



Молекулярное обнаружение туберкулеза с множественной лекарственной устойчивостью в системе BD MAX™



Арина Пустарнакова
Специалист по продукту

Матвей Ставцев
Медицинский советник

BD IDS

Компания BD предлагает решения для диагностики ТБ

От взятия образцов до получения результатов



Взятие и обработка образцов



Система для сбора мокроты
Набор BD BBL MycoPrep



Посев и инкубация



Готовые среды BD BBL
Пробирки BD BBL MGIT (для работы вручную)
Пробирки BD BACTEC MGIT (для автоматизированной обработки)
Прибор BD BACTEC MGIT



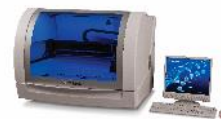
Идентификация



Наборы для окраски BD BBL AFB
Тест BD MGIT TBcID*
Пробирки BD BBL MGIT (для работы вручную)
Пробирки BD BACTEC MGIT (для автоматизированной обработки)
Считывающее устройство BD BACTEC MicroMGIT
Прибор BD BACTEC MGIT



Молекулярная диагностика



Система BD MAX
Набор для тестирования BD MAX MDR-TB



ТЛЧ, Отчеты и мониторинг



Прибор BD BACTEC MGIT
Набор BD BACTEC MGIT 960 SIRE
Программное обеспечение BD EpiCenter
Программное обеспечение BD BACTEC MGIT TBeXist*

Система BD MAX — это решение молекулярной диагностики BD



меньше 1 минуты^а

ручные манипуляции при пробоподготовке¹

15 минут^а

ручных манипуляций при пробоподготовке на запуск 24 образцов (полная загрузка) ^{1,2}

Менее 4-х часов

от постановки 24-х образцов до получения результата ^{1,3}

до **24**
ОБРАЗЦОВ ЗА
ЦИКЛ



**СОЧЕТАЙТЕ
РАЗЛИЧНЫЕ
АНАЛИЗЫ
В ОДНОМ ЦИКЛЕ**



^а. Рассчет основывается на выполнении 24-образцов (15 минут на 24 образца)

1. Felder RA, Jackson KD, Walter AM. Process evaluation of an open architecture real-time molecular laboratory platform. J Lab Autom. 2014;19(5):468-473. doi:10.1177/2211068214533195,

2. Hirvonen JJ, Kaukoranta SS. Comparison of BD Max Cdiff and GenomEra C. difficile molecular assays for detection of toxigenic Clostridium difficile from stools in conventional sample containers and in FecalSwabs. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2015;34(5):1005-1009. doi:10.1007/s10096-015-2320-2,

3. BD MAX MDR-Tb IFU

³ © BD, 2020 г. «BD», логотип «BD» и другие товарные знаки принадлежат Представительству Компании «Бектон Дикинсон Б.В.» (Нидерланды).

Продукция может подлежать локальной регистрации. Чтобы узнать о доступности продукции в вашей стране, обратитесь к местному представителю компании BD.



Система BD MAX специализируется на *in vitro* диагностике, удовлетворяя потребности диагностики во всем мире

Внутрибольничные инфекции	Кишечные инфекции	Женское здоровье и инфекции, передаваемые половым путем	Респираторные инфекции
MRSA XT	Enteric Bacterial Panel	GBS	MDR-Tb
StaphSR	Enteric Parasite Panel	CT/GC	SARS-CoV-2
Cdiff	Enteric Viral Panel	CT/GC/TV	SARS-CoV-2 / Flu
Check-Points CPO	Extended Enteric Bacterial Panel	Vaginal Panel	
Certest Vancomycin Resistant Enterococi		GC rt PCR	

Продукция может подлежать локальной регистрации. Чтобы узнать о доступности продукции в вашей стране, обратитесь к местному представителю компании BD.

© BD, 2020 г. «BD», логотип «BD» и другие товарные знаки принадлежат Представительству Компании «Бектон Дикинсон Б.В.» (Нидерланды).



