



Тесты молекулярной гибридизации с типоспецифическими зондами для выявления лекарственно- устойчивого туберкулеза

Руководство по интерпретации
и отчетности для лабораторного
персонала и врачей



Тесты молекулярной
гибридизации с
типоспецифическими зондами
для выявления лекарственно-
устойчивого туберкулеза

Руководство по интерпретации и отчетности
для лабораторного персонала и врачей



Содержание

Принятые сокращения	v
Глоссарий	vi
Выражение признательности	vii
О руководстве	viii
Введение	1
Принцип теста молекулярной гибридизации с типоспецифическими зондами	2
GenoType MTBDR <i>plus</i> Version 2	3
GenoType MTBDR <i>s</i> Version 2	3
Интерпретация и отчетность по тестам молекулярной гибридизации с типоспецифическими зондами	3
Пересмотр интерпретации производителя	5
Дополнительные диагностические действия, необходимые для надлежащего лечения ТБ	8
Интерпретация теста молекулярной гибридизации с типоспецифическими зондами (LPA) для препаратов первого ряда (ПР)	10
Рифампицин	10
Изониазид	12
Интерпретация теста молекулярной гибридизации с типоспецифическими зондами (LPA) для препаратов второго ряда (ВР)	14
Фторхинолоны	14
Инъекционные препараты второго ряда	18
Анализ клинических случаев: примеры оценки лекарственной устойчивости ТБ на основе ВР-LPA	20
Список использованной литературы	27
Приложение 1. Форма отчетности по ПР-LPA: примеры из практики	29
Приложение 2. Форма отчетности по ВР-LPA: примеры из практики	30
Приложение 3. Специфические нуклеотидные замены, выявленные МУТ-зондами	32

Принятые сокращения

Am	амикацин
КПЗ	клинические пограничные значения
КК	критическая концентрация
Сm	капреомицин
ТЛЧ	тестирование лекарственной чувствительности
Еto	этионамид
ПР-LPA	тест молекулярной гибридизации с типоспецифическими зондами для препаратов первого ряда
FQ	фторхинолоны
Н	изониазид
Кm	канамицин
Lfx	левофлоксацин
LPA	тест молекулярной гибридизации с типоспецифическими зондами
НТМБ	нетуберкулезные микобактерии
МИК	минимальная ингибирующая концентрация
МЛУ-ТБ	туберкулез с множественной лекарственной устойчивостью
Mfx	моксифлоксацин
МБТК	микобактерии туберкулезного комплекса
МУТ	мутантный зонд
Pto	протионамид
УОУХ	участок определения устойчивости к фторхинолону
У	устойчивый
УОУР	участок определения устойчивости к рифампицину
Rif	рифампицин
Ч	чувствительный
ИПВР	инъекционный препарат (лекарственный препарат) второго ряда (канамицин, амикацин, капреомицин)
ВР-LPA	тест молекулярной гибридизации с типоспецифическими зондами для препаратов второго ряда
ТБ	туберкулез
ДТ	дикий тип

Глоссарий

Критическая концентрация (КК): минимальная концентрация противотуберкулезного препарата *in vitro*, ингибирующая рост 99% штаммов фенотипически дикого типа *микобактерий туберкулезного* комплекса (МБТК).

Клинические пограничные значения (КПЗ): концентрация противомикробного препарата, которая определяет минимальную ингибирующую концентрацию (МИК) выше критической концентрации, отделяющей штаммы, которые с большой вероятностью будут реагировать на лечение, от штаммов, которые с большой вероятностью не будут реагировать на лечение. Эта концентрация определяется несколькими переменными, включая переменные *in vivo*, такие как корреляция с имеющимися данными о клинических исходах, фармакокинетике и фармакодинамике, в т. ч. с дозой лекарственного препарата, а также распределение МИК и генетические маркеры. Для преодоления устойчивости, наблюдаемой при малых дозах, доза лекарственного препарата может повышаться вплоть до максимально переносимой дозы и, следовательно, более высокого клинического пограничного значения, выше которого лекарственный препарат не рекомендуется для применения. Клинические пограничные значения используются для принятия индивидуальных клинических решений при лечении пациентов.

Минимальная ингибирующая концентрация (МИК): минимальная концентрация противомикробного препарата, предотвращающая рост более чем 99% микроорганизма при испытании на чувствительность в плотной или жидкой питательной среде.

Как правило, при агрегировании МИК, протестированных с использованием стандартизованного метода, для одного вида формируется единственное распределение МИК в форме Гаусса, которое соответствует распределению фенотипически дикого типа (ФДТ) для этого вида (т. е. распределению для организмов, в которых отсутствует фенотипически выявляемые механизмы устойчивости). Иногда выявляют дополнительные распределения с более высокими общими МИК, которые соответствуют первично или природно устойчивым организмам (то есть распределению фенотипически не дикого типа).

Выражение признательности

Это руководство было разработано в качестве продукта базовой группы *Глобальной лабораторной инициативы* (GLI). Разработкой руководили Elisa Tagliani и Daniela Cirillo (Научно-исследовательский институт Сан-Рафаэле) при участии Elisa Ardizzoni, Bouke de Jong и Leen Rigouts (Институт тропической медицины Антверпена). Выражаем особую благодарность членам основной группы GLI за их неоценимый вклад в работу: Heather Alexander, Olajumoke Tubi Abiola, Maka Akhalaia, Heidi Albert, Uladzimir Antonenka, Martina Casenghi, Petra de Haas, Kathleen England, Lucilaine Ferrazoli, Marguerite Massinga Loembe, Alaine Umubyeyi Nyaruhirira, Daniel Orozco, Kaiser Shen, Thomas Shinnick, Alena Skrahina, Sabira Tahseen и Hung Van Nguyen. За помощь в координации работ и техническую поддержку на финальном этапе разработки выражаем признательность Dennis Falzon, Christopher Gilpin, Lice González-Angulo, Alexei Korobitsyn, Fuad Mirzayev и Karin Weyer из Глобальной программы ВОЗ по борьбе с туберкулезом.

Выражаем особую благодарность нашим партнерам и заинтересованным лицам за ценные замечания и комментарии:

Ignacio Monedero-Recuero из *Глобальной инициативы по борьбе с лекарственно-устойчивым туберкулезом*, Paolo Miotto (Научно-исследовательский институт Сан-Рафаэле), Claudio Köser (Кембриджский университет), Natalia Shubladze (член основной группы ELI) и Soudeh Ehsani из Европейского регионального бюро ВОЗ.

Авторы приняли все необходимые меры предосторожности для проверки информации, содержащейся в данной публикации. Тем не менее, данные материалы публикуются без каких-либо прямых или косвенных гарантий. Ответственность за интерпретацию и использование материалов лежит на читателе. Авторы ни при каких обстоятельствах не будут нести ответственность за ущерб, возникший в результате использования данных материалов.

GLI – рабочая группа Stop TB Partnership. Разработка и публикация этого документа стали возможными при финансовой поддержке Агентства США по международному развитию.

Перевод выполнен Apostroph Group. Текст вычитал Uladzimir Antonenka.

Изображение на обложке – собственность © Alicephotography. Дизайн и верстка данного руководства выполнены с применением простейших графических средств.

О руководстве

Этот документ содержит практические рекомендации по интерпретации наиболее часто используемых тестов молекулярной гибридизации с типоспецифическими зондами (LPA) в отношении препаратов первого ряда (ПР) и второго ряда (ВР) (т. е. GenoType MTBDR*plus* V2.0 и GenoType MTBDR*s*/V2.0; Hain Lifescience, Германия). Помимо информации об интерпретации мутаций, выявленных указанными тестами, данное руководство приводит практические рекомендации по дополнительным диагностическим действиям, которые следует выполнять при наличии специфических мутаций, а также клинические последствия этих мутаций, которые сказываются на выборе подходящей схемы лечения туберкулеза (ТБ).

Данное руководство предназначено для снабжения лабораторного персонала и врачей информацией о:

- связи специфических мутаций, выявленных с помощью теста, с фенотипической лекарственной устойчивостью;
- случаях невыявления специфических мутаций, обуславливающих устойчивость, при которых наличие устойчивости может только предполагаться;
- клинических последствиях специфических мутаций, выявленных с помощью тестов.

Кроме того, руководство может быть полезно персоналу национальных и региональных референс-лабораторий по ТБ как пособие по интерпретации и устранению возможных расхождений между тестами на фенотипическую и генотипическую лекарственную чувствительность (ТЛЧ).

В руководстве описаны мутации, выявляемые тест-полосками ПР-LPA и ВР-LPA, в том числе дана информация об их связи с фенотипической лекарственной устойчивостью на основании работы Miotto *и др.* (1) и минимальной ингибирующей концентрацией (МИК) для препаратов первого и второго ряда на основании недавнего доклада ВОЗ (2, 3). Также сообщается об интерпретации тестов, последующем диагностическом тестировании и клинических последствиях, связанных с наличием специфических мутаций, а также клинических последствиях в тех случаях, когда наличие устойчивости предполагается.

В заключительной части приведены несколько случаев из клинической практики с целью дать пример результатов LPA, описать процедуру и шаблоны отчетности.

Введение

Накопленное знание о молекулярных основах лекарственной устойчивости за последние двадцать лет дало толчок разработке целого ряда генотипических методов ускоренного определения чувствительности и устойчивости к противотуберкулезным препаратам. К преимуществам молекулярного тестирования, помимо быстрой диагностики, можно отнести возможность работы непосредственно на клинических образцах (без необходимости выделения штамма на плотной или жидкой среде) и образцах, содержащих нежизнеспособные бактерии (например, бактерии, убитые нагреванием или химической инактивацией), потенциально высокую пропускную способность и сравнительно низкие требования к лабораторной биобезопасности.

В 2008 году Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) одобрила использование теста молекулярной гибридизации с типоспецифическими зондами (LPA) в отношении препаратов первого ряда (ПР) GenoType MTBDR*plus* (далее – GenoType MTBDR*plus* V1) для ускоренного выявления ТБ с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ-ТБ) (4). С 2011 года шла разработка новых версий технологии LPA, в том числе (i) GenoType MTBDR*plus* версии 2 (далее – GenoType MTBDR*plus* V2) и (ii) набора для детектирования Nipro NTM+MDRTB detection kit 2 (далее – Nipro, Токио, Япония). Новые LPA ставили задачей повысить точность выявления МБТК (микобактерий туберкулезного комплекса), параллельно идентифицируя устойчивость к рифампицину (Rif) и изониазиду (H). В 2015 году Фонд инновационных методов диагностики (FIND) провел оценку LPA-систем Nipro и GenoType MTBDR*plus* V2 и сравнил их с системой GenoType MTBDR*plus* V1. Исследование показало, что эти три коммерчески доступные LPA-системы равно эффективны для выявления ТБ и устойчивости к Rif и H (5).

Первым коммерческим LPA для выявления устойчивости к противотуберкулезным препаратам второго ряда был тест GenoType MTBDR*s*/ версии 1.0, разработанный десять лет назад компанией Hain Lifescience (далее – GenoType MTBDR*s*/ V1). В 2015 году вышла обновленная версия этого теста (GenoType MTBDR*s*/ V2), которая способна выявлять мутации, связанные с лекарственной устойчивостью к фторхинолонам и инъекционным препаратам второго ряда (ИПВР), которую могла идентифицировать версия 1.0, а также дополнительные мутации (см. описание ниже).

На следующий год ВОЗ опубликовала рекомендации по использованию коммерчески доступных ПР-LPA (т. е. GenoType MTBDR*plus* V1, GenoType MTBDR*plus* V2 и Nipro) в качестве начального теста для выявления устойчивости к Rif и H вместо фенотипического тестирования лекарственной чувствительности (ТЛЧ) (6). В том же 2016 году ВОЗ выпустила рекомендации по использованию теста GenoType MTBDR*s*/ (V1 и V2) для выявления устойчивости к фторхинолонам и ИПВР у пациентов с устойчивостью к рифампицину/МЛУ-ТБ и выбора подходящей схемы лечения МЛУ-ТБ (7).

