

<https://doi.org/10.31631/2073-3046-2026-25-1-111-120>

Таргетное секвенирование в диагностике инфекционных заболеваний: современное состояние и перспективы

М. И. Надтока*¹, Г. В. Роев^{1,2}, К. Ф. Хафизов¹, В. Г. Акимкин¹

¹ФБУН Центральный НИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва

²ФГАУ ВО «Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет)», Москва

Резюме

Актуальность. Таргетное секвенирование постепенно занимает все более важное место в диагностике инфекционных заболеваний на фоне ряда ограничений традиционных методов и высокой стоимости/сложности метагеномного секвенирования.

Цель. Обобщить современные подходы к таргетному NGS в диагностике инфекций, показать его преимущества и ограничения, по сравнению с культуральными и ПЦР-методами, а также с метагеномным секвенированием, и обсудить перспективы внедрения в рутинную практику и систему геномного эпиднадзора. **Заключение.** Показано, что таргетное секвенирование, при сопоставимых с традиционными методами сроках и стоимости, позволяет существенно повышать чувствительность и специфичность выявления возбудителей, точно типировать патогены и одновременно получать данные, пригодные для эпиднадзора и мониторинга устойчивости к противомикробным препаратам. Обсуждаются ключевые технологические и организационные барьеры, а также направления развития панелей и биоинформатических решений, которые способны сделать таргетное NGS одним из базовых инструментов инфекционной диагностики в ближайшие годы.

Ключевые слова: таргетное секвенирование, инфекционные заболевания, диагностика инфекций, таргетное NGS (tNGS), геномный эпиднадзор, молекулярная диагностика

Конфликт интересов не заявлен.

Для цитирования: Надтока М. И., Роев Г. В., Хафизов К. Ф. и др. Таргетное секвенирование в диагностике инфекционных заболеваний: современное состояние и перспективы. *Эпидемиология и Вакцинопрофилактика*. 2026;25(1):111-120. <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2026-25-1-111-120>

Targeted Sequencing in Infectious Disease Diagnostics: Current State and Future Prospects

MI Nadtoka**¹, GV Roev^{1,2}, Khafizov¹, VG Akimkin¹

¹FBSI Central Research Institute of Epidemiology of Rosпотребнадзор, Russian Federation

²Moscow Institute of Physics and Technology (National Research University), Russian Federation

Abstract

Relevance. Targeted sequencing is becoming an increasingly important tool in the diagnosis of infectious diseases in response to the limitations of conventional diagnostic methods and the high cost and complexity of metagenomic sequencing. **Aims.** To summarize current approaches for targeted next-generation sequencing (tNGS) in infectious disease diagnostics, to highlight its advantages and limitations in comparison with culture-based and PCR-based methods as well as metagenomic sequencing, and to discuss prospects for its implementation in routine clinical practice and genomic surveillance systems. **Conclusion.** Targeted sequencing has been shown to substantially improve the sensitivity and specificity of pathogen detection while maintaining turnaround time and cost comparable to conventional diagnostic methods. In addition, it enables accurate pathogen typing and the simultaneous generation of data suitable for genomic surveillance and antimicrobial resistance monitoring. Key technological and organizational barriers are discussed, along with future directions in the development of targeted panels and bioinformatic solutions that may establish tNGS as one of the core tools of infectious disease diagnostics in the coming years.

Keywords: targeted sequencing, infectious diseases, infection diagnostics, targeted NGS (tNGS), genomic surveillance, molecular diagnostics

No conflict of interest to declare.

For citation: Nadtoka MI, Roev GV, Khafizov KF et al. Targeted sequencing in infectious disease diagnostics: current state and future prospects. *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2026;25(1):111-120 (In Russ.). <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2026-25-1-111-120>

* Для переписки: Надтока Максим Игоревич, научный сотрудник, ФБУН «Центральный НИИ Эпидемиологии» Роспотребнадзора, 111123, Москва, ул. Новогиреевская, д. 3А. +7 (916) 080-97-50, nadtoka@cmd.su. ©Надтока М. И. и др.

** For correspondence: Nadtoka Maksim Ig., Research associate, FBSI Central Research Institute of Epidemiology of Rosпотребнадзор, 3A, Novogireevskaya str., Moscow, 111123, Russia. +7 (916) 080-97-50, nadtoka@cmd.su. ©Nadtoka MI, et al.