Тест BD MAX MDR-Tb (МЛУ-ТБ) — четыре результата в одном тесте!¹



Туберкулез	Туберкулез с множественной лекарственной устойчивостью		
Мультикопийные и монокопийные геномные мишени ¹	РИФАМПИН (ген <i>rpoB</i>) — RRDR ¹	ИЗОНИАЗИД (<i>inhA</i>) промотор ¹	ИЗОНИАЗИД (<i>katG</i>) ¹

Выявляет мутации генов *inhA* и *katG* — два вида наиболее часто регистрируемых мутаций, связанных с устойчивостью к изониазиду

1. BD MAX MDR-Tb IFU

Продукция может подлежать локальной регистрации. Чтобы узнать о доступности продукции в вашей стране, обратитесь к местному представителю компании BD.

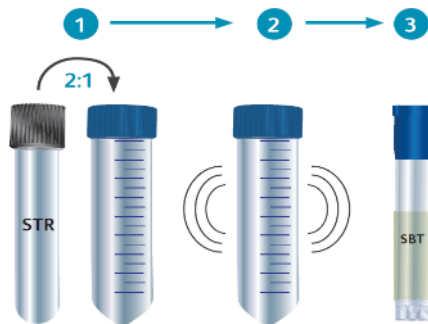
© BD, 2020 г. «BD», логотип «BD» и другие товарные знаки принадлежат Представительству Компании «Бектон Дикинсон Б.В.» (Нидерланды).



Гибкость и эффективность молекулярной диагностики ТБ

Рабочий процесс BD MAX MDR-TB¹

Подготовка образцов в боксе биологической безопасности



1. Перенесите реактив для обработки образца BD MAX (STR) в образец мокроты
2. ПЕРЕМЕШАЙТЕ (30 мин при комн. темп. Через 5 мин встряхните флакон)
3. Перенесите смесь в пробирку BD MAX Sample Buffer

4. Поставьте пробирку Sample Buffer в штатив

5. Загрузите унифицированные стрипы с реактивами для экстракции и ПЦР

6. Поместите картридж ПЦР в считывающее устройство

1. BD MAX MDR-Tb IFU

Проводите любой анализ в любое время



Воспользуйтесь нашим широким спектром анализов для диагностики *in vitro* или создавайте собственные тесты с помощью наших реактивов



Возможность выбора количества образцов в одном цикле (от 1 до 24 образцов)¹



Сочетайте разные анализы в одном цикле*



Используйте режим полного анализа или, в рамках пользовательских протоколов, режимы «Только извлечение» и «Только ПЦР»¹



1. BD MAX MDR-Ть IFU

*Система BD MAX одобрена или зарегистрирована FDA только для использования с анализами BD MAX для диагностики *in vitro*, одобренными или зарегистрированными FDA.

Анализы для диагностики *in vitro*, анализы только в исследовательских целях (RUO) и определяемые пользователем протоколы (UDP) не могут быть объединены в одном штативе.

7

© BD, 2020 г. «BD», логотип «BD» и другие товарные знаки принадлежат Представительству Компании «Бектон Дикинсон Б.В.» (Нидерланды).

Продукция может подлежать локальной регистрации. Чтобы узнать о доступности продукции в вашей стране, обратитесь к местному представителю компании BD.





Обзор научных данных и публикаций

ВОЗ рекомендует обнаруживать генетические мутации, вызывающие устойчивость к изониазиду

Сводное руководство ВОЗ по лечению лекарственно-устойчивого туберкулеза¹



При наличии возможности тестирование на устойчивость к изониазиду должно также включать в себя информацию о конкретных мутациях, связанных с устойчивостью к изониазиду (*katG* или *inhA*)...



katG and **inhA** две наиболее известные генные мутации, вызывающие устойчивый к изониазиду формы туберкулеза¹.