Более подробную информацию о той роли, которую тесты ПР-LPA и ВР-LPA играют в алгоритмах диагностики ТБ, можно найти в документе Глобальной лабораторной

инициативы (GLI) «Алгоритмы диагностики ТБ по модели GLI» (обновлен в июне 2018 г.) (8).

Цель этого документа, посвященного двум самым широко используемым тестам LPA (т. е. GenoType MTBDRplus V2 и GenoType MTBDRsl V2), – служить руководством для лабораторного персонала и врачей по интерпретации результатов ПР-LPA и ВР-LPA и устранению возможных расхождений между фенотипическим и генотипическим ТЛЧ.

Принцип теста молекулярной гибридизации с типоспецифическими зондами

Тесты молекулярной гибридизации с типоспецифическими зондами (LPA) представляют собой семейство ДНК-тестов на основе полосок (стрипов), которые определяют профиль лекарственной устойчивости штамма МБТК посредством паттерна связывания ампликонов (продуктов амплификации ДНК) с зондами, которые нацелены на наиболее распространенные мутации, связанные с устойчивостью к препаратам первого и второго ряда, и зондами, которые нацелены на соответствующую последовательность ДНК дикого типа (ДТ).

LPA были одобрены ВОЗ для ускоренного выявления лекарственной устойчивости к препаратам первого и второго ряда. Они могут использоваться для тестирования изолятов культур (непрямое тестирование), а также для прямого тестирования образцов с положительной микроскопией мазка (ПР-LPA) на кислотоустойчивые бациллы (КУБ), а также образцов с положительным и отрицательным мазком мокроты (ВР-LPA) (6, 7).

Наличие мутаций выявляется путем (i) связывания ампликонов с зондами, нацеленными на наиболее часто встречающиеся мутации (МУТ-зонды), либо (ii) предполагается в том случае, когда не происходит гибридизации (т. е. связывания) ампликонов с соответствующими зондами ДТ.

Реакция после гибридизации проявляется в виде окрашенных линий на тест-полоске в месте связывания зондов.

Важно помнить, что LPA, равно как и другие одобренные ВОЗ экспресс-тесты, имеют некоторые ограничения.

- Несмотря на то, что LPA может выявлять мутации, которые чаще всего идентифицируются в устойчивых штаммах, некоторые обуславливающие устойчивость мутации находятся за пределами участков, охваченных тестом, поэтому исключить устойчивость полностью нельзя даже при наличии всех зондов ДТ. Таким образом, в некоторых случаях для окончательной оценки может потребоваться дополнительное фенотипическое ТЛЧ.
- На отдельные мутации прямо указывают МУТ-зонды, тогда как присутствие других можно только предполагать в том случае, когда не происходит связывания ампликонов с зондами ДТ. Если связывания зонда ДТ не происходит параллельно со связыванием мутантного зонда, то высока вероятность наличия мутации устойчивости. При этом возможны систематические ошибки из-за синонимичных и несинонимичных мутаций (например, филогенетических мутаций). В общемировом масштабе такие случаи редки (<1% изолятов), но на местном уровне этот процент может быть выше (9).
- LPA менее эффективен, чем общепринятое ТЛЧ культуральным методом, если необходимо определить устойчивость в образцах, содержащих как лекарственно-чувствительные, так и лекарственно-устойчивые бактерии (т. е. при гетерорезистентности). В частности, LPA может выявлять устойчивые бактерии с мутациями, которые идентифицированы МУТ-зондами, если устойчивые бактерии составляют по меньшей мере 5%

от общей популяции. Однако он с большой вероятностью не сможет выявить устойчивые бактерии с мутациями, наличие которых предполагается в связи с отсутствием зондов ДТ, если устойчивая популяция составляет менее 95% от общей бактериальной популяции (10, 11).

Подробную информацию о чувствительности и специфичности тестов LPA в отношении различных лекарственных препаратов можно найти в других источниках (12, 13). Достаточно упомянуть, что ПР-LPA продемонстрировал чувствительность 96,7% и специфичность 98,8% при определении устойчивости к Rif и чувствительность 90,2% и специфичность 99,2% при определении устойчивости к H (12). При тестировании осадков мокроты, BP-LPA (GenoType MTBDRsl V1) показал совокупную чувствительность 86,2% и специфичность 98,6% при определении устойчивости к фторхинолонам и совокупную чувствительность 87,0% и специфичность 99,5% при определении устойчивости к инъекционным препаратам второго ряда (13).

GenoType MTBDRplus Version 2

Тест GenoType MTBDRplus (Схема 1а) нацелен на выявление специфических мутаций на участке определения устойчивости к Rif (УОУР) гена *rpoB* (с 505 по 533 кодон) (Схема 2), а также мутаций в промоторе *inhA* (с -16 по -8 нуклеотид вверх) и на участке *katG* (кодон 315). О специфических нуклеотидных заменах, выявляемых с помощью теста, пойдет речь в Приложении.

GenoType MTBDRsl Version 2

Вторая версия теста GenoType MTBDRsl (Схема 1b) охватывает участок определения устойчивости к хинолонам (УОУХ) генов *gyrA* (с 85 по 96 кодон) (Figure 3) и *gyrB* (с 536 по 541 кодон) (16), с целью выявления устойчивости к фторхинолонам, а также участок промотора *rrs* (нуклеотиды в позиции 1401, 1402 и 1484) и *eis* (с -37 по -2 нуклеотиды вверх от гена) с целью выявления устойчивости к ИПВР. Важно подчеркнуть, что информация о конкретных участках, охватываемых всеми МУТ-зондами, недоступна и нам известны только некоторые из участков, охватываемых зондами ДТ (см. Схемы 2 и 3). О специфических нуклеотидных заменах, выявленных с помощью МУТ-зондов, пойдет речь в Приложении.

Интерпретация и отчетность по тестам молекулярной гибридизации с типоспецифическими зондами

На тест-полоске LPA имеются две внутренние контрольные зоны: **контроль конъюгата** (линия 1) и **контроль амплификации** (линия 2) (Схема 1). Линия контроля конъюгата должна быть хорошо проявлена для подтверждения эффективности связывания конъюгата и реакции субстрата. Контроль амплификации служит референсом для интерпретации зондов ДТ и МУТ: все прочие линии должны приниматься во внимание только в том случае, если они выражены так же отчетливо, как линия контроля амплификации, или более отчетливо, чем она. В случае положительного результата теста зона контроля амплификации может быть слабо выраженной или вовсе не проявленной. Это частый случай при непрямом тестировании и редкость при прямом тестировании. Полная невыраженность контроля амплификации может быть связана с конкуренцией отдельных реакций во время амплификации. В этом случае тест выполнен правильно и может быть интерпретирован. В случае отрицательного результата теста хорошо видны и линия

Схема 1. Конфигурация полосок GenoType MTBDRplus V2 (a) и GenoType MTBDRs/ V2 (b)

a (13)

Линия	
1 Контроль конъюгата
2 Контроль амплификации
3 <i>Микобактерии туберкулезного</i> комплекса ТУБ
4 <i>groV</i> локусный контроль <i>groV</i>
5 <i>groV</i> зонд дикого типа 1 <i>groV</i> ДТ1
6 <i>groV</i> зонд дикого типа 2 <i>groV</i> ДТ2
7 <i>groV</i> зонд дикого типа 3 <i>groV</i> ДТ3
8 <i>groV</i> зонд дикого типа 4 <i>groV</i> ДТ4
9 <i>groV</i> зонд дикого типа 5 <i>groV</i> ДТ5
10 <i>groV</i> зонд дикого типа 6 <i>groV</i> ДТ6
11 <i>groV</i> зонд дикого типа 7 <i>groV</i> ДТ7
12 <i>groV</i> зонд дикого типа 8 <i>groV</i> ДТ8
13 <i>groV</i> мутантный зонд 1 <i>groV</i> МУТ1
14 <i>groV</i> мутантный зонд 2А <i>groV</i> МУТ2А
15 <i>groV</i> мутантный зонд 2В <i>groV</i> МУТ2В
16 <i>groV</i> мутантный зонд 3 <i>groV</i> МУТ3
17 <i>katG</i> локусный контроль <i>katG</i>
18 <i>katG</i> зонд дикого типа <i>katG</i> ДТ
19 <i>katG</i> мутантный зонд 1 <i>katG</i> МУТ1
20 <i>katG</i> мутантный зонд 2 <i>katG</i> МУТ2
21 <i>inhA</i> локусный контроль <i>inhA</i>
22 <i>inhA</i> зонд дикого типа 1 <i>inhA</i> ДТ1
23 <i>inhA</i> зонд дикого типа 2 <i>inhA</i> ДТ2
24 <i>inhA</i> мутантный зонд 1 <i>inhA</i> МУТ1
25 <i>inhA</i> мутантный зонд 2 <i>inhA</i> МУТ2
26 <i>inhA</i> мутантный зонд 3А <i>inhA</i> МУТ3А
27 <i>inhA</i> мутантный зонд 3В <i>inhA</i> МУТ3В
 Цветная метка

b (14)

Линия	
1 Контроль конъюгата
2 Контроль амплификации
3 <i>Микобактерии туберкулезного</i> комплекса ТУБ
4 <i>gyrA</i> локусный контроль <i>gyrA</i>
5 <i>gyrA</i> зонд дикого типа 1 <i>gyrA</i> ДТ1
6 <i>gyrA</i> зонд дикого типа 2 <i>gyrA</i> ДТ2
7 <i>gyrA</i> зонд дикого типа 3 <i>gyrA</i> ДТ3
8 <i>gyrA</i> мутантный зонд 1 <i>gyrA</i> МУТ1
9 <i>gyrA</i> мутантный зонд 2 <i>gyrA</i> МУТ2
10 <i>gyrA</i> мутантный зонд 3А <i>gyrA</i> МУТ3А
11 <i>gyrA</i> мутантный зонд 3В <i>gyrA</i> МУТ3В
12 <i>gyrA</i> мутантный зонд 3С <i>gyrA</i> МУТ3С
13 <i>gyrA</i> мутантный зонд 3Д <i>gyrA</i> МУТ3Д
14 <i>gyrB</i> локусный контроль <i>gyrB</i>
15 <i>gyrB</i> зонд дикого типа <i>gyrB</i> ДТ
16 <i>gyrB</i> мутантный зонд 1 <i>gyrB</i> МУТ1
17 <i>gyrB</i> мутантный зонд 2 <i>gyrB</i> МУТ2
18 <i>rrs</i> локусный контроль <i>rrs</i>
19 <i>rrs</i> зонд дикого типа 1 <i>rrs</i> ДТ1
20 <i>rrs</i> зонд дикого типа 2 <i>rrs</i> ДТ2
21 <i>rrs</i> мутантный зонд 1 <i>rrs</i> МУТ1
22 <i>rrs</i> мутантный зонд 2 <i>rrs</i> МУТ2
23 <i>eis</i> локусный контроль <i>eis</i>
24 <i>eis</i> зонд дикого типа 1 <i>eis</i> ДТ1
25 <i>eis</i> зонд дикого типа 2 <i>eis</i> ДТ2
26 <i>eis</i> зонд дикого типа 3 <i>eis</i> ДТ3
27 <i>eis</i> мутантный зонд 1 <i>eis</i> МУТ1
 Цветная метка

контроля конъюгата, и линия контроля амплификации (действительный отрицательный результат). Полная невыраженность контроля амплификации на отрицательном тесте указывает на ошибки во время подготовки и (или) выполнения реакции амплификации или на наличие ингибиторов амплификации. В этом случае результат теста **недействителен** и тест должен быть повторен.

Реакции ТУБ (линия 3) видна только в том случае, если ДНК амплифицирована из представителей МБТК. Присутствие в образце нетуберкулезных микобактерий (НТМБ) может привести к проявлению случайных линий, при этом у нескольких видов может наблюдаться положительный результат на некоторых линиях *groV* ДТ из-за сходства генов между видами. Таким образом, линия ТУБ никогда не будет проявлена при наличии НТМБ и никогда не выдаст результат МБТК без присутствия соответствующих МБТК.

Линии **локусного контроля** гена для различных целевых участков, анализируемых на ДНК-полоске, расположены непосредственно перед соответствующими линиями ДТ и МУТ. Линии локусного контроля должны быть хорошо проявлены, чтобы тест

считался действительным для определенной цели. Однако в том случае, если отсутствует линия локусного контроля только одного гена, результаты для других генов с хорошо проявленными линиями локусного контроля могут подлежать интерпретации.