Введение

Острые респираторные инфекции (ОРИ) по-прежнему остаются одной из лидирующих причин смерти по всему миру [1]. ОРИ обуславливают существенную нагрузку на системы здравоохранения [2]. Порядка 80 % диагностируемых случаев инфекции дыхательных путей вызываются вирусами [3]. ОРВИ вызывают множество вирусов, однако наиболее часто упоминаются лишь такие возбудители, как вирусы гриппа, респираторно-синцициальные вирусы и SARS-CoV-2 [4]. Такая специфическая картина выявляемости возбудителей ОРВИ обусловлена различными факторами, включая распространенность вируса и тяжесть вызываемых им симптомов, а также наличием и доступностью противовирусных препаратов, которые оказывают наиболее эффективное воздействие на ранних стадиях заболевания [5]. В то же время такой прагматичный подход к диагностике приводит к недооценке вклада других вирусов в общую картину заболеваемости ОРВИ, хотя некоторые из них способны вызывать тяжелые формы инфекции и/или существенно влиять на ту или иную социальную сферу [6,7]. Кроме того, острые респираторные инфекции нередко вызываются сочетанным действием нескольких патогенов, что существенно затрудняет установление корректного диагноза [8]. Приведенные выше диагностические особенности ОРВИ отчетливо указывают на необходимость смены диагностической парадигмы в сторону обнаружения более широкого круга возбудителей. Однако диагностика, подразумевающая охват такого широкого спектра вирусов, осложняется специфическими ограничениями используемых методов.

Сегодня молекулярно-генетические методы на основе полимеразной цепной реакции (ПЦР) или петлевой изотермической амплификации (LAMP) стали новым стандартом диагностики. Они прочно укрепились в рутинной лабораторной диагностике благодаря своим исключительным качествам, а именно: высокой чувствительности и специфичности анализа, его сравнительной скорости и низкой стоимости. При этом, несмотря на все их бесспорные преимущества, эффективное применение этих методов напрямую связано с необходимостью иметь априорную гипотезу об этиологии болезни. Вдобавок, количество мишеней ПЦР-тестов ограничено количеством комбинаций флуоресцентных красителей, что, в свою очередь, обусловлено максимальным числом каналов для детекции флуоресцентных сигналов в амплификаторе (обычно до 6 каналов) [9].

В большинстве случаев диагностические тест-системы ориентированы на выявление одного конкретного патогена и связанных с ним генетических маркеров (например, полиморфизмов нуклеотидной последовательности, используемых для типирования, или генов антибиотикорезистентности). Альтернативный подход заключается в создании мультиплексных систем, предназначенных

для одновременной идентификации относительно узкого набора возбудителей, например для детекции и дифференциации вирусов гриппа А и В [10]. Для решения задач по охвату более существенного количества вирусов обычно разрабатывают тест-системы, состоящие из серии ПЦР-тестов. Так, каждая серия представляет собой несколько отдельных ПЦР, в каждой из которых возможно идентифицировать около 3–5 мишеней. В реальной практике совокупность перечисленных недостатков может приводить к ситуациям, когда за неимением предварительной гипотезы об этиологии заболевания сотрудникам лаборатории приходится анализировать один образец при помощи серии постановок ПЦР с разными реакционными смесями. В таких случаях процесс анализа становится время- и финансово затратным.

На этом фоне перспективной альтернативой ПЦР-диагностике выступают методы секвенирования нового поколения (NGS), поскольку их преимущества позволяют компенсировать ограничения ПЦР-тестов. Технологии высокопроизводительного секвенирования, или NGS (от англ. Next-Generation Sequencing), позволяют параллельно расшифровывать миллионы ДНК-матриц, что обеспечивает высокую пропускную способность анализа и одновременно делает его дешевле [11]. В свою очередь, сами геномные данные патогена представляют высокую ценность, так как они являются источником информации о его вирулентности, а также с их помощью исследователи могут выявлять гены устойчивости к лекарственным препаратам [12,13]. В последние годы новые версии NGS-платформ с каждым разом повышают планку производительности, эффективности и скорости секвенирования. Благодаря этому технологии NGS уже перестают быть дорогостоящим инструментом фундаментальных исследований и все больше интегрируются в клинические лаборатории [14].