В случаях изониазид-устойчивого ТБ (НУ-ТБ) при обнаружении специфических мутаций **inhA** (и при отсутствии каких-либо мутаций **katG**) увеличение дозы изониазида может быть эффективным¹



При наличии мутаций **katG**, которые чаще всего обеспечивают более высокий уровень устойчивости, использование изониазида даже в более высокой дозе с меньшей вероятностью будет эффективным.¹



В случаях **МЛУ-ТБ** наличие мутаций **inhA** и **katG** указывает на то, что и изониазид, и этионамид, вероятно, будут неэффективными¹

1. World Health Organization. (2019). WHO consolidated guidelines on drug-resistant tuberculosis treatment. <https://www.who.int/tb/publications/2019/consolidated-guidelines-drug-resistant-TB-treatment/en/>

Многоцентровое исследование точности теста BD MAX Multidrug-Resistant Tuberculosis Assay для выявления комплекса Mycobacterium tuberculosis и мутаций, связанных с устойчивостью к рифампицину и изониазиду¹



Задачи исследования

Оценка точности теста BD MAX с множественной лекарственной устойчивостью (MDR) -TB Assay (BD MAX)

Table 2. Diagnostic Accuracy of the BD MAX Assay for Detection of Mycobacterium tuberculosis Among Raw Specimens Against a Microbiological Reference Standard of Mycobacterial Culture

Analysis and BD MAX Result	Microbiological Culture		
	Positive	Negative	Total (95% CI)
Overall			
Positive	282	17	279 (PPV, 94% [91–96%])
Negative	20	593	613 (NPV, 97% [95–98%])
Total	282	610	892
Sensitivity	93% (89–95%)*		
Specificity	97% (95–98%)*		
Smear stratified			
FM smear positive			
Positive	175	1	176 (PPV, 99% [97–100%])
Negative	0	0	0
Total	175	1	176
Sensitivity	100% (98–100)		
Specificity	...		
FM smear negative			
Positive	87	15	102 (PPV, 86% [77–91%])
Negative	20	591	611 (NPV, 97% [95–98%])
Total	107	606	713
Sensitivity	81% (73–88%)		
Specificity	98% (95–99%)		
ZN smear positive			
Positive	148	0	148 (PPV, 100% [98–100%])
Negative	0	0	0 (NPV, 100% [21–100%])
Total	148	0	148
Sensitivity	100% (98–100%)		
Specificity	...		
ZN smear negative			
Positive	114	16	130 (PPV, 88% [81–92%])
Negative	20	592	612 (NPV, 97% [95–98%])
Total	134	608	742
Sensitivity	85% (79–90%)		
Specificity	97% (95–98%)		

Abbreviations: BD MAX, BD MAX multidrug-resistant tuberculosis assay; CI, confidence interval; FM, fluorescence microscopy; NPV, negative predictive value; PPV, positive predictive value; ZN, Ziehl-Neelsen.

Table 3. Performance of the BD MAX Assay for the Detection of Drug Resistance Among Raw Specimens

Analysis and BD MAX Result	Microbiological Culture-Based DST		
	Positive	Negative	Total (95% CI)
Any drug resistance (INH or RIF)^a			
Positive	24	7	31 (PPV, 77%)
Negative	5	195	200 (NPV, 95%)
Total	29	202	231
Sensitivity	83% (66–92%)		
Specificity	97% (93–98%)		
INH resistance			
Positive	22 ^b	0	22 (PPV, 100%)
Negative	5 ^c	205	210 (NPV, 98%)
Total	27	205	232
Sensitivity	82% (63–92%)		
Specificity	100% (98–100%)		
RIF resistance			
Positive	9	11 ^d	20 (PPV, 45%)
Negative	1	211	212 (NPV, 99.5%)
Total	10	222	232
Sensitivity	90% (60–98%)		
Specificity	95% (91–97%)		



Выводы исследования

- При диагностике активного туберкулеза тест BD MAX MDR-TB имел чувствительность 93% для подтвержденных случаев легочного ТБ с точностью, сравнимой с существующими молекулярными системами.
- Тест BD MAX обладал высокой чувствительностью и специфичностью для выявления устойчивости как к рифампицину, так и к изониазиду, что соответствовало текущим целям по разработке новых инструментов для быстрых тестов на лекарственную чувствительность для туберкулеза.
- Тест BD MAX выявляет ДНК Микобактерии туберкулезного комплекса (МТК), а также мутации устойчивости в генах *groV* и *katG* и промоторной области *inhA*, связанной с МЛУ-ТБ.
- Тест BD MAX Assay может стать новым диагностическим инструментом для быстрого выявления туберкулеза во всем мире.