Результат LPA считается **неопределенным** в отношении конкретного лекарственного препарата или группы препаратов, если не проявлена соответствующая зона локусного контроля для этого лекарственного препарата или группы препаратов, даже в том случае, если тест действителен (т. е. линии контроля конъюгата и ТУБ проявлены, и не имеет значения, проявлена ли зона контроля амплификации). В этом случае лабораторный отчет не составляется, тест следует повторить. Если повторный тест даст тот же результат, составляется отчет установленной формы в отношении поддающихся интерпретации локусов, при этом результат в отношении лекарственных препаратов или группы препаратов, для которых отсутствует локусный контроль, помечается как «неопределенный». Систематическими причинами получения неопределенного результата могут служить как мутации или делеции на участке локусного контроля, так и полная или частичная делеция гена-мишени. В этих случаях для определения конкретной мутации требуется произвести секвенирование.

Зоны реакции ДТ включают в себя участки генома с известными мутациями устойчивости. **Зоны реакции МУТ** относятся к зондам, которые идентифицируют наиболее распространенные мутации устойчивости исследуемого гена.

Устойчивость выявляется при выраженности зондов МУТ. При невыраженности зондов ДТ наличие устойчивости может только предполагаться (подробности см. ниже).

Одномоментное выявление всех зондов ДТ и одного из зондов МУТ на соответствующем участке-мишени является признаком гетерорезистентности (т. е. сосуществования чувствительных и устойчивых бактерий в одном образце). В этом случае отмечается результат «устойчивый».

Пересмотр интерпретации производителя (14, 15)

Использование выражения «Устойчивость не выявлена» вместо термина «Чувствительный» для определения профиля устойчивости бактерий

Учитывая ограничения LPA и, в особенности тот факт, что исключить устойчивость полностью нельзя даже при наличии всех зондов ДТ (т. е. не все обуславливающие устойчивость мутации охвачены тестом, а охваченные мутации могут быть ниже предела обнаружения), в лабораторном отчете корректнее указывать «Выявлена устойчивость» или «Устойчивость не выявлена».

Дифференциация на «Предполагается устойчивость» и «Выявлена устойчивость»

Выражение «Предполагается устойчивость» используется в том случае, когда не выражен один или несколько зондов ДТ на участках гена, обуславливающих устойчивость к препарату, и не выражен ни один из МУТ-зондов на соответствующем участке. В этом случае можно идентифицировать только участок, где находится мутация, но не конкретную мутацию.

Выражение «Выявлена устойчивость» используется в том случае, когда выражен один или несколько МУТ-зондов, которые указывают на специфические мутации, обуславливающие устойчивость к препарату (вне зависимости от выраженности зондов ДТ).

Стратификация мутаций устойчивости к изониазиду (H) и моксифлоксацину (Mfx) на мутации, связанные с «низким уровнем МИК», и мутации, связанные с «высоким уровнем МИК»

Мутации, обуславливающие устойчивость к H и Mfx, стратифицированы на мутации, связанные с низким уровнем МИК, и мутации, связанные с высоким уровнем МИК, в зависимости от распределения МИК. Эта стратификация имеет огромное значение для включения или невключения H и Mfx в схему лечения, поскольку устойчивость из-за мутаций, связанных с низким уровнем МИК для H или Mfx, может быть преодолена путем увеличения дозы препарата.

Что касается H, данные *in vitro* свидетельствуют о том, что при выявлении специфических мутаций в промоторе *inhA*, которые, как правило, связаны с низким уровнем МИК (и в отсутствие мутаций *katG*), может быть эффективным повышение дозы лекарственного препарата. Таким образом, можно рассмотреть возможность использования H в максимальной дозе 15 мг/кг в день. В случае мутаций *katG*, которые чаще связаны с высоким уровнем МИК, существует малая вероятность эффективности изониазида даже в высоких дозах. Наличие комбинированных мутаций в промоторе *inhA* и гене *katG* приводит к высокому уровню МИК, что с малой вероятностью может быть компенсировано увеличением дозы (17).

Что касается Mfx, в случае выявления мутаций, которые связаны с уровнем МИК до значений выше критической концентрации (КК), но ниже клинических пограничных значений (КПЗ), и определяются как мутации, связанные с низким уровнем МИК, существует большая вероятность эффективности Mfx в высоких дозах (до 800 мг в день для взрослых) (18–21). Если предполагается устойчивость к Mfx (т. е. конкретная мутация неизвестна), существует предположение о наличии мутаций, связанных с как минимум низким уровнем МИК, и, следовательно, использование лекарственного препарата в высоких дозах может быть эффективным. Однако, в этом случае рекомендуется выполнить ТЛЧ к Mfx для КПЗ и, если возможно, секвенирование для определения конкретной мутации. Если штамм МБТК устойчив к КПЗ Mfx из-за наличия мутаций, связанных с высоким уровнем МИК, препарат нельзя рассматривать как эффективное лекарственное средство.

При наличии более одного информативного зонда на лекарственный препарат (например, при одномоментном выявлении мутаций устойчивости, связанных с различными уровнями МИК), мутации, связанные с высоким уровнем МИК играют преобладающее значение в интерпретации окончательного результата.

Таким образом, результаты должны быть представлены в соответствии со следующей иерархией (где знак «>» означает верховенство).

- Для H Выявлена мутация, связанная с высоким уровнем МИК > Предполагается мутация, связанная с высоким уровнем МИК > Выявлена мутация, связанная с как минимум низким уровнем МИК > Предполагается мутация, связанная с как минимум низким уровнем МИК > Устойчивость не выявлена.
- Для Mfx Выявлена мутация, связанная с высоким уровнем МИК > Выявлена мутация, связанная с как минимум низким уровнем МИК > Предполагается мутация, связанная с как минимум низким уровнем МИК > Устойчивость не выявлена.
- Для Rif, левофлоксацина (Lfx), амикацина (Am), канамицина (Km) и капреомицина (Cm) Выявлена устойчивость > Предполагается устойчивость > Устойчивость не выявлена.

Сводная таблица

Случай	Зоны реакции ДТ	Зоны реакции МУТ	Интерпретация
1	Выражены все зонды ДТ.	Все МУТ-зонды не выражены.	Устойчивость не выявлена.
2	Один или несколько зондов ДТ не выражены.	Выражен один или несколько МУТ-зондов на соответствующем участке.	В зависимости от конкретного препарата: – выявлена устойчивость (Rif, ИПВР); – выявлены мутации, связанные с высоким уровнем МИК (H и Mfx); – выявлены мутации, связанные с как минимум низким уровнем МИК (H и Mfx).
3	Один или несколько зондов ДТ не выражены.	МУТ-зонды не выражены.	В зависимости от конкретного препарата: – предполагается устойчивость (Rif, ИПВР); – предполагаются мутации, связанные с высоким уровнем МИК (H и Mfx); – предполагаются мутации, связанные с как минимум высоким уровнем МИК (H и Mfx).
4	Выражены все зонды ДТ.	Выражен один МУТ-зонад.	Выявлена устойчивость (в силу гетерорезистентности). Интерпретировать согласно случаю 2.

Исключение зонда ДТЗ *eis*

На данный момент не существует убедительных доказательств того, что мутация **c-2a** на участке промотора *eis* сама по себе является достоверным маркером устойчивости (1). Поэтому, если зонд ДТЗ *eis* не выражен, интерпретация теста для K_m изменена на «Устойчивость не выявлена».

Интерпретация профиля устойчивости для этионамида и протионамида

Мутации, выявляемые тестом ПР-LPA и приводящие к сверхэкспрессии гена *inhA*, связаны с перекрестной устойчивостью к этионамиду (Eto) и протионамиду (Pto) (1, 22, 23). Поэтому, если эти мутации выявлены тестом, в лабораторном отчёте выдаётся устойчивость к Eto и Pto и эти препараты не используются в схеме лечения. Однако важно отметить, что даже в отсутствие мутаций на участке промотора *inhA* нельзя исключить устойчивость к Eto/Pto. Мутации, обуславливающие устойчивость к Eto/Pto, могут фактически присутствовать на участках генома, не охваченных LPA (например, *ethA*, *ethR*).

Лабораторный отчет в отношении канамицина и капреомицина

Не так давно ВОЗ выпустила оперативное извещение о ключевых изменениях в лечении МЛУ-ТБ и Rif-устойчивого ТБ (24), анонсирующее выход новых руководящих принципов ВОЗ по лечению МЛУ-ТБ к концу 2018 года. Эти изменения основаны на результатах метаанализа, который сопоставляет показатели эффективности лечения и смертности с применением отдельных препаратов, а также определяет оптимальный объем и продолжительность лечения этими препаратами у пациентов с МЛУ-ТБ (25).

Результаты метаанализа показали, что по сравнению со схемами лечения без применения инъекционных препаратов при использовании ИПВР, амикацин дает умеренные улучшения, а канамицин и капреомицин не дают улучшений или приводят к худшим клиническим исходам. Таким образом, ВОЗ больше не рекомендует использовать канамицин и капреомицин в связи с повышенным риском неэффективного лечения

и рецидивов при их применении в долгосрочных схемах лечения МЛУ-ТБ. Кроме того, те программы, которые используют стандартизованную укороченную схему лечения МЛУ-ТБ, должны заменить канамицин амикацином, не дожидаясь исчерпания запасов канамицина (24).

Признавая тот факт, что новые стандарты оказания медицинской помощи ВОЗ для каждого отдельного пациента с МЛУ-ТБ не будут достигнуты в одночасье, и что канамицин и капреомицин с высокой вероятностью будут использоваться на переходном этапе, мы приняли решение включить в этот документ интерпретацию ВР-LPA для канамицина и капреомицина с целью обеспечения временного руководства.

Дополнительные диагностические действия, необходимые для надлежащего лечения ТБ

В зависимости от конкретного участка, исследуемого в ходе ПР-LPA и ВР-LPA, для выбора более эффективной схемы лечения, обязательно или опционально рекомендуется ряд дополнительных диагностических действий. Решение о выполнении дополнительных диагностических тестов должно приниматься с учетом группы риска конкретного пациента по заболеванию устойчивыми формами, а также частоты встречаемости устойчивых форм в конкретных географических условиях, поскольку эти факторы влияют на прогностическую значимость теста.

В зависимости от конкретного лекарственного препарата могут рекомендоваться или предлагаться различные дополнительные диагностические действия. Ниже представлено краткое описание этих действий.

Рифампицин (Rif)

- Если предположение об устойчивости сделано на основании того, что не происходит связывания ампликонов с зондами ДТ (т. е. не выражен один или несколько зондов ДТ), для определения конкретной мутации в качестве дополнительной меры может применяться секвенирование гена *rpoB*. Для интерпретации мутаций *rpoB* см. «Техническое руководство ВОЗ по использованию технологии секвенирования нового поколения» (3). Важно отметить, что фенотипическое ТЛЧ, выполненное в системе MGIT, не является идеальным контрольным тестом, поскольку оно не идентифицирует хорошо изученные мутации, связанные с резистентностью к Rif (т. е. «спорные» мутации) (26–29).

Изониазид (H)

- Если предположение об устойчивости сделано на основании того, что на участке *katG* не происходит связывания ампликонов с зондами ДТ (т. е. не выражен один или несколько зондов ДТ), для определения конкретной мутации в качестве дополнительной меры может применяться секвенирование гена *katG*. Для интерпретации мутаций *katG* см. Техническое руководство ВОЗ по использованию технологии секвенирования нового поколения (3).
- В случае выявления мутаций, связанных с низким уровнем МИК (т. е. выражены МУТ-зонды на участке промотора *inhA* при отсутствии мутаций на участке-мишени *katG*), в качестве дополнительной меры может применяться секвенирование кодирующего участка *inhA* и гена *katG*. Это связано с тем, что одномоментное присутствие

дополнительных мутаций, которые в общемировом масштабе встречаются редко, но могут встречаться чаще в определенных географических условиях, на кодирующем участке *inhA* или на позициях, отличных от 315, в гене *katG* (мутации, не выявляемых GenoType MTBDRplus) (30, 31), может привести к значительному повышению уровня МИК, который не удастся компенсировать увеличением дозы препарата.

