

Региональный семинар по ускоренному внедрению рекомендаций ВОЗ по профилактике и диагностике ТБ и лечению туберкулеза с лекарственной устойчивостью (ЛУ-ТБ)

Внедрение цСНП для скрининга на ЛУ-ТБ в Каракалпакстане, Узбекистан

Diana Gomez Ospina, MPH

Специалист по общественному здравоохранению
(лаборатория)

Medecins Sans Frontieres, OC-Amsterdam

28-30 апреля 2025 г.

Алматы, Казахстан



Содержание

Справочная информация

- Введение в диагностику ТБ
- Программа MSF в Каракалпакстане
- Диагностика ЛУ-ТБ в Каракалпакстане
- Тестирование в Каракалпакстане

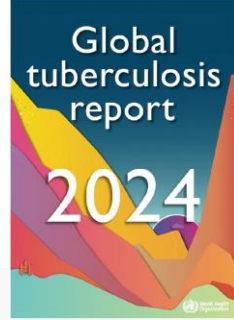
цСНП в лаборатории туберкулезной больницы №.1в Нукусе

- Подготовка
- Внедрение
- Рутинное тестирование (планирование)

Сложности внедрения

Текущие преимущества и планы на будущее

Положение дел в области диагностики ТБ в мире



~ 10,8 млн людей больны ТБ

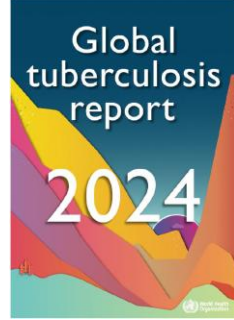
189.000 больны МЛУ/РУ-ТБ



2,6 млн незарегистрированных случаев

8,2 млн зарегистрированных случаев

Положение дел в области диагностики ТБ в мире



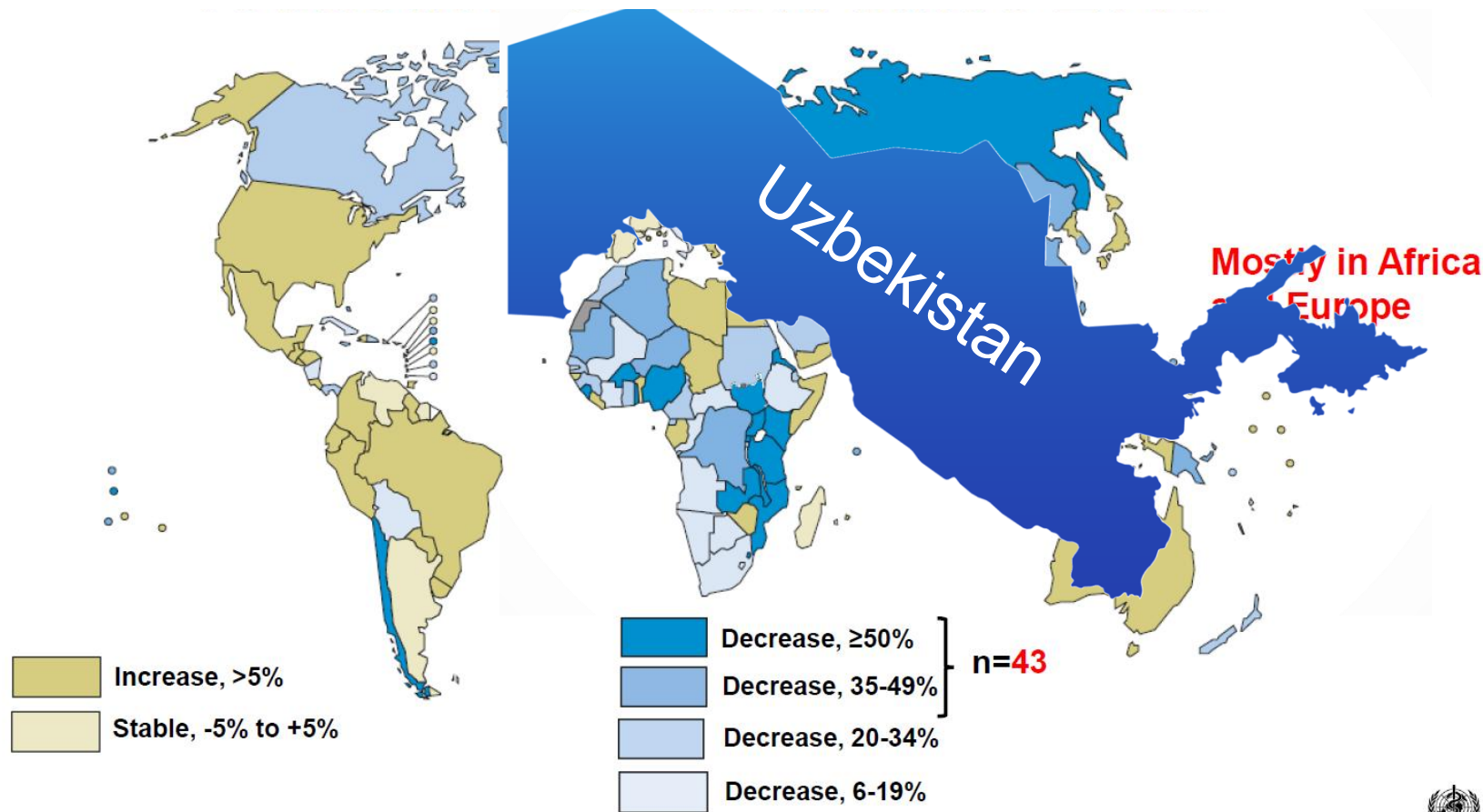
189.000 больны МЛУ/РУ-ТБ

5 млн. диагностированы с помощью mWRD

3,2 млн
диагностированы
без mWRD

8,2 млн зарегистрированных случаев

По оценкам, в **43** странах заболеваемость снизилась не менее чем на 35% с 2015 г.