В контексте исследования вирусов существует несколько подходов к секвенированию, при помощи которых можно расшифровать как полный геном патогена, так и его фрагменты: метагеномное (mNGS) и таргетное (tNGS) секвенирование, которое в свою очередь условно подразделяется на ампликонное секвенирование и секвенирование с обогащением посредством гибридизации [13, 15]. Каждый из них имеет свои сильные стороны, и выбор в пользу того или иного подхода делается исходя из поставленных задач. Так, например, метагеномный подход является уникальным инструментом, способным выявить патоген без предварительного знания его геномной последовательности и используется для расследования случаев заболеваний неясной этиологии [16–18]. Метагеномное секвенирование представляет собой экспериментальный метод, позволяющий расшифровывать последовательности всех нуклеиновых кислот, содержащихся в образце. Данный подход является, пожалуй, единственным в своем роде, так

как с его помощью потенциально возможно обнаружить любой неизученный патоген. Особенно актуально использование mNGS для идентификации новых вирусов ввиду того, что они крайне разнообразны и у них в геноме отсутствуют гомологичные участки, универсальные для всех представителей данного таксона. Метагеномное секвенирование также используется для диагностики коинфекций, в частности, вызванных респираторными вирусами [19]. По данным метаанализа, применение mNGS с целью поиска возбудителей менингоэнцефалита продемонстрировало более высокую обобщенную чувствительность, по сравнению со стандартными микробиологическими тестами (70 % против 37 %), при сопоставимой обобщенной специфичности (93 % против 95 %) [20].

Несмотря на уникальные преимущества, этот метод является весьма дорогим, сложным в пробоподготовке и биоинформатической обработке данных, а также крайне требовательным к наличию специализированного оборудования и вычислительных мощностей. Последние два требования связаны как с огромным объемом данных, необходимых для полноценного анализа, так и с тем, что в данных секвенирования в значительном количестве будут присутствовать прочтения непатогенных микроорганизмов, а также самого человека. Основная задача биоинформатического этапа заключается в разработке такого программного конвейера для обработки данных, который был бы способен отличать прочтения патогенных и непатогенных организмов. С целью увеличения в данных доли прочтений соответствующих возбудителям инфекционных заболеваний на этапе пробоподготовки обычно проводят некоторые дополнительные манипуляции для обогащения последовательностей нуклеиновых кислот патогенов, например, осуществляют деплецию рРНК человека и бактерий [21,22].

При этом, хотя mNGS остается перспективным инструментом для решения задач, связанных с неясной этиологией болезни и с поиском широкого спектра патогенов, tNGS предлагает более компромиссное решение по времени и стоимости анализа в случае наличия клинической гипотезы [23,24]. Таргетные подходы предполагают предварительное обогащение последовательностей нуклеиновых кислот патогенов посредством ПЦР-амплификации или использования гибридационных зондов. Это позволяет существенно повысить долю прочтений патогена и вместе с тем минимизировать прочтения генома хозяина [24–26]. Таргетные подходы могут быть также использованы как для углубленного изучения одного патогена, так и для одновременной идентификации большого множества вирусов и бактерий [23,27]. Таргетный подход нацелен уже не на глубокую характеристику патогенов, а на выявление их максимально широкого спектра, и основан на создании мультиплексных амплификационных, или гибридационных панелей

(mp-tNGS) [15]. За прошедшие пару лет этот подход привлек к себе много внимания, а частота публикаций по этой тематике существенно возросла, и, вполне вероятно, в относительно скором будущем tNGS, если и не заменит полностью, то как минимум, станет важным дополнением к традиционным методам молекулярной диагностики.

Цель обзора – обобщение информации о таргетных подходах к секвенированию в области диагностики инфекционных заболеваний, а также демонстрация их преимуществ и ограничений, по сравнению как с традиционными методами, так и с метагеномным секвенированием. Также этот обзор призван привлечь внимание на перспективы внедрения tNGS в клиническую практику и систему геномного эпидемиологического надзора.

Методы таргетного секвенирования в диагностике инфекций tNGS на основе мультиплексной ПЦР (mp-tNGS)

Метод mp-tNGS (от англ. multiplex PCR-based tNGS) построен на создании панелей специфических праймеров, которые предназначены для амплификации фрагментов геномов патогенов и их использовании для обогащения целевых последовательностей нуклеиновых кислот перед секвенированием. Поскольку в основе данного подхода лежит использование специфических олигонуклеотидов, при секвенировании заметно снижается доля прочтений генома человека [28]. В результате для анализа одного клинического образца требуется существенно меньше прочтений, чем при mNGS, что позволяет увеличить число одновременно исследуемых образцов. Это благоприятно сказывается как на эффективности проводимого анализа, так и на его стоимости, которая гораздо ниже стоимости mNGS диагностики [29]. Кроме того, методы mp-tNGS демонстрируют высокий уровень аналитической чувствительности, сравнимый с ПЦР-тестами и обычно превосходящий mNGS [15,30]. При этом таргетное ампликонное секвенирование в рамках одного анализа может охватывать беспрецедентно широкий спектр патогенов, включая маркеры антимикробной резистентности [15,31]. Например, в недавних исследованиях представлены амплификационные панели, при помощи которых возможно обнаружить 198 и 256 различных патогенов в рамках одного анализа [15,31]. Продemonстрированная чувствительность методик, за некоторым исключением, составляла от нескольких сотен копий до нескольких десятков копий на миллилитр.

Кроме того, tNGS методы на основе мультиплексной ПЦР могут быть использованы и для углубленного изучения генома патогена, что подразумевает получение его полной нуклеотидной последовательности или наиболее значимых генов, влияющих на вирулентность. Наиболее ярким примером использования mp-tNGS подхода является применение мультиплексных амплификационных панелей праймеров для секвенирования полного

генома вируса SARS-CoV-2. Так, в период пандемии COVID-19 были разработаны многочисленные коммерческие решения для быстрой и сравнительно дешевой реконструкции генома этого вируса, что позволило оперативно отслеживать возникновение и распространение новых геновариантов [32].

Однако таргетное ампликонное секвенирование хотя и превосходит традиционные молекулярные методы по своей чувствительности, информативности и спектру выявляемых патогенов, но и оно не лишено ограничений. Несмотря на то, что mp-tNGS способен выявлять действительно широкий спектр патогенов в рамках одного анализа, количество праймеров, находящихся в одной реакции, ограничено ввиду рисков их димеризации. Важно отметить, что максимальное количество праймеров, которое удавалось объединить в одной реакции все еще велико и составляет порядка 384 пар олигонуклеотидов (768 праймеров), чего достаточно для охвата богатого спектра патогенов и различных маркеров антимикробной резистентности [33]. Вместе с тем такие методы чувствительны к мутациям в сайтах связывания праймеров с матрицей, так как их наличие снижает эффективность ПЦР [25]. Поэтому, при создании диагностических mp-tNGS панелей в качестве мишеней для праймеров предпочтительнее подбирать наиболее консервативные участки геномов патогенов. Кроме того, полимеразы, используемые в ПЦР, могут вносить ошибки в синтезируемую цепь ДНК. В свою очередь, это может сказаться на достоверности выявления редких генетических вариаций в геноме вируса [25]. Последний, но немаловажный недостаток mp-tNGS заключается в высоком риске кросс-контаминации ампликонами из разных образцов и контаминации ампликонами из окружающей среды, что затрудняет получение корректного результата анализа [34]. Хотя полностью предотвратить контаминацию достаточно сложно, ряд таких мер, как разделение зон пробоподготовки, введение ДНК спайк-инов в образцы и внедрение системы dUTP/UDG, могут существенно снизить ее уровень [34].

Гибридизационные панели (hc-tNGS)

Альтернативой mp-tNGS является метод hc-tNGS, построенный на использовании гибридизационных зондов, которые специфично связывают целевые ДНК-библиотеки. Принципиальная схема данного метода включает первичную подготовку ДНК-библиотек из совокупных нуклеиновых кислот, экстрагированных из образца, и проведение реакции гибридизации с использованием зондов, иммобилизованных на твердой фазе (прим. – магнитные частицы, покрытые стрептавидином). В настоящее время наиболее широко распространена технология гибридизации в растворе. Так, в ходе реакции гибридизации биотинилированные зонды специфично связывают целевые последовательности ДНК, после чего связанные ДНК-библиотеки очищаются от остальных нуклеиновых кислот и ком-

понентов реакционной смеси с использованием магнитных частиц, покрытых стрептавидином. Впоследствии производится лигирование специфичного для секвенатора адаптера и небольшое количество циклов ПЦР для обогащения ДНК-библиотек [13].

В сравнении с mp-tNGS, подход на основе гибридизации позволяет охватить значительно более широкий спектр патогенов в рамках одного анализа. Так, количество мишеней для hc-tNGS может достигать нескольких тысяч [15]. К тому же этот метод имеет большую толерантность, по отношению к несовпадениям между матрицей и зондом, поэтому он является более подходящим решением для задач, связанных с переменными участками геномов, что особенно характерно для вирусов [13, 25]. Вдобавок, в отличие от мультиплексной ПЦР, реакцию гибридизации с перекрывающимися зондами для покрытия всего генома патогена можно проводить в одной пробирке [13].

Однако, если для создания mp-tNGS панелей требуется знать только последовательности, фланкирующие целевой участок генома, то для проектирования зондов необходимо иметь и внутреннюю последовательность нуклеотидов [13]. К тому же стоимость проведения диагностики с использованием hc-tNGS остается высокой, по сравнению с mp-tNGS, а процесс пробоподготовки занимает больше времени [35].

Примеры клинического применения tNGS

Основное внимание в настоящем обзоре уделено таргетному секвенированию в диагностике респираторных инфекций, которые, как отмечалось выше, являются значительной проблемой для здравоохранения в мире. В этом разделе мы также затронем и диагностику иных инфекций для более яркой демонстрации возможностей tNGS.

Молекулярный мониторинг SARS-CoV-2

Таргетное секвенирование начало массово применяться в период пандемии COVID-19 и стало основным инструментом геномного надзора во всем мире, оставаясь таковым по сегодняшний день. Такие mp-tNGS методы, как ARTIC (ARTIC Network), объединенный с Oxford Nanopore Technologies (Великобритания), и CleanPlex (Paragon Genomics, США), позволили анализировать геномы из сотен образцов за минимальное время, обеспечивая тем самым своевременное выявление новых геновариантов и проведение мониторинга циркулирующих вариантов вируса [36,37]. Наравне с ампликонными подходами в период пандемии также активно применялись и hc-tNGS методы. Такие гибридизационные панели как Respiratory Virus Oligo Panel (RVOP) (Illumina, США), позволяли реконструировать полную последовательность генома вируса SARS-CoV-2, тогда как амплификационные панели делали невозможной реконструкцию его концов. К тому же, благодаря использованию hc-tNGS,

удавалось достигать равномерного покрытия всех участков генома при секвенировании. Однако mp-tNGS подходы обеспечивали более высокую степень покрытия генома при работе с образцами, имевшими низкую вирусную нагрузку (при Ct \geq 25: 92,0 % для RVOP против 99,6 % – 99,7 % ARTIC и CleanPlex соответственно) [36]. В то же время методы, основанные на ПЦР-обогащении, являются крайне уязвимыми к мутациям и делециям в областях связывания праймеров с матрицей. Так, их наличие могло приводить к «выпадению» (dropout) целого ампликона. Например, ввиду возникшей у геноварианта Delta делеции в области 22029–22034, мог быть утерян целый ампликон [38]. Несмотря на толерантность hc-tNGS панелей к геномным перестройкам, они чаще связывают нецелевые фрагменты ДНК, что сказывается на количестве целевых прочтений [39].

Сложно делать однозначные выводы касательно превосходства того или другого tNGS подхода, так как каждый из них имеет свои сильные стороны. Например, при сравнении гибридационного и ампликонного подходов в контексте эпидемиологического мониторинга важно учитывать, что, хотя mp-tNGS показал себя как более чувствительный метод, требующий меньшего количества стартового материала (нуклеиновых кислот вируса), hc-tNGS панели были способны одновременно обогатить не только нуклеиновые кислоты вируса SARS-CoV-2, но и ряда других вирусов. В то же время амплификационные панели, использовавшиеся в исследованиях для сравнения, были специфичны только для вируса SARS-CoV-2. Поэтому на практике наиболее оптимальной стратегией становится комбинация методов: ампликонного – для рутинного мониторинга и гибридационного – для расширенного анализа, например, в случаях, когда наблюдается «выпадение» некоторых ампликонов.

Диагностика респираторных инфекций

С 2025 г. таргетное секвенирование уже предлагается использовать не только в качестве метода исследования изменчивости вирусов, как в период пандемии COVID-19, но и как инструмент диагностики многочисленных инфекционных заболеваний. Это направление подразумевает создание как амплификационных, так и гибридационных панелей для выявления максимально широкого спектра возбудителей в рамках одного анализа. В их основе лежит уже не глубинный анализ геномной последовательности патогена, а, как уже указывалось выше, его идентификация, иногда включающая и обнаружение маркеров антимикробной резистентности.

На основе этой концепции, в рамках единой исследовательской работы, было создано два tNGS подхода:

1) mp-tNGS панель для выявления 198 патогенных мишеней, встречающихся в клинической практике;

2) hc-tNGS панель для обнаружения генов: видо-специфичности, вирулентности, ассоциированных с антимикробной резистентностью и консервативных генов для 3060 патогенных микроорганизмов [15].

Отмечается, что такой всеобъемлющий анализ может быть осуществлен в течение 10,3 часов при использовании mp-tNGS и 16 часов – hc-tNGS, что уже сравнимо с традиционными молекулярными методами диагностики. Оба подхода продемонстрировали довольно высокий уровень аналитической чувствительности (LoD), сравнимый с ПЦР-тестами (50–450 копий/мл) [15,40]. К тому же разработанные mp-tNGS и hc-tNGS методы показали высокую диагностическую точность: по сравнению с композитным референсным стандартом их чувствительность составила 86,5 % и 87,3 % соответственно, а специфичность – 90 % и 88 %. Было показано, что эти методы чаще выявляют возбудителей заболеваний, в сравнении с культуральными методами, однако они немного уступают mNGS. Также исследование продемонстрировало, что tNGS позволяет корректно идентифицировать организмы с высокой степенью филогенетического родства, находящиеся в одном образце. Однако при таких условиях mp-tNGS оказался более точным среди использованных методов [15].

Другая исследовательская группа проводила лабораторную валидацию mp-tNGS панели для идентификации 296 распространенных вирусов и других микроорганизмов, включая бактерии и грибы. Результаты работы показали, что чувствительность и специфичность mp-tNGS относительно композитного референсного стандарта составили 84,38 % и 91,67 % соответственно. Однако tNGS подход продемонстрировал несколько более широкий диапазон расчетной аналитической чувствительности (24,07 – 2584,63 копии/мл), по сравнению с предыдущим исследованием [31]. Время анализа с использованием такой панели составило порядка 16 часов, что превосходит скорость микробиологических методов и, как отмечалось ранее, уже сравнивается с ПЦР-тестами.

В ряде исследований, проводивших сравнение аналитических качеств mp-tNGS и mNGS, подчеркивается незначительная разница в частоте обнаружения патогенов между методами [30,41]. При этом отмечается, что mp-tNGS лучше подходит для обнаружения ДНК-вирусов, а mNGS чаще способен выявить патогенные грибки [30].

По большей части результаты, полученные с использованием обоих tNGS подходов, согласуются, а разница в их диагностическом потенциале не столь велика. Существенное различие между mp-tNGS и hc-tNGS вносит лишь спектр идентифицируемых ими мишеней и требования к минимальному количеству прочтений для анализа каждого образца. Так, mp-tNGS является более прагматичным вариантом для небольших лабораторий, сочетая в себе относительную дешевизну анализа большо-

го количества образцов и простую пробоподготовку. Между тем, в сравнении с *hc-tNGS*, количество его мишеней сильно ограничено ввиду сложностей мультиплексирования праймеров и оптимизации условий ПЦР. В целом, *tNGS* подходы предлагают сбалансированное решение, сочетающее скорость и масштабы анализа. Такие технологии уже сейчас представляют собой полезный инструмент, способный прояснить клиническую картину заболевания.

Диагностика ЦНС-инфекций

Диагностика при помощи *tNGS* не ограничивается одними лишь ОРИ. Инфекционные заболевания центральной нервной системы (ЦНС) представляют большую проблему во всем мире. По оценкам исследователей, в 