- Если предположение о наличии мутаций, связанных с низким уровнем МИК, сделано на основании того, что на участке промотора *inhA* не происходит связывания ампликонов с зондами ДТ (и не выявлено мутаций на участке-мишени *katG*), рекомендуется повторить тест для подтверждения результата. В качестве дополнительного диагностического действия может применяться секвенирование промотора *inhA* для определения конкретной мутации или фенотипическое ТЛЧ к Н.

Моксифлоксацин (Mfx)

- В случае выявления мутаций, связанных с низким уровнем МИК (т. е. выражены зонды МУТ1, МУТ2, МУТ3А на участке *gyrA* и (или) зонды МУТ1, МУТ2 на участке *gyrB*), рекомендуется выполнить фенотипическое ТЛЧ к Мfx для исключения устойчивости к КПЗ.
- Если предположение о наличии мутаций, связанных с низким уровнем МИК, сделано на основании того, что на участках *gyrA* или *gyrB* не происходит связывания ампликонов с зондами ДТ (т. е. не выявлены зонды ДТ), рекомендуется выполнить фенотипическое ТЛЧ к Мfx для исключения устойчивости к КПЗ. В качестве факультативного дополнительного диагностического действия может применяться секвенирование УОУХ *gyrA* и (или) *gyrB* для определения конкретной мутации и (или) фенотипическое ТЛЧ к Мfx (и/или Lfx) при КК (в зависимости от лабораторного потенциала).

Амикацин (Am), канамицин (Km),¹ капреомицин (Cm)¹

- Если предположение об устойчивости сделано на основании того, что на участке *rrs* не происходит связывания ампликонов с зондами ДТ (т. е. не выражен один или несколько зондов ДТ), рекомендуется повторить тест для подтверждения результата. Если результат подтвержден, следует выполнить фенотипическое ТЛЧ к Am, Km, Cm для подтверждения устойчивости. В качестве дополнительной меры для определения конкретной мутации может применяться секвенирование гена *rrs*.

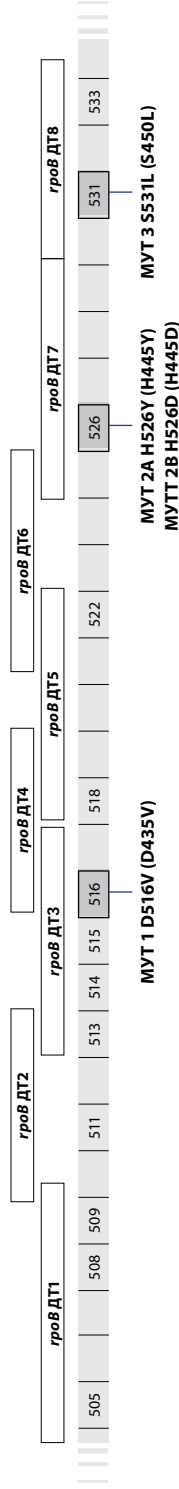
¹ Использование Km и Cm в лечении рифампицин-устойчивого/МЛУ-ТБ больше не рекомендуется (24). Лабораториям рекомендуется продолжать составлять отчетность по результатам для Cm и Km вплоть до полной реализации рекомендаций.

Интерпретация теста молекулярной гибридизации с типоспецифическими зондами (LRA) для препаратов первого ряда (ПР)

Рифампицин

Схема 2. Исследование участка определения устойчивости к рифампицину тестом GenoType MTBDRplus

Участок определения устойчивости к рифампицину (OOR) гена *rpoB*, кодоны, охваченные зондами ДТ₁ и специфические мутации, идентифицированные МУТ-зондами в ходе теста GenoType MTBDRplus Ver 2.0-; для *кишечной палочки* в сравнении с системой нумерации кодонов МБТ и номенклатуры аминокислот (14). В целом, тест GenoType MTBDRplus Ver 2.0 обладает высокой специфичностью для определения устойчивости к Rif. При наличии сомнений в достоверности результата рекомендуется выполнить секвенирование *rpoB* в качестве общепринятого стандартного метода.



Участок-мишень	MTBDRplus Зонд	Исследуемая мутация или участок	Интерпретация результатов	Дополнительное диагностическое действие ^a	Клинические последствия
<i>rpoB</i> ДТ ₁	<i>rpoB</i> ДТ ₁ не выражен.	Мутация(-и) в кодонах 505–509 (424–428) ^б	Предполагается устойчивость к рифампицину (Rif)	Дополнительно Выполнить секвенирование <i>rpoB</i> для выявления конкретной мутации.	Рифампицин неэффективен.
<i>rpoB</i> ДТ ₂	<i>rpoB</i> ДТ ₂ не выражен.	Мутация(-и) в кодонах 510–513 (429–432) ^б	Предполагается устойчивость к Rif.	Дополнительно Выполнить секвенирование <i>rpoB</i> для выявления конкретной мутации.	Рифампицин неэффективен.
<i>rpoB</i> ДТ _{2/3}	<i>rpoB</i> ДТ ₂ и ДТ ₃ не выражены.	Мутация(-и) в кодонах 510–517 (429–436) ^б	Предполагается устойчивость к Rif.	Дополнительно Выполнить секвенирование <i>rpoB</i> для выявления конкретной мутации.	Рифампицин неэффективен.

Участок-мишень	MTBDR _{plus} Зонд	Исследуемая мутация или участок	Интерпретация результатов	Дополнительное диагностическое действие ^a	Клинические последствия
гров ДТ3/4	гров МУТ1 выражен.	D516V (D435V) ^b	Выявлена устойчивость к Rif.	Не требуется дополнительных диагностических действий.	Рифампицин неэффективен.
	гров ДТ3, ДТ4 и МУТ1 не выражены.	Мутация(-и) в кодонах 513–519 (432–438) ^b	Предполагается устойчивость к Rif.	Дополнительно Выполнить секвенирование гров для выявления конкретной мутации.	Рифампицин неэффективен.
гров ДТ4/5	гров ДТ4 и ДТ5 не выражены.	Мутация(-и) в кодонах 516–522 (435–441) ^b	Предполагается устойчивость к Rif.	Дополнительно Выполнить секвенирование гров для выявления конкретной мутации.	Рифампицин неэффективен.
гров ДТ5/6	гров ДТ5 и ДТ6 не выражены.	Мутация(-и) в кодонах 518–525 (437–444) ^b	Предполагается устойчивость к Rif.	Дополнительно Выполнить секвенирование гров для выявления конкретной мутации.	Рифампицин неэффективен.
	гров МУТ2А выражен.	H526Y (H445Y) ^b	Выявлена устойчивость к Rif.	Не требуется дополнительных диагностических действий.	Рифампицин неэффективен.
гров ДТ7	гров МУТ2В выражен.	H526D (H445D) ^b	Выявлена устойчивость к Rif.	Не требуется дополнительных диагностических действий.	Рифампицин неэффективен.
	гров ДТ7, МУТ2А и МУТ2В не выражены.	Мутация(-и) в кодонах 526–529 (445–448) ^b	Предполагается устойчивость к Rif.	Дополнительно Выполнить секвенирование гров для выявления конкретной мутации.	Рифампицин неэффективен.
гров ДТ8	гров МУТ3 выражен.	S531L (S450L) ^b	Выявлена устойчивость к Rif.	Не требуется дополнительных диагностических действий.	Рифампицин неэффективен.
	гров ДТ8 и МУТ3 не выражены.	Мутация(-и) в кодонах 530–533 (449–452) ^b	Предполагается устойчивость к Rif.	Дополнительно Выполнить секвенирование гров для выявления конкретной мутации.	Рифампицин неэффективен.

^a Решение о выполнении факультативных диагностических действий должно приниматься с учетом группы риска конкретного пациента по устойчивости, а также частоты встречаемости устойчивых форм в конкретных географических условиях, поскольку эти факторы влияют на прогностическую значимость теста. Молочные мутации могут оказаться серьезной проблемой в условиях низкого уровня устойчивости к рифампицину.

^b Нумерация кодонов MBT по Andre *и др.* (32) сообщается в скобках.

Изониазид

Участок-мишень	MTBDR _{plus} Зонд	Исследуемая мутация или участок	Интерпретация результатов	Дополнительное диагностическое действие ^a	Клинические последствия
katG ДТ	katG MUT1 или MUT2 выражен.	S315T1 /S315T2	Выявлена мутация, связанная с высоким уровнем МИК.	Не требуется дополнительных диагностических действий.	Малая вероятность эффективности изониазида даже в высоких дозах (17).
	katG ДТ, MUT1 и MUT2 не выражены ^b	Мутация(-и) в кодоне 315	Предполагается мутация, связанная с высоким уровнем МИК.	Дополнительно Выполнить секвенирование katG для выявления конкретной мутации.	Малая вероятность эффективности изониазида даже в высоких дозах (17).
inhA ДТ1	inhA MUT1 выражен.	c-15t	Выявлена мутация, связанная с как минимум низким уровнем МИК. Выявлена устойчивость к EtO/Pto.	Дополнительно Выполнить секвенирование кодирующего участка inhA и гена katG. Без дополнительных диагностических действий для EtO/Pto.	Большая вероятность эффективности изониазида в высоких дозах (17). Этионамид/протионамид неэффективны.
	inhA MUT2 выражен.	a-16g ^d	Выявлена мутация, по всей вероятности связанная с как минимум низким уровнем МИК. С большой вероятностью выявлена устойчивость к EtO/Pto.	Дополнительно Выполнить секвенирование кодирующего участка inhA и гена katG. Без дополнительных диагностических действий для EtO/Pto.	Большая вероятность эффективности изониазида в высоких дозах (23). Большая вероятность неэффективности этионамида/протионамида.
	inhA ДТ1, MUT1 и MUT2 не выражены.	Мутация(-и) на участке -15 ^d	Предполагается мутация, по всей вероятности связанная с как минимум низким уровнем МИК. С большой вероятностью предполагается устойчивость к EtO/Pto.	Рекомендуется Повторить ВР-ЦРА для подтверждения результата. Дополнительно – Выполнить секвенирование для выявления конкретной мутации. – Выполнить фенотипическое ТПЧ к H, EtO/Pto.	Большая вероятность эффективности изониазида в высоких дозах (23). Большая вероятность неэффективности этионамида/протионамида.

Участок-мишень	MTBDRp ₁₀₀ Зонд	Исследуемая мутация или участок	Интерпретация результатов	Дополнительное диагностическое действие ^a	Клинические последствия
inhA ДТ2	inhA MUT3A выражен.	t-8 ^{c,d}	Выявлена мутация, по всей вероятности связанная с как минимум низким уровнем МИК. С большой вероятностью выявлена устойчивость к Eto/Pto.	Дополнительно Выполнить секвенирование кодирующего участка <i>inhA</i> и гена <i>katG</i> . Без дополнительных диагностических действий для Eto/Pto.	Большая вероятность эффективности изониазида в высоких дозах (23). Большая вероятность неэффективности этионамида/протионамида.
	inhA MUT3B выражен.	t-8a ^d	Выявлена мутация, по всей вероятности связанная с как минимум низким уровнем МИК. С большой вероятностью выявлена устойчивость к Eto/Pto.	Дополнительно Выполнить секвенирование кодирующего участка <i>inhA</i> и гена <i>katG</i> . Без дополнительных диагностических действий для Eto/Pto.	Большая вероятность эффективности изониазида в высоких дозах (23). Большая вероятность неэффективности этионамида/протионамида.
	inhA ДТ2, MUT3A и MUT3B не выражены.	Мутация на участке -8 ^d	Предполагается мутация, по всей вероятности связанная с как минимум низким уровнем МИК. С большой вероятностью предполагается устойчивость к Eto/Pto.	Рекомендуется Повторить ПР-LPA для подтверждения результата. Дополнительно – Выполнить секвенирование для выявления конкретной мутации. – Выполнить фенотипическое ТЛЧ к H, Eto/Pto.	Большая вероятность эффективности изониазида в высоких дозах (23). Большая вероятность неэффективности этионамида/протионамида.