Программа MSF в Каракалпакстане



Внедрение DOTS для поддержки лечения ТБ

Комплексная помощь при ТБ для всех

- Ведение больных ЛУ-ТБ

Исследование END TB PRACTECAL

Интеграция ТЛЧ к BDQ/LZD/MFX в регулярную практику

Внедрение цСНП для рутинной диагностики

1998-2010

2016

2023

1998

2010

2022

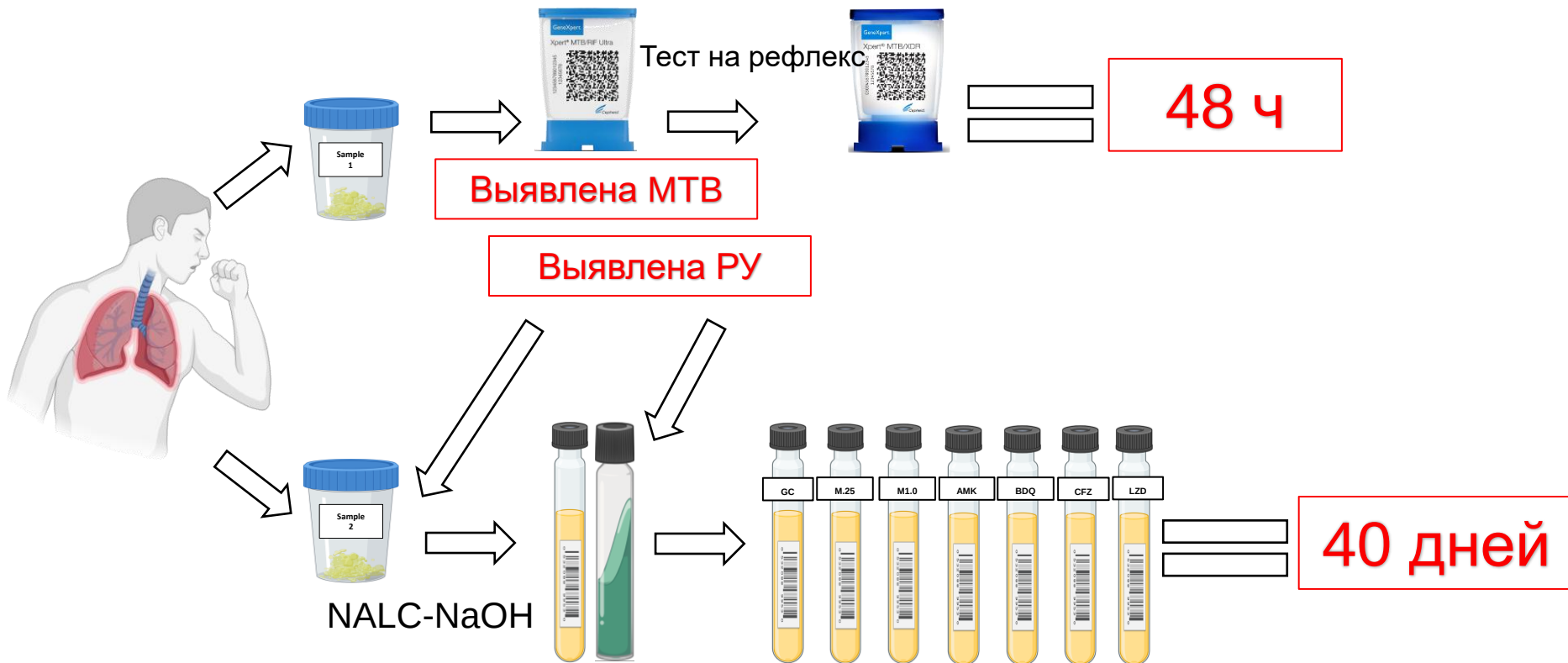
2024

Бремя МЛУ-ТБ и уход
Наращивание потенциала
Вовлечение общин
Информационно-разъяснительная работа и исследования

Отремонтирована ТБ лаборатория