¹ © BD, 2020 г. «BD», логотип «BD» и другие товарные знаки принадлежат Представительству Компании «Бектон Дикинсон Б.В.» (Нидерланды).

• Shah M, Paradis S, Betz J, et al. Multicenter Study of the Accuracy of the BD MAX Multidrug-resistant Tuberculosis Assay for Detection of Mycobacterium tuberculosis Complex and Mutations Associated With Resistance to Rifampin and Isoniazid. *Clin Infect Dis.* 2020;71(5):1161-1167. doi:10.1093/cid/ciz932



План доклинической валидации для оценки аналитической чувствительности молекулярных диагностических средств, таких как BD MAX MDR-TB, Xpert MTB / Rif Ultra и FluoroType MTB¹

Задачи исследования

Измерить и провести прямое сравнение аналитической чувствительности (LoD₉₅ TB) тестов XP-Ultra, BD-MAX и FT-MTB с использованием физиологического раствора, человеческой мокроты и искусственной мокроты на основе муцина (MUCAS) в качестве тестовых матриц с использованием стандартизированного плана валидации.

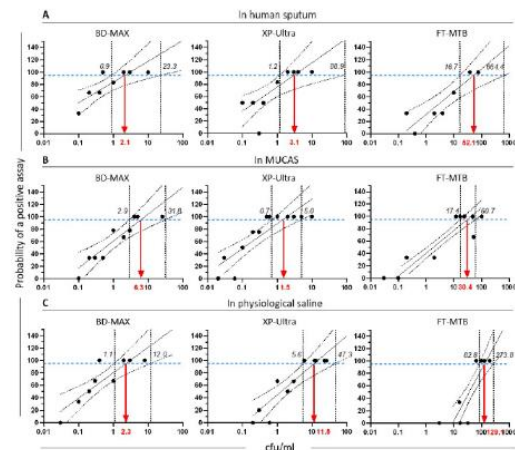


Fig 2. LoD₉₅^{TB} of BD-MAX MDR-TB (BD-MAX), Xpert MTB/Rif Ultra (XP-Ultra) and FluoroType MTB (FT-MTB) in human sputum (A), MUCAS (B) and physiological saline solution (C). Red arrow: calculated LoD₉₅^{TB}, solid black line: predicted positive assay, blue dashed line: 95% probability of a positive assay, black dashed lines: upper and lower CI₉₅ intervals.



Выводы исследования

- Недавно запущенные ПЦР-тесты, включая BD-MAX, позволяют микробиологам выбирать из большого количества улучшенных средств диагностики туберкулеза.
- Чувствительность - один из основных критериев при принятии решения о проведении конкретного теста.
- Исследование обеспечивает не только прямое сравнение аналитической чувствительности двух выдающихся представителей нового поколения тестов на туберкулёз, но также предлагает стандартизированный план оценки аналитической чувствительности с использованием искусственной мокроты с точно определенными концентрациями бактерий
- Тесты BD-MAX и XP-Ultra обладают сопоставимой аналитической чувствительностью
- Beutler M, Plesnik S, Mihalic M, et al. A pre-clinical validation plan to evaluate analytical sensitivities of molecular diagnostics such as BD MAX MDR-TB, Xpert MTB/Rif Ultra and FluoroType MTB. *PLoS One*. 2020;15(1):e0227215. Published 2020 Jan 7. doi:10.1371/journal.pone.0227215

Evaluation of the BD MAX™ MDR-TB assay in a real-world setting for the diagnosis of pulmonary and extra-pulmonary TB

Задачи исследования

Оценить тест-систему BD MAX™ MDR-TB на образцах органов дыхательной системы (валидированные типы образцов) и ряде внелегочных образцов (невалидированные типы образцов) в реальных условиях и в части Лондона, с наибольшей заболеваемостью туберкулезом.