^a Решение о выполнении факультативных дополнительных диагностических действий должно приниматься с учетом группы риска конкретного пациента по устойчивости, а также частоты встречаемости устойчивых форм в конкретных географических условиях, поскольку эти факторы влияют на прогностическую значимость теста.

^b Частичная или полная делеция гена *katG*, связанная с высоким уровнем МИК, приводит к полному отсутствию локусных линий *katG* (т. е. не выражены локусный контроль *katG*, зонды ДТ и МУТ-зонды).

^c Одновременное присутствие дополнительных мутаций, которые в общем масштабе встречаются редко, но могут встречаться чаще в определенных географических условиях, на кодирующем участке *inhA* или на позициях, отличных от 315, в гене *katG* (мутации, не выявляемых *GenoType MTBDRp₁₀₀*) (30, 31) может привести к значительному повышению уровня МИК, который не удастся компенсировать увеличением дозы препарата.

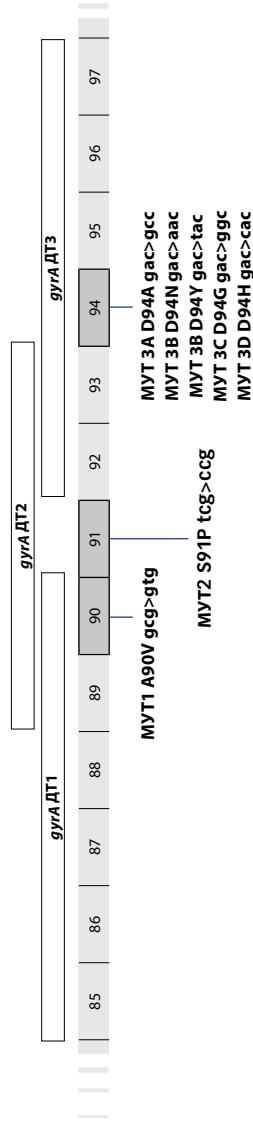
^d Для повышения уверенности в связи этих мутаций с лекарственной устойчивостью необходимы дополнительные данные фенотипического ТЛЧ к изониазиду.

Интерпретация теста молекулярной гибридизации с типоспецифическими зондами (LPA) для препаратов второго ряда (BR)

Фторхинолоны

Схема 3. Исследование участка определения устойчивости к хинолонам гена *guyA* тестом GenoType MTBDRs/.

Участок определения устойчивости к хинолонам (УОУХ) гена *guyA*, кодоны, охваченные зондами ДТ, и специфические мутации (аминокислотные и нуклеотидные замены), идентифицированные МУТ-зондами в ходе теста GenoType MTBDRs/ Ver 2.0 (15).



Участок-мишень	MTBDRs/ Зонд	Исследуемая мутация или участок	Интерпретация результатов	Дополнительное диагностическое действие ^a	Клинические последствия
<i>guyA</i> ДТ1	<i>guyA</i> ДТ1 не выражены	Кодон(-ы) 85–89	Предполагается устойчивость к Lfx. Предполагается мутация, связанная с как минимум низким уровнем МИК для Mfx.	<p>Рекомендуется Выполнить фенотипическое ТПЧ к Mfx для исключения устойчивости к КПЗ.</p> <p>Дополнительно</p> <ul style="list-style-type: none"> – Выполнить секвенирование УОУХ <i>guyA</i> для выявления конкретной мутации. – Выполнить фенотипическое ТПЧ к Lfx и Mfx при КК. 	Левлофлоксацин неэффективен. Моксифлоксацин можно использовать в более высоких дозах. Требуется пересмотр схемы лечения на основе результатов фенотипического ТПЧ к КПЗ.
				<p>Примечание Рекомендации не применяются, если проведенное до начала лечения секвенирование идентифицировало мутации, не связанные с устойчивостью к FQ, или если фенотипическое ТПЧ выявило чувствительность при КК.</p>	

Участок-мишень	MTBDRs/ Зонд	Исследуемая мутация или участок	Интерпретация результатов	Дополнительное диагностическое действие ^a	Клинические последствия
gtrA ДТ2	gtrA MUT1 выражен.	A90V	Выявлена устойчивость к Lfx. Выявлена мутация, связанная с как минимум низким уровнем МИК для Mfx.	Рекомендуется Выполнить фенотипическое ТПЧ к Mfx для КПЗ для исключения устойчивости.	Левлофлоксацин неэффективен. Моксифлоксацин можно использовать в более высоких дозах. Требуется пересмотр схемы лечения на основе результатов фенотипического ТПЧ для КПЗ.
	gtrA MUT2 выражен.	S91P	Выявлена устойчивость к Lfx. Выявлена мутация, связанная с как минимум низким уровнем МИК для Mfx.	Рекомендуется Выполнить фенотипическое ТПЧ к Mfx для КПЗ для исключения устойчивости.	Левлофлоксацин неэффективен. Моксифлоксацин можно использовать в более высоких дозах. Требуется пересмотр схемы лечения на основе результатов фенотипического ТПЧ для КПЗ.
gtrA ДТ3	gtrA ДТ2, MUT1 и MUT2 не выражены.	Кодон(-ы) 89–93	Предполагается устойчивость к Lfx. Предполагается мутация, связанная с как минимум низким уровнем МИК для Mfx.	Рекомендуется Выполнить фенотипическое ТПЧ к Mfx для КПЗ для исключения устойчивости. Дополнительно – Выполнить секвенирование УОУХ gtrA для выявления конкретной мутации. – Выполнить фенотипическое ТПЧ к Lfx и Mfx при КК.	Левлофлоксацин неэффективен. Моксифлоксацин можно использовать в более высоких дозах. Требуется пересмотр схемы лечения на основе результатов фенотипического ТПЧ для КПЗ. Примечание Рекомендации не применяются, если проведенное до начала лечения секвенирование идентифицировало мутации, не связанные с устойчивостью к FC, или если фенотипическое ТПЧ выявило чувствительность при КК.
	gtrA MUT3A выражен.	D94A	Выявлена устойчивость к Lfx. Выявлена мутация, связанная с как минимум низким уровнем МИК для Mfx.	Рекомендуется Выполнить фенотипическое ТПЧ к Mfx для КПЗ для исключения устойчивости.	Левлофлоксацин неэффективен. Моксифлоксацин можно использовать в более высоких дозах. Требуется пересмотр схемы лечения на основе результатов фенотипического ТПЧ для КПЗ.
gtrA ДТ3	gtrA MUT3B выражен.	D94N или D94Y	Выявлена устойчивость к Lfx. Выявлена мутация, связанная с высоким уровнем МИК для Mfx.	Не требуется дополнительных диагностических действий.	Левлофлоксацин неэффективен. Моксифлоксацин неэффективен.

Участок-мишень	MTBDRs/ Зонд	Исследуемая мутация или участок	Интерпретация результатов	Дополнительное диагностическое действие ^a	Клинические последствия
gusA ДТЗ	gusA MUT3C выражен.	D94G	Выявлена устойчивость к Lfx. Выявлена мутация, связанная с высоким уровнем МИК для Mfx.	Не требуется дополнительных диагностических действий.	Левофлоксацин неэффективен. Моксифлоксацин неэффективен.
	gusA MUT3D выражен	D94H	Выявлена устойчивость к Lfx. Выявлена мутация, связанная с высоким уровнем МИК для Mfx.	Не требуется дополнительных диагностических действий.	Левофлоксацин неэффективен. Моксифлоксацин неэффективен.
	gusA ДТЗ, MUT3A, MUT3B, MUT3C, MUT3D не выражены.	Кодон(-ы) 92–96	Предполагается устойчивость к Lfx. Предполагается мутация, связанная с как минимум высоким уровнем МИК для Mfx.	Рекомендуется Выполнить фенотипическое ТЛЧ к Mfx для КПЗ для исключения устойчивости. Дополнительно – Выполнить секвенирование УОУХ gusA для выявления конкретной мутации. – Выполнить фенотипическое ТЛЧ к Lfx и Mfx при КК.	Левофлоксацин неэффективен. Моксифлоксацин можно использовать в более высоких дозах. Требуется пересмотр схемы лечения на основе результатов фенотипического ТЛЧ для КПЗ. Примечание Рекомендации не применяются, если проведенное до начала лечения секвенирование идентифицировало мутации, не связанные с устойчивостью к FQ, или если фенотипическое ТЛЧ выявило чувствительность при КК.

^a Решение о выполнении факультативных дополнительных диагностических действий должно приниматься с учетом группы риска конкретного пациента по устойчивости, а также частоты встречаемости устойчивых форм в конкретных географических условиях, поскольку эти факторы влияют на прогностическую значимость теста.

Участок-мишень	MTBDRs/ Зонд	Исследуемая мутация или участок	Интерпретация результатов	Дополнительное диагностическое действие	Клинические последствия
gub ДТ	gub MUT1 выражен.	N538D (кодон 499) ^b	Выявлена устойчивость к Lfx. Выявлена мутация, связанная с как минимум низким уровнем МИК для Mfx.	Рекомендуется Выполнить фенотипическое ТЛЧ к Mfx для исключения устойчивости для КПЗ.	Левофлоксацин неэффективен. Моксифлоксацин можно использовать в более высоких дозах. Требуется пересмотр схемы лечения на основе результатов фенотипического ТЛЧ для КПЗ.
	gub MUT2 выражен.	E540V (кодон 501) ^b	Выявлена устойчивость к Lfx. Выявлена мутация, связанная с как минимум низким уровнем МИК для Mfx.	Рекомендуется Выполнить фенотипическое ТЛЧ к Mfx для исключения устойчивости для КПЗ.	Левофлоксацин неэффективен. Моксифлоксацин можно использовать в более высоких дозах. Требуется пересмотр схемы лечения на основе результатов фенотипического ТЛЧ для КПЗ.
	gub ДТ, MUT1 и MUT2 не выражены.	Кодон(-ы) 536–541 (кодон 497–502) ^b	Предполагается устойчивость к Lfx. Предполагается мутация, связанная с как минимум низким уровнем МИК для Mfx.	Рекомендуется Выполнить фенотипическое ТЛЧ к Mfx для исключения устойчивости для КПЗ. Дополнительно – Выполнить секвенирование УОУХ <i>gubA</i> для выявления конкретной мутации. – Выполнить фенотипическое ТЛЧ к Lfx и Mfx при КК.	Левофлоксацин неэффективен. Моксифлоксацин можно использовать в более высоких дозах. Требуется пересмотр схемы лечения на основе результатов фенотипического ТЛЧ для КПЗ. Примечание Рекомендации не применяются, если проведенное до начала лечения секвенирование идентифицировало мутации, не связанные с устойчивостью к FQ, или если фенотипическое ТЛЧ выявило чувствительность при КК.

^a Решение о выполнении факультативных дополнительных диагностических действий должно приниматься с учетом группы риска конкретного пациента по устойчивости, а также частоты встречаемости устойчивых форм в конкретных географических условиях, поскольку эти факторы влияют на прогностическую значимость теста.

^b Система нумерации кодонов по Satus *и др.* (33).

Инъекционные препараты второго ряда^a

Участок-мишень	MTBDRs/ Зонд	Иследуемая мутация или участок	Интерпретация результата для канамицина (Km)	Интерпретация результата для амикацина (Am)	Интерпретация результата для капреомицина (Cm)	Дополнительное диагностическое действие ^b	Клинические последствия
rrs DT1	rrs MUT1 выражен.	a1401g	Выявлена устойчивость к Km.	Выявлена устойчивость к Am.	Выявлена устойчивость к Cm.	Не требуется дополнительных диагностических действий.	Амикацин, канамицин и капреомицин неэффективны.
	rrs DT1 и MUT1 не выражены.	Мутация(-и) на участке 1400	Предполагается устойчивость к Km.	Предполагается устойчивость к Am,с	Предполагается устойчивость к Cm.	Рекомендуется Повторить тест ВР-ГРА и в случае подтверждения результата выполнить фенотипическое ТПЧ к Am, Km, Cm. Дополнительно Выполнить секвенирование для выявления конкретной мутации.	Большая вероятность неэффективности канамицина и капреомицина. Решение об использовании амикацина в схеме лечения принимается по результатам фенотипического ТПЧ.
rrs DT2	rrs MUT2 выражен.	g1484t	Выявлена устойчивость к Km.	Выявлена устойчивость к Am.	Выявлена устойчивость к Cm.	Не требуется дополнительных диагностических действий.	Амикацин, канамицин и капреомицин неэффективны.
	rrs DT2 и MUT2 не выражены.	Мутация на участке 1484	Предполагается устойчивость к Km.	Предполагается устойчивость к Am.	Предполагается устойчивость к Cm.	Рекомендуется Повторить тест ВР-ГРА и в случае подтверждения результата выполнить фенотипическое ТПЧ к Am, Km и Cm. Дополнительно Выполнить секвенирование для выявления конкретной мутации.	Большая вероятность неэффективности амикацина, канамицина и капреомицина.