Началось исследование TB PRACTECAL
ТБ лаборатория включена в программу ВОК

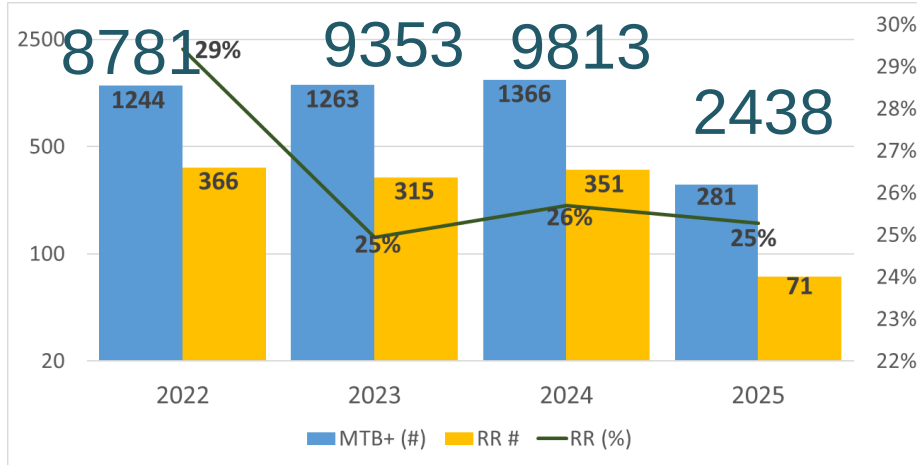
Полное внедрение режима лечения ВРaL(M)
Лечение ШЛУ-ТБ
Валидация цСНП для выявления ЛУ-ТБ

Диагностика ЛУ-ТБ в Каракалпакстане

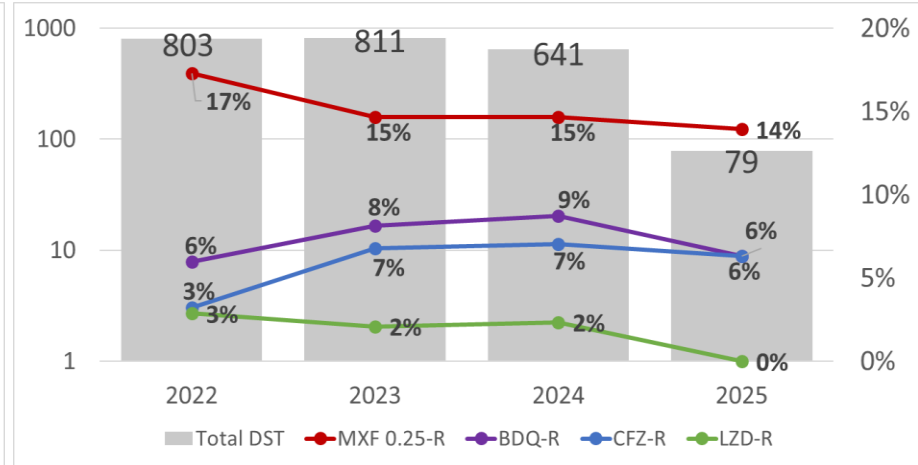


Тестирование в Каракалпакстане

Хpert Rif – выявлена устойчивость



ТЛЧ к новым/перепрофилированным препаратам



Является ли секвенирование нового поколения решением для выявления ЛУ-ТБ в Каракалпакстане?