Table 4 Isoniazid and rifampicin resistance results generated by WGS, BD MAX and geneXpert

No. of samples	WGS result (I/R)	Mutations detected by (WGS)	BD MAX result (I/R)	Xpert result (R only)
8	Susceptible/susceptible	NA	Susceptible/susceptible	Susceptible
23	Susceptible/susceptible	NA	Susceptible/susceptible	ND
1	Susceptible/susceptible	NA	Unreportable/susceptible	ND
1	Susceptible/susceptible	NA	Susceptible/resistant	Susceptible
24	Susceptible/susceptible	NA	NA	ND
2	Susceptible/susceptible	NA	NA	Susceptible
1	Susceptible/unknown	Not reported ^b	Susceptible/susceptible	ND
1	Susceptible/unknown	NK (<i>rpoB</i>)	NA	ND
1	ND ^a	NA	Susceptible/susceptible	Susceptible
2	Resistant/susceptible	S315T (<i>katG</i>)	Resistant/susceptible	ND
1	Resistant/susceptible	S315T (<i>katG</i>)	NA	ND
1	Unknown/susceptible	NK (<i>katG</i>)	NA	ND
1	Resistant/resistant	S315T (<i>katG</i>), S450L (<i>rpoB</i>)	NA	ND

I isoniazid; R rifampicin; NA not applicable as wild-type gene detected (WGS) or MTBC low positive does not generate a resistance result/sample as MTBC negative (BD MAX); NK unknown, the reference laboratory do not provide details of the unknown mutations; ND test not done; unreportable due to loss of signal for the resistance target, no resistance result could be generated

^a This sample was negative on culture, therefore, WGS not done

^b Not reported due to poor quality sequencing



Выводы исследования

Производительность по сравнению с MGIT и полногеномным секвенированием (WGS):

- Чувствительность в случае образцов лёгких (МТК) составила от 92 до 93%, специфичность от 95 до 99%
- Чувствительность в случае нелёгочных образцов (МТК) составила от 52% до 100%, специфичность составила 100%.
- Обнаружение устойчивости: высокое совпадение с результатами полногеномного секвенирования
- Ciesielczuk H, Kouvas N, North N, Buchanan R, Tiberi S. Evaluation of the BD MAX™ MDR-TB assay in a real-world setting for the diagnosis of pulmonary and extra-pulmonary TB. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2020;39(7):1321-1327. doi:10.1007/s10096-020-03847-2

Выводы



- В глобальном масштабе бремя МЛУ-ТБ, ТБ с монорезистентностью к изониазиду (INH) и ТБ с монорезистентностью к рифампицину (RIF) остается высоким, и разработка инструментов, которые точно определяют устойчивость как к INH, так и к RIF, приобретает все большее значение для обеспечения быстрой индивидуальной терапии.
- Тест BD MAX MDR-TB обеспечивает точную и быструю (менее 4 часов) диагностику легочных и/или внелегочных микобактерий ТБ.
- Эффективность тест-системы BD MAX MDR TB находится на одном уровне с существующими сверхчувствительными молекулярными методами
- Тест-система BD MAX MDR-TB позволяет обнаруживать мутации в промоторе гена *inhA*, мутации гена *katG*, в дополнение к гену *groV*, в отличие от других широко используемых молекулярных тест-систем, которые сосредоточены только на первоначальной идентификации устойчивости к RIF.
- Ciesielczuk H, Kouvas N, North N, Buchanan R, Tiberi S. Evaluation of the BD MAX™ MDR-TB assay in a real-world setting for the diagnosis of pulmonary and extra-pulmonary TB. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2020;39(7):1321-1327. doi:10.1007/s10096-020-03847-2
- Beutler M, Plesnik S, Mihalic M, et al. A pre-clinical validation plan to evaluate analytical sensitivities of molecular diagnostics such as BD MAX MDR-TB, Xpert MTB/Rif Ultra and FluoroType MTB. *PLoS One.* 2020;15(1):e0227215. Published 2020 Jan 7. doi:10.1371/journal.pone.0227215
- Shah M, Paradis S, Betz J, et al. Multicenter Study of the Accuracy of the BD MAX Multidrug-resistant Tuberculosis Assay for Detection of Mycobacterium tuberculosis Complex and Mutations Associated With Resistance to Rifampin and Isoniazid. *Clin Infect Dis.* 2020;71(5):1161-1167. doi:10.1093/cid/ciz932
- BD MAX MDR-Tb IFU