Участок-мишень	MTBDRs/ Зонд	Исследуемая мутация или участок	Интерпретация результата для канамицина (Km)	Интерпретация результата для амикацина (Am)	Интерпретация результата для капреомицина (Cm)	Дополнительное диагностическое действие ^а	Клинические последствия
eis DT1	eis DT1 не выражен.	Мутация(-и) на Участке -37	Предполагается устойчивость к Kp.	Устойчивость к Am не выявлена.	Устойчивость к Cm не выявлена.	Дополнительно Выполнить секвенирование для выявления конкретной мутации.	Большая вероятность эффективности амикацина. Большая вероятность эффективности капреомицина. Канамицин неэффективен.
eis DT2	eis DT2 и МУТ1 не выражены.	Мутация(-и) на участке с -10 по -15	Предполагается устойчивость к Kp.	Устойчивость к Am не выявлена.	Устойчивость к Cm не выявлена.	Дополнительно Выполнить секвенирование для выявления конкретной мутации.	Большая вероятность эффективности амикацина. Большая вероятность эффективности капреомицина. Большая вероятность неэффективности канамицина.

^а ВОЗ больше не рекомендует использовать канамицин и капреомицин в связи с повышенным риском неэффективного лечения и рецидивов при применении в долгосрочных схемах лечения МЛУ-ТБ (23).
Интерпретация теста BR-LPA для канамицина и капреомицина включена в этот документ с целью обеспечить временное руководство на переходном этапе.

^б Решение о выполнении факультативных дополнительных диагностических действий должно приниматься с учетом группы риска конкретного пациента по устойчивости, а также частоты встречаемости устойчивых форм в конкретных географических условиях, поскольку эти факторы влияют на прогнозную значимость теста.

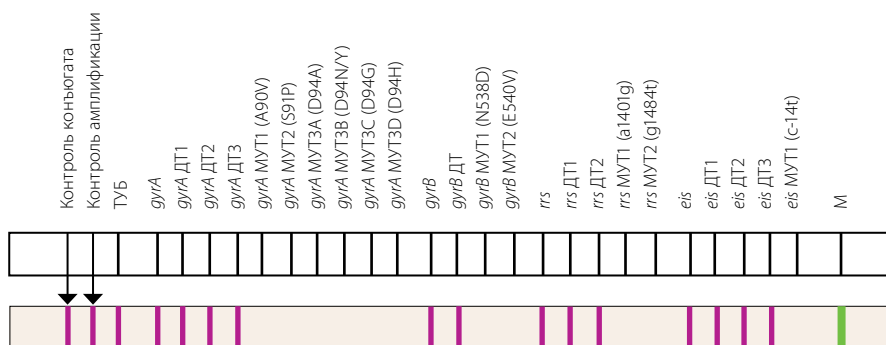
^с С учетом того, что на участке 1400 гс не выражены МУТ-зонды, выявить конкретную мутацию не представляется возможным. Так как данный профиль связывания может быть вызван мутацией, которая с большой вероятностью не связана с устойчивостью к Am (например, S1402), выносится предположение о наличии устойчивости к лекарственному препарату, которое действительно до тех пор, пока не будет выполнено фенотипическое ТЛЧ и его результаты не будут использованы для пересмотра схемы лечения.

Руководство по оценке случаев лекарственной устойчивости ТБ на основе ВР-LPA

СЛУЧАЙ 1

Не выявлено и не предполагается мутаций устойчивости на любом из участков генома, охваченных тестом ВР-LPA.

При ВР-LPA выражены все линии ДТ и не выражена ни одна линия МУТ.



Генотипический отчет:

Устойчивость не выявлена

Дополнительное диагностическое действие

Дополнительно

- Выполнить фенотипическое ТЛЧ к Lfx при КК (пример КК: 1,0 мг/л в системе MGIT и 7Н10) и (или) к Mfx при КК и КПЗ (пример КК: 0,25 мг/л в системе MGIT и 0,5 мг/л на 7Н10; КПЗ: 1,0 мг/л в системе MGIT и 2,0 мг/л на 7Н10).
- Выполнить фенотипическое ТЛЧ к исследуемому ИПВР.

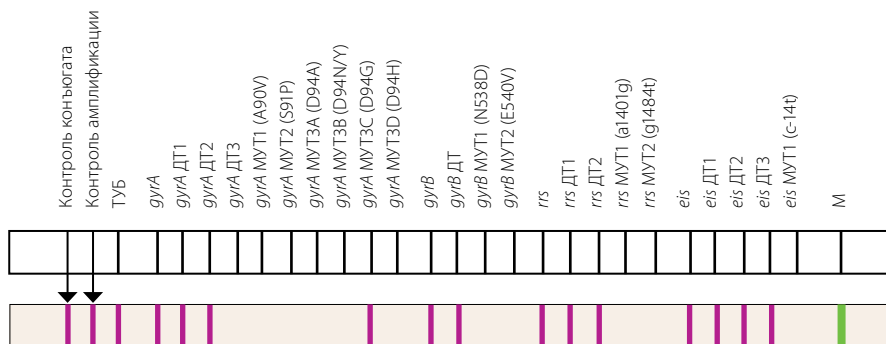
Решение о выполнении факультативных дополнительных действий должно приниматься с учетом группы риска конкретного пациента по устойчивости (например, проведенное ранее воздействие препаратами ВР, предполагаемая неэффективность лечения), а также частоты встречаемости устойчивых форм в конкретных географических условиях, поскольку эти факторы влияют на прогностическую значимость теста.

Клинические последствия

Приступить к лечению МЛУ-ТБ. Пересмотреть схему лечения на основе результатов фенотипического ТЛЧ.

СЛУЧАЙ 2

Выявление мутаций устойчивости к *Mfx*, связанных с высоким уровнем МИК



Если выражен один из следующих МУТ-зондов:

- *gyrA* МУТ3С (т. е. *gyrA* D94G) (см. схему выше для примера),
- *gyrA* МУТ3D (т. е. *gyrA* D94H),
- *gyrA* МУТ3В (т. е. *gyrA* D94N/Y).

Генотипический отчет

Левифлоксацин: выявлена устойчивость.

Моксифлоксацин: выявлена мутация, связанная с высоким уровнем МИК для *Mfx*.

Дополнительное диагностическое действие

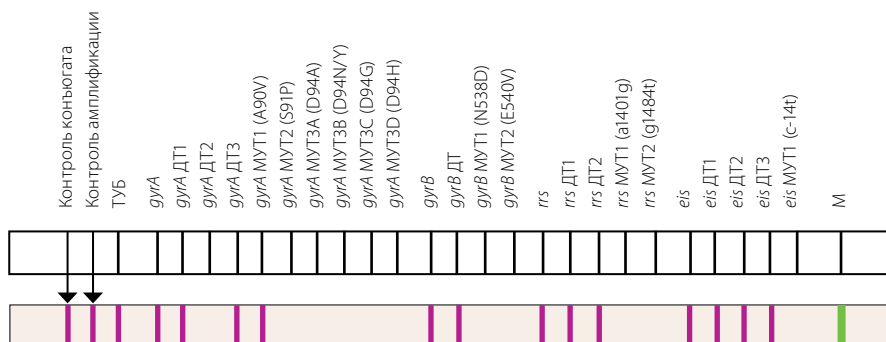
Дополнительно Выполнить фенотипическое ТЛЧ к исследуемому ИПВР.

Клинические последствия

Mfx даже в высоких дозах не может рассматриваться как эффективный препарат.

СЛУЧАЙ 3

Выявление мутаций, связанных с как минимум низким уровнем МИК для *Mfx*



Если выражен один из следующих МУТ-зондов:

- *gyrA* МУТ1 (т. е. *gyrA* A90V) (см. схему выше для примера),
- *gyrA* МУТ2 (т. е. *gyrA* S91P),
- *gyrA* МУТ3А (т. е. *gyrA* D94А),
- *gyrB* МУТ1 (т. е. *gyrB* N538D),
- *gyrB* МУТ2 (т. е. *gyrB* E540D).

Генотипический отчет

Левифлоксацин: выявлена устойчивость.

Моксифлоксацин: выявлена мутация, связанная с как минимум низким уровнем МИК для Mfx.

Дополнительное диагностическое действие

Рекомендуется Выполнить фенотипическое ТЛЧ к Mfx для КПЗ согласно случаю 1.

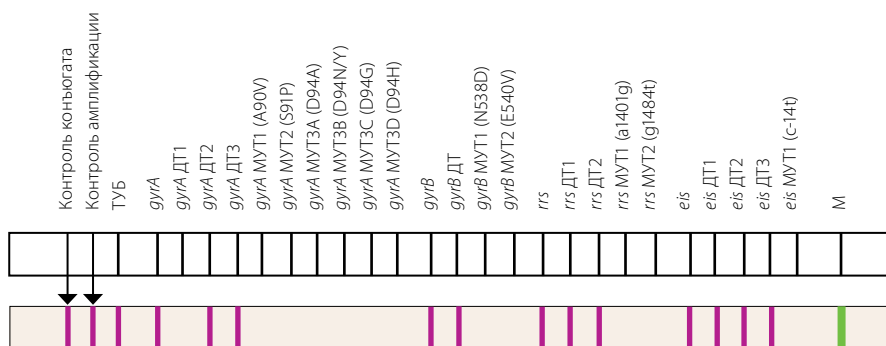
Дополнительно Выполнить фенотипическое ТЛЧ к исследуемому ИПВР.

Клинические последствия

Mfx можно использовать в более высоких дозах. Требуется пересмотр схемы лечения на основе результатов фенотипического ТЛЧ для КПЗ.

СЛУЧАЙ 4

Конкретная мутация неизвестна, ее наличие только предполагается на участках фторхинолонов (FQ) (т. е. *gyrA* и *gyrB*).



Если не выражен один из следующих зондов ДТ:

- *gyrA* ДТ1 (т. е. отсутствует зонд ДТ1 *gyrA*) (см. схему выше для примера),
- *gyrA* ДТ2 (т. е. отсутствует зонд ДТ2 *gyrA*),
- *gyrA* ДТ3 (т. е. отсутствует зонд ДТ3 *gyrA*),
- *gyrB* ДТ (т. е. отсутствует зонд ДТ *gyrB*),

и не выражен ни один из МУТ-зондов на участках *gyrA* и *gyrB*.

Генотипический отчет

Левифлоксацин: устойчивость предполагается.

Моксифлоксацин: предполагается мутация, связанная с как минимум низким уровнем МИК для Mfx.

Дополнительное диагностическое действие

Рекомендуется Выполнить фенотипическое ТЛЧ к Mfx для КПЗ согласно случаю 1.

Дополнительно, но в некоторых условиях рекомендовано¹ Секвенирование УОУХ *gyrA* и *gyrB* для выявления мутации устойчивости и исключения синонимичных и несинонимичных мутаций, не вызывающих устойчивости (систематические ложноположительные результаты) (интерпретировать на основе случаев 2–4 и следовать соответствующим рекомендациям для фенотипического ТЛЧ).

Если секвенирование недоступно, выполнить фенотипическое ТЛЧ к Lfx и (или) Mfx при КК по примеру случая 1.

Дополнительно Выполнить фенотипическое ТЛЧ к исследуемому ИПВР.

Клинические последствия

Левифлоксацин неэффективен.