- ✓ Быстрая диагностика устойчивости к препаратам второго ряда и новым препаратам (короткий срок выполнения анализа)
- ✓ Комплексная диагностика (включает редкие мутации, типы штаммов ТБ)
- ✓ Линии – эпидемиология и эпиднадзор

Подход к внедрению целевого СНП в Каракалпакстане



Подготовка



Внедрение



Рутинное
тестирование



Устойчивость

Поставки материалов
Гарантия качества
Техническая поддержка и устранение проблем

Дорожная карта СНП и проблемы



Инициирование проекта СНП
Создание рабочей группы по СНП

Значительная задержка в
закупке реагентов из-за COVID и
конфликта на востоке Европы
Задержка в найме специалиста
по внедрению СНП

Пилотный проект 1:
ретроспективное тестирование
изолятов РУ (с 2022 по 2023 г.)
Пилотный проект 2:
использование обычных
образцов (алгоритм и процесс
тестирования)

2020

2023

Ноябрь 2024

2019

ПАУЗА

2024

Наем специалиста по внедрению
СНП
Восстановление инфраструктуры
объекта
Заказ оборудования и реагентов

Наем лабораторного
специалиста по внедрению СНП
Подготовка СОП
Установка Illumina iSeq100
Наем лаборанта для СНП
Начало обучения

Внедрение цСНП для рутинной
диагностики

Человеческие ресурсы

- Для первоначальной оценки и внедрения были выбраны международные мобильные сотрудники
- Наем лаборанта

Оценка готовности

- Выполнена международными мобильными сотрудниками:
 - Проверка потребностей в инфраструктуре
 - Поставки необходимых материалов
 - Определение поставщиков и заключение контрактов

Составление бюджета

Ремонт помещений и обновление систем данных

Размещение первоначального заказа



Выбор реагентов и систем

Набор для
мультиплексной ПЦР



16



50

Очистка после ПЦР
/библиотека

Выделение и очистка ДНК



50

Набор для подготовки
библиотеки



24

Секвенсор и
картридж



16

Представление
результатов

GenoScreen
Innovative Genomics

DEEPLEX® Myc-TB Report

SAMPLE ID: MIX

Date of submission	May, 3 2022 14:31:18
Analysis mode	Deeplex Myc-TB V1.0 - Extended Catalogue
Quality	Good
Experiment set	One
Sample source	Validation



16



Первоначальное обучение персонала

- Обучение специалистов по внедрению рабочему процессу Deeplex в ITM
- Обучение лабораторного персонала
 - Специалист по внедрению
 - Инструктор по GenoScreen

