, визначено ефективність нового тесту Deeplex Мус-ТВ. Мінімальні показники у порівнянні з «золотим стандартом» фТМЧ склали: чутливість – 90,0 %, специфічність – 91,7 %, загальна точність не нижче 96,9 %. Чутливість та специфічність методу у виявленні резистентності МБТ до ПТП відповідає даним, наведеним в інструкції виробника Deeplex Мус-ТВ. Показники PPV ≥ 94,4 % та NPV ≥ 94,1 % демонструють точність та відповідність методу до стандарту фТМЧ. Метод верифіковано для застосування на зразках мокротиння.