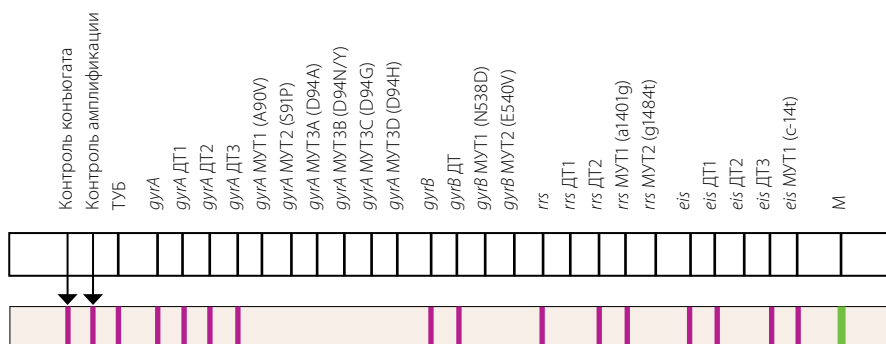
Mfx можно использовать в более высоких дозах. Требуется пересмотр схемы лечения на основе результатов фенотипического ТЛЧ для КПЗ.

Примечание Рекомендации не применяются, если проведенное до начала лечения секвенирование идентифицировало мутации, не связанные с устойчивостью к FQ, или если фенотипическое ТЛЧ выявило чувствительность при КК.

¹ Если связывания зонда ДТ не происходит параллельно со связыванием мутантного зонда, это вызвано наличием мутации устойчивости (например, *gyrA* G88A). При этом возможны систематические ошибки из-за наличия синонимичных или несинонимичных мутаций. В общемировом масштабе такие случаи редки (<1% изолятов), но на местном уровне этот процент может быть выше. К сожалению, невозможно предсказать, в каких условиях такие случаи будут возникать чаще, поэтому каждая лаборатория должна принимать решение о секвенировании УОУХ на основании данных местной эпидемиологии. К примеру, мутация *gyrA* A90G, предотвращающая связывание *gyrA* ДТ2, часто встречается в Республике Конго и Демократической Республике Конго, а синонимичный кодон мутации на участке 96 *gyrA*, предотвращающий связывание *gyrA* ДТ3, часто встречается в Медельине (Колумбия) (9). В обоих приведенных примерах рекомендуется выполнить секвенирование.

СЛУЧАЙ 5

Выявление мутаций, вызывающих устойчивость к ИПВР.



Если выражена одна из следующих МУТ-линий:

- *rrs* МУТ1 (т. е. *rrs* a1401g) (см. схему выше для примера),
- *rrs* МУТ2 (т. е. *rrs* g1484t),
- *eis* МУТ1 (т. е. *eis* c-14t).

Генотипический отчет

В случае наличия только мутаций *rrs* или мутаций как на *rrs*, так и на *eis*

- Амикацин: выявлена устойчивость.
- Канамицин: выявлена устойчивость.
- Капреомицин: выявлена устойчивость. Только в случае мутации *eis* c-14t
- Амикацин: устойчивость не выявлена.
- Канамицин: выявлена устойчивость.
- Капреомицин: устойчивость не выявлена.

Дополнительное диагностическое действие

Дополнительно Выполнить фенотипическое ТЛЧ к FQ согласно случаю 1.

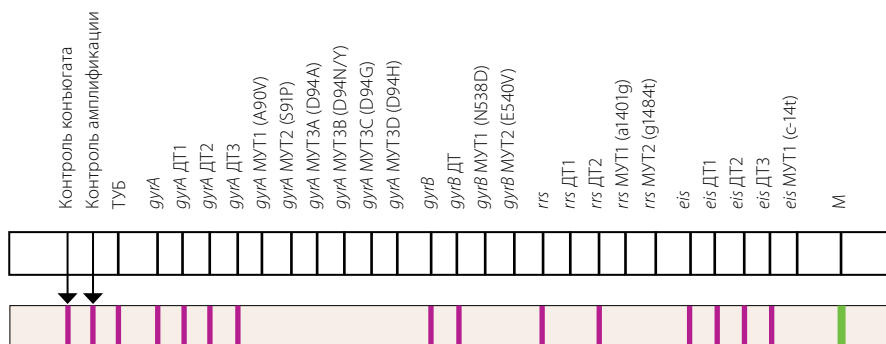
Клинические последствия

В случае наличия только мутаций *rrs* или мутаций как на *rrs*, так и на *eis*, прогнозируется устойчивость к ИПВР.

Только в случае мутации *eis* c-14t: амикацин эффективен.

СЛУЧАЙ 6

Конкретная мутация неизвестна, ее наличие только предполагается на участке *rrs*.



Если не выражен один из следующих зондов ДТ:

- *rrs* ДТ1 (не выражен зонд ДТ1 *rrs*) (см. схему выше для примера),
- *rrs* ДТ2 (не выражен зонд ДТ2 *rrs*),

и не выражен ни один из МУТ-зондов на участке *rrs*.

Генотипический отчет

В случае мутации на участке *rrs* 1400

- Амикацин: устойчивость предполагается.¹
- Канамицин: предполагается устойчивость.
- Капреомицин: предполагается устойчивость.

В случае мутации на участке *rrs* 1484:

- Амикацин: предполагается устойчивость.
- Канамицин: предполагается устойчивость.
- Капреомицин: предполагается устойчивость.

Дополнительное диагностическое действие

Рекомендуется Повторить тест и в случае подтверждения результата выполнить фенотипическое ТЛЧ к Am.

Дополнительно Выполнить секвенирование для выявления конкретной мутации. Выполнить фенотипическое ТЛЧ к FQ согласно случаю 1.

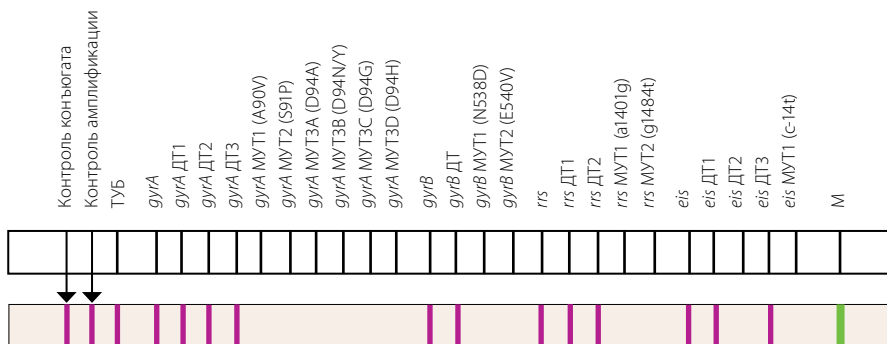
Клинические последствия

Большая вероятность неэффективности канамицина и капреомицина.

¹ С учетом того, что на участке 1400 *rrs* не выражены МУТ-зонды, выявить конкретную мутацию не представляется возможным. Так как данный профиль связывания может быть вызван мутацией, которая с большой вероятностью не связана с устойчивостью к Am (например, c1402t), выносится предположение о наличии устойчивости к лекарственному препарату, которое действительно до тех пор, пока не будет выполнено фенотипическое ТЛЧ и его результаты не будут использованы для пересмотра схемы лечения.

СЛУЧАЙ 7

Конкретная мутация неизвестна, ее наличие только предполагается на участке *eis*.



Если не выражен один из следующих зондов ДТ:

- *eis* ДТ1 (не выражен зонд ДТ1 *eis*) (т. е. *eis* g-37t),
- *eis* ДТ2 (не выражен зонд ДТ2 *eis*) (т. е. *eis* c-12t или g-10a) (см. схему выше для примера),

и не выражен ни один из МУТ-зондов на участке *eis*.

Генотипический отчет

В том случае, если предполагаются мутации в *eis* (и нет дополнительных мутаций на участке *rrs*)

- Амикацин: устойчивость не выявлена,
- Канамицин: предполагается устойчивость,
- Капреомицин: устойчивость не выявлена.

Дополнительное диагностическое действие

Дополнительно Выполнить фенотипическое ТЛЧ к FQ согласно случаю 1, а также к Am и Cm.

Клинические последствия

Большая вероятность эффективности амикацина.

Список использованной литературы

1. Miotto, P et al. "A standardised method for interpreting the association between mutations and phenotypic drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*." *European Respiratory Journal* 50.6 (2017): 1701354.
2. World Health Organization. Technical Report on critical concentrations for drug susceptibility testing of medicines used in the treatment of drug-resistant tuberculosis. Geneva: World Health Organization; 2018 (WHO/CDS/TB/2018.5). Licence: CC BY-NC- SA 3.0 IGO.
http://www.who.int/tb/publications/2018/WHO_technical_report_concentrations_TB_drug_susceptibility/en/
3. World Health Organization (2018). The use of next-generation sequencing technologies for the detection of mutations associated with drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis* complex: technical guide. Geneva: World Health Organization; 2018 (WHO/CDS/TB/2018.19). Licence: CC BY-NCSA3.0 IGO.
<http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/274443/WHO-CDS-TB-2018.19-eng.pdf>
4. World Health Organization. (2008). Molecular line probe assay for rapid screening of patients at risk of multidrug-resistant tuberculosis (MDR-TB). Policy statement. World Health Organization.
http://www.who.int/tb/laboratory/line_probe_assays/en/
5. Nathavitharana RR, et al. 2016. Multicenter Noninferiority Evaluation of Hain GenoType MTBDRplus Version 2 and Nipro NTM+MDRTB Line Probe Assays for Detection of Rifampin and Isoniazid Resistance. *J Clin Microbiol* 54:1624-1630.
6. World Health Organization. (2016). The use of molecular line probe assays for the detection of resistance to isoniazid and rifampicin: policy update. World Health Organization.
<http://www.who.int/tb/publications/molecular-test-resistance/en/>
7. World Health Organization. (2016). The use of molecular line probe assays for the detection of resistance to second-line anti-tuberculosis drugs: policy guidance. World Health Organization.
<http://www.who.int/iris/handle/10665/246131>
8. GLI model TB diagnostic algorithms (revised June 2018). Global Laboratory Initiative. 2017.
http://stoptb.org/wg/gli/assets/documents/GLI_algorithms.pdf
9. Ajileye A, et al. 2017. Some Synonymous and Nonsynonymous *gyrA* Mutations in *Mycobacterium tuberculosis* Lead to Systematic False-Positive Fluoroquinolone Resistance Results with the Hain GenoType MTBDR_{sl} Assays. *Antimicrob Agents Chemother* 61.
10. Folkvardsen DB, et al. 2013. Can molecular methods detect 1% isoniazid resistance in *Mycobacterium tuberculosis*? *J Clin Microbiol* 51:1596-9.
11. Folkvardsen DB, et al. 2013. Rifampin heteroresistance in *Mycobacterium tuberculosis* cultures as detected by phenotypic and genotypic drug susceptibility test methods. *J Clin Microbiol* 51:4220-2.
12. Nathavitharana RR, et al. 2017. Accuracy of line probe assays for the diagnosis of pulmonary and multidrug-resistant tuberculosis: a systematic review and meta-analysis. *Eur Respir J* 49.
13. Theron G, et al. 2016. GenoType® MTBDR_{sl} assay for resistance to second-line anti-tuberculosis drugs. *Cochrane Database Syst Rev* 9:CD010705.
14. Hain Lifescience. GenoType MTBDRplus VER 2.0 Molecular Genetic Assay for Identification of the *M. tuberculosis* Complex and its Resistance to Rifampicin and Isoniazid from Clinical Specimens and Cultivated samples Instructions for use (June 2015).