Доработка СОП и рабочих инструкций, включая их перевод на каракалпакский язык

Пилотный проект 1: ретроспективное тестирование изолятов РУ

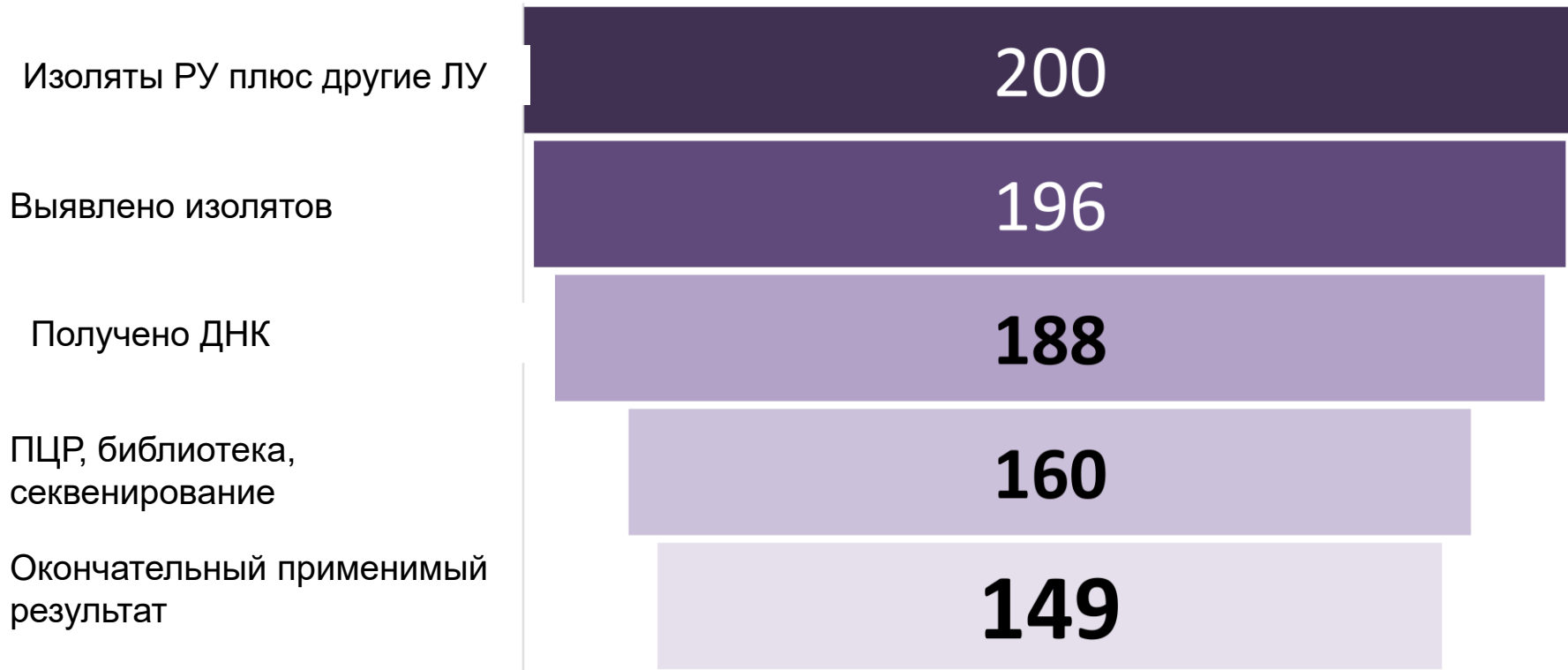
- Верификация
- Практическая осуществимость

Пилотный проект 2: использование обычных образцов

- Точная настройка методов с использованием осадка образцов
- Алгоритм тестирования и рабочий процесс



Порядок пилотного проекта 1: верификация теста с использованием изолятов



Результаты пилотного проекта 1: верификация теста с использованием изолятов

Препараты	Чувствительность (%) ДИ95	Специфичность (%) ДИ95	ППЗ (%)	ОПЗ (%)	Точность (%)	LR+	LR-
LFX	83 (53-100)	98 (93-100)	83	98	96	33.3	0.17
MFX 0.25	83 (53-100)	98 (93-100)	83	98	96	33.3	0.17
MFX 1.0	80 (45-100)	95 (86-100)	67	98	93	16.4	0.21
BDQ	88 (77-99)	100	100	97	97	>100	0.17
CFZ	100	95 (91-98)	71	100	95	17.3	0.06
LZD	67 (13-100)	100	100	99	99	>100	0.33
AMK	80 (45-100)	95 (88-100)	67	97	93	16	0.21

Пилотный проект 1: основные тезисы

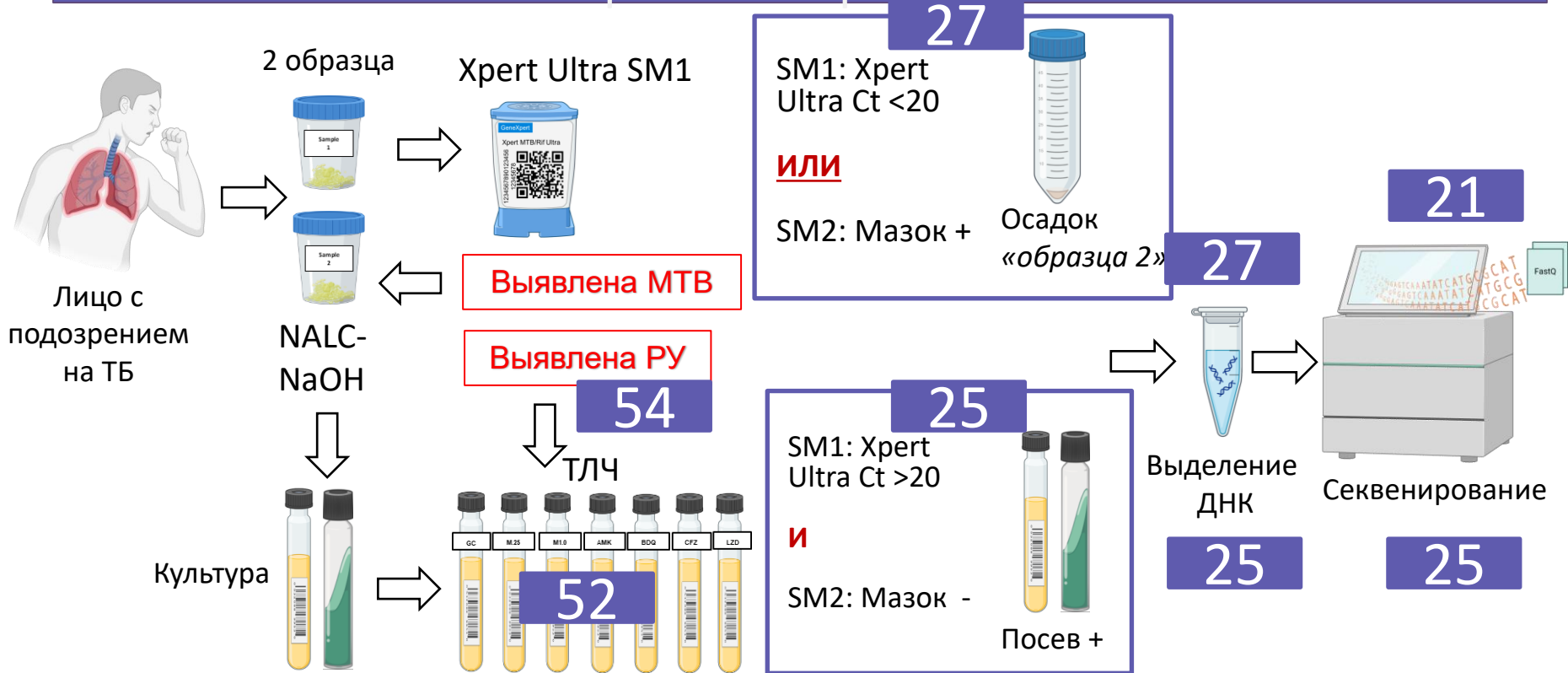
Извлеченные уроки

- Протокол выделения ДНК был изменен (расщепление лизоцима в течение ночи)
- Требуется несколько прогонов, чтобы привыкнуть к процессу: от выделения ДНК до секвенирования
- Наблюдалось загрязнение, потребовалось устранение неполадок
- Проблемы с охватом и глубиной генов *rrs* (АМК)

Выводы из пилотного проекта 1

- Отличная эффективность для всех препаратов (кроме линезолида – из-за малого количества изолятов, устойчивых к линезолиду)
- Технология цСНП Deeplex может использоваться для «подтверждения» устойчивости ко всем протестированным препаратам
- Технология цСНП Deeplex может использоваться для «исключения» устойчивости ко всем протестированным препаратам, кроме бедаквилина и линезолида
 - Ограниченная информация о мутациях, связанных с устойчивостью
 - Ограниченное количество штаммов с ТЛЧ-У

Порядок пилотного проекта 2: алгоритм тестирования и рабочий процесс



Результаты пилотного проекта 2: алгоритм тестирования и рабочий процесс

<u>Препараты</u>	<u>Чувствительность (%) ДИ95</u>	<u>Специфичность (%) ДИ95</u>	<u>ППЗ (%)</u>	<u>ОПЗ (%)</u>	<u>Точность (%)</u>	<u>LR+</u>	<u>LR-</u>
LFX	97 (91-100)	94 (90-98)	83	99	95	16.4	0.03
MFX 0.25	93 (86-100)	100	100	97	98	>100	0.07
MFX 1.0	100	82 (75-88)	39	100	84	5.4	<0.0001
BDQ*	100	100	100	100	100	>100	<0.0001
CFZ*	100	100	100	100	100	>100	<0.0001
LZD	0 R Недостаточные данные						
AMK	100	99 (97-100)	96	100	99	70.4	0.02

Пилотный проект 2: основные тезисы

Извлеченные уроки

- Протокол выделения ДНК был изменен во второй раз
- Проблем с охватом и глубиной генов *rrs* (АМК) было больше при работе с осадками
- Необходимо добавить другие критерии для поддержания пригодного времени выполнения анализов при повседневном использовании. Другие случаи ЛУ в первую очередь тестировать с помощью rWRD
- Несмотря на добавление дополнительных образцов время выполнения анализов составляет почти 2 недели
- Некоторые неописанные мутации необходимо перепроверять с использованием каталога ВОЗ 2023 г.

Выводы из пилотного проекта 2

- Рабочий процесс и алгоритм были успешно протестированы с небольшими корректировками
- Очень мало устойчивых штаммов в этой когорте
- Технология цСНП для скрининга ЛУ для новых препаратов является многообещающей, но рекомендуется тщательный мониторинг, поскольку пилотный проект 1 показал хорошую или умеренную чувствительность из-за охвата тестированием

Уроки, извлеченные из пилотных проектов, и оптимизация

- В СОП были внесены изменения для улучшения результатов
- Изменены показания для тестирования

Алгоритм диагностики с помощью цСНП

- Такой же, как рекомендован в справочнике 3 ВОЗ

Соображения в отношении тестирования (еженедельное тестирование)

- ВСЕ результаты тестов Xpert Ultra на устойчивость к рифампицину (приоритет 1)
- Подозрения на неэффективность лечения (приоритет 2)
- Образцы или изоляты, устойчивые к изониазиду (приоритет 3)
- ЛУ-ТБ с недостающим тестом на устойчивость (пиразинамид)

Результаты валидации и их передача врачам

- Для представления результатов составлен простой отчет

Включение цСНП в текущую программу ВОУ компании Gauting

- Первая партия будет отправлена в декабре 2024 г. (ожидается ответ по каналам обратной связи)

Выделение ДНК



Очистка после ПЦР



Секвенирование



Мультиплексная ПЦР
(Deerplex Мус-TB)



Подготовка библиотеки

Оценить влияние текущего глобального климата финансирования на децентрализацию и доступ к цСНП

Включить цСНП в процесс планирования НПТ и НРЛ по ТБ

В дальнейшем использовать цСНП для других целей (повседневные тесты, эпиднадзор, исследования и т. д.)

Предложить использовать цСНП в других регионах помимо Каракалпакстана

Долгосрочное планирование:

- Расширение масштабов применения
- Определение дополнительных источников финансирования
- Работа в координации с НРЛ

Проблемы внедрения и меры по смягчению последствий

Инфраструктура

- Состояние лабораторной инфраструктуры было неудовлетворительным
 - Дополнительная модернизация ⇒ однонаправленность
 - Реорганизация пространства
- Интернет-подключение было модифицировано

Поставка материалов

- Поставка и закупка реагентов с коротким сроком хранения
- Команда снабжения усердно работает над тем, чтобы обеспечить наличие ВСЕХ необходимых материалов
- Постоянная коммуникация

Тренинги

- Базовые знания молекулярной биологии
- Языковой барьер (программное обеспечение и интерфейс на английском языке)

Технические проблемы (уже рассматривались в описании пилотных проектов)

- Выделение ДНК
- Проблемы с геном *rrs*
- Неописанные мутации
- Наблюдалось загрязнение

Управление данными и отчетность

- Хранилище инструментов является ограниченным
- Включение СНП в повседневную отчетность потребовало обновления ЛИС

Текущие преимущества и планы на будущее

Комплексный тест

- Выявление МБТ + линия + 13 препаратов

Время выполнения анализов

- Осадки образцов: 7-14 дней
- Изоляты: 18-21 дней

Мутации и эпиднадзор

- Получение представления о мутациях, частоте и распределении будет важно для разработки стратегий вмешательств

Потенциальный инструмент исследования

- Эпидемиологические и научные исследования
 - Анализ данных, полученных по итогам пилотного проекта 1, для эпиднадзора
- Вклад в непрерывно увеличивающийся в объеме каталог мутаций

Ведение пациентов

- Мониторинг эффективности рутинного цСНП с использованием ключевых показателей
- Сокращение времени выполнения диагностических тестов увеличит вероятность успешности лечения

Информационно-разъяснительная деятельность

- Влияние на рынок для снижения затрат и расширения доступа

Выражение признательности



Лабораторная группа в
Нукусе



Группа по данным и
лабораториям, MSF



Группа снабжения, MSF



Группа биомедиков,
MSF



Mercy Oluya

Бывший менеджер
лаборатории



Marie Gasasira

Бывший менеджер по
СНП



Antonio Pedrotta

Бывший консультант по
СНП



Gulnara Tolepova

Техник-лаборант по
СНП

Regional Workshop on **Accelerated Implementation of WHO Guidelines**
on TB Prevention, Diagnosis, and Drug-Resistant TB (DR-TB) Treatment