15. Hain Lifescience. GenoType MTBDRs/ VER 2.0. Molecular Genetic Assay for Identification of the *M. tuberculosis* Complex and its Resistance to Fluoroquinolones and Aminoglycosides/Cyclic Peptides from Sputum Specimens or Cultivated Samples. Instruction for use (June 2015).
16. Tagliani E, et al. 2015. Diagnostic Performance of the New Version (v2.0) of GenoType MTBDRs/ Assay for Detection of Resistance to Fluoroquinolones and Second-Line Injectable Drugs: a Multicenter Study. *J Clin Microbiol* 53:2961-9.
17. WHO treatment guidelines for isoniazid-resistant tuberculosis: Supplement to the WHO treatment guidelines for drug-resistant tuberculosis. Geneva: World Health Organization; 2018. Licence: CC BY-NC-SA 3.0
http://www.who.int/tb/publications/2018/WHO_guidelines_isoniazid_resistant_TB/en/
18. Technical report on the critical concentrations for drug susceptibility testing of medicines used in the treatment of drug-resistant tuberculosis (WHO/CDS/TB/2018.5) [Internet]. Geneva, World Health Organization; 2017. Доступно по ссылке:
<http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/260470/1/WHO-CDS-TB-2018.5-eng.pdf>
19. Technical report on the pharmacokinetics and pharmacodynamics (PK/PD) of medicines used in the treatment of drug-resistant tuberculosis (WHO/CDS/TB/2018.6) [Internet]. Geneva, World Health Organization; 2018. Доступно по ссылке:
<http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/260440/1/WHO-CDS-TB-2018.6-eng.pdf>
20. Rigouts L, et al. 2015. Specific *gyrA* gene mutations predict poor treatment outcome in MDR-TB. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 71(2):314–23.
21. Lange C, et al. 2018. Perspectives for personalized therapy for patients with multidrug-resistant tuberculosis. *Journal of internal medicine* [Epub ahead of print].
22. Vadwai V, et al. 2013. Can *inhA* mutation predict ethionamide resistance? *Int J Tuberc Lung Dis* 17:129–30.
23. Vilchère C, et al. 2014. Resistance to Isoniazid and Ethionamide in *Mycobacterium tuberculosis*: Genes, Mutations, and Causalities. *Microbiol Spectr* 2:MGM2-0014-2013.
24. World Health Organization. Rapid communication: key changes to treatment of multidrug- and rifampicin-resistant tuberculosis (MDR/RR-TB). Licence: CC BY-NC-SA 3.0. RapidCommunicationMDRTB.pdf.
http://www.who.int/tb/publications/2018/WHO_RapidCommunicationMDRTB.pdf
25. Ahmad N, et al. 2018. Treatment correlates of successful outcomes in pulmonary multidrug-resistant tuberculosis: an individual patient data meta-analysis. *Lancet* 392:821–834.
26. Rigouts L, et al. 2013. Rifampin resistance missed in automated liquid culture system for *Mycobacterium tuberculosis* isolates with specific *rpoB* mutations. *J Clin Microbiol* 51:2641-5.
27. Van Deun A, et al. 2013. Rifampin drug resistance tests for tuberculosis: challenging the gold standard. *J Clin Microbiol* 51:2633-40.
28. Shah NS, et al. 2016. Clinical Impact on Tuberculosis Treatment Outcomes of Discordance Between Molecular and Growth-Based Assays for Rifampin Resistance, California 2003–2013. *Open Forum Infect Dis* 3:ofw150.
29. Miotto, P et al. Role of disputed mutations in the *rpoB* gene in the interpretation of automated liquid MGIT culture results for rifampicin susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis*. *Journal of clinical microbiology* (2018): JCM-01599.
30. Seifert M, et al. 2015. Genetic mutations associated with isoniazid resistance in *Mycobacterium tuberculosis*: a systematic review. *PLoS One* 10:e0119628.
31. Kandler JL, et al. 2018. Validation of Novel *Mycobacterium tuberculosis* Isoniazid Resistance Mutations Not Detectable by Common Molecular Tests. *Antimicrob Agents Chemother* 62.
32. Andre E, et al. 2017. Consensus numbering system for the rifampicin resistance-associated *rpoB* gene mutations in pathogenic mycobacteria. *Clin Microbiol Infect* 23:167–172.
33. Camus JC, et al. 2002. Re-annotation of the genome sequence of *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv. *Microbiology* 148:2967–73.

Приложение 1.

Форма отчетности по ПР-LPA: примеры из практики

Обратите внимание, что раздел «Заключение» приведен исключительно для справки и не должен быть частью лабораторного отчета.

Пример 1

Препарат	Ген	Мутация	Интерпретация	Заключение
Rif ^a	<i>rpoB</i>	H526Y	Выявлена устойчивость к Rif.	Рифампицин неэффективен.
H ^a	<i>katG</i>	Мутация(-и) на участке кодона 315	Предполагается мутация, связанная с высоким уровнем МИК.	Малая вероятность эффективности изониазида даже в высоких дозах.
	<i>inhA</i>	t-8a		
Eto/Pto	<i>inhA</i>	t-8a	С большой вероятностью выявлена устойчивость к Eto/Pto.	Большая вероятность неэффективности этионамида и протионамида.

Пример 2

Препарат	Ген	Мутация	Интерпретация	Заключение
Rif	<i>rpoB</i>	Мутаций не выявлено.	Устойчивость к Rif не выявлена.	Рифампицин эффективен.
H ^a	<i>katG</i>	S315T	Выявлена мутация, связанная с высоким уровнем МИК.	Изониазид неэффективен даже в высоких дозах.
	<i>inhA</i>	c-15t		
Eto/Pto	<i>inhA</i>	c-15t	Выявлена устойчивость к Eto/Pto.	Этионамид и протионамид неэффективны.

Пример 3

Препарат	Ген	Мутация	Интерпретация	Заключение
Rif	<i>rpoB</i>	Мутация(-и) в кодонах 516–522 (435–441)	Предполагается устойчивость к Rif.	Рифампицин неэффективен.
H	<i>katG</i>	Мутаций не выявлено.	Выявлена мутация, по всей вероятности связанная с как минимум низким уровнем МИК.	Большая вероятность эффективности изониазида в высоких дозах.
	<i>inhA</i>	t-8c		
Eto/Pto	<i>inhA</i>	t-8c	С большой вероятностью выявлена устойчивость к Eto/Pto.	Большая вероятность неэффективности этионамида и протионамида.

^a При наличии более одного информативного зонда на лекарственный препарат результаты должны быть представлены в соответствии со следующей иерархией (где знак «>» означает верховенство).
Для H Выявлена мутация, связанная с высоким уровнем МИК > Предполагается мутация, связанная с высоким уровнем МИК > Выявлена мутация, связанная с как минимум низким уровнем МИК > Предполагается мутация, связанная с как минимум низким уровнем МИК > Устойчивость не выявлена.
Для Rif Выявлена устойчивость > Предполагается устойчивость > Устойчивость не выявлена.

Приложение 2.

Форма отчетности по ВР-LPA: примеры из практики

Обратите внимание, что раздел «Заключение» приведен исключительно для справки и не должен быть частью лабораторного отчета.

Пример 1

Препарат	Ген	Мутация	Интерпретация	Заключение
Lfx ^a	<i>gyrA</i>	D94A	Выявлена устойчивость к Lfx.	Левифлоксацин неэффективен. Моксифлоксацин можно использовать в более высоких дозах. Требуется пересмотр схемы лечения на основе результатов фенотипического ТЛЧ для КПЗ. Канамицин неэффективен. Амикацин неэффективен. Капреомицин неэффективен.
	<i>gyrB</i>	Нет мутаций.		
Mfx ^a	<i>gyrA</i>	D94A	Выявлена мутация, связанная с как минимум низким уровнем МИК для Mfx.	
	<i>gyrB</i>	Нет мутаций.		
Km ^a	<i>rrs</i>	a1401g	Выявлена устойчивость к Km.	
	<i>eis</i> промотор	Мутация(-и) на участках с -10 по -15.		
Am	<i>rrs</i>	a1401g	Выявлена устойчивость к Am.	
Cm	<i>rrs</i>	a1401g	Выявлена устойчивость к Cm.	

Пример 2

Препарат	Ген	Мутация	Интерпретация	Заключение
Lfx	<i>gyrA</i>	A90V	Выявлена устойчивость к Lfx.	Левифлоксацин неэффективен. Моксифлоксацин можно использовать в более высоких дозах. Требуется пересмотр схемы лечения на основе результатов фенотипического ТЛЧ для КПЗ. Канамицин неэффективен. Амикацин эффективен. Капреомицин эффективен.
	<i>gyrB</i>	Нет мутаций.		
Mfx	<i>gyrA</i>	A90V	Выявлена мутация, связанная с как минимум низким уровнем МИК для Mfx.	
	<i>gyrB</i>	Нет мутаций.		
Km	<i>rrs</i>	Нет мутаций.	Предполагается устойчивость к Km.	
	<i>eis</i> промотор	Мутация(-и) на участке -37		
Am	<i>rrs</i>	Нет мутаций.	Устойчивость к Am не выявлена.	
Cm	<i>rrs</i>	Нет мутаций.	Устойчивость к Cm не выявлена.	

Пример 3

Препарат	Ген	Мутация	Интерпретация	Заключение
Lfx	<i>gyrA</i>	Мутация(-и) в кодонах 89–93	Предполагается устойчивость к Lfx.	Левифлоксацин неэффективен. Моксифлоксацин можно использовать в более высоких дозах. Требуется пересмотр схемы лечения на основе результатов фенотипического ТЛЧ для КПЗ.
	<i>gyrB</i>	Нет мутаций.		
Mfx	<i>gyrA</i>	Мутация(-и) в кодонах 89–93	Предполагается мутация, связанная с как минимум низким уровнем МИК для Mfx.	Примечание Рекомендации не применяются, если проведенное до начала лечения секвенирование идентифицировало мутации, не связанные с устойчивостью к FQ, или если фенотипическое ТЛЧ выявило чувствительность при КК.
	<i>gyrB</i>	Нет мутаций.		
Km	<i>rrs</i>	Нет мутаций.	Устойчивость к Km не выявлена.	Канамицин эффективен. Амикацин эффективен. Капреомицин эффективен.
	<i>eis</i> промотор	Мутация(-и) на участке -2		
Am	<i>rrs</i>	Нет мутаций.	Устойчивость к Am не выявлена.	
Sm	<i>rrs</i>	Нет мутаций.	Устойчивость к Sm не выявлена.	

^a При наличии более одного информативного зонда на лекарственный препарат результаты должны быть представлены в соответствии со следующей иерархией (где знак «>» означает верховенство).
 Для Lfx, Am, Km, Sm Выявлена устойчивость > Предполагается устойчивость > Устойчивость не выявлена.
 Для Mfx Выявлена мутация, связанная с высоким уровнем МИК > Выявлена мутация, связанная с как минимум низким уровнем МИК > Предполагается мутация, связанная с как минимум низким уровнем МИК > Устойчивость не выявлена.

Приложение 3.

Специфические нуклеотидные замены, выявленные МУТ-зондами

Обратите внимание, что некоторые аминокислотные (АК) замены, идентифицированные в ходе ПР-LPA и ВР-LPA, вызваны нуклеотидными заменами, которые не распознаются МУТ-зондами. Например, мутация *gyrA* A90V вызвана двумя возможными нуклеотидными заменами, а именно: (i) gcg>gtg или (ii) gcg>gtc. При этом зондом *gyrA* МУТ1 будет распознано только первая нуклеотидная замена (gcg>gtg), а второе (gcg>gtc) будет выявлено только по отсутствию *gyrA* ДТ2 (т. е. *gyrA* ДТ2 не выявлен).

	МУТ-зонд	АК-замена	Нуклеотидная замена
<i>rpoB</i> МУТ-зонды	МУТ1	D516V (D435V)	gac>gtc
	МУТ2А	H526Y (H445Y)	cac> tac
	МУТ2В	H526D (H445D)	cac> gac
	МУТ3	S531L (S450L)	tcg>ttg

	МУТ-зонд	АК-замена	Нуклеотидная замена
<i>katG</i> МУТ-зонды	МУТ1	S315T	agc>acc
	МУТ2	S315T	agc>aca

	МУТ-зонд	АК-замена	Нуклеотидная замена
<i>gyrA</i> МУТ-зонды	МУТ1	A90V	gcg>gtg
	МУТ2	S91P	tcg>ccg
	МУТ3А	D94А	gac>gcc
	МУТ3В	D94N	gac>aac
	МУТ3В	D94Y	gac>tac
	МУТ3С	D94G	gac>ggc
	МУТ3D	D94H	gac>cac

	МУТ-зонд	АК-замена	Нуклеотидная замена
<i>gyrB</i> МУТ-зонды	МУТ1	N538D (N499D)	aac>gac
	МУТ2	E540V (E501V)	gaa>gta



www.stoptb.org/wg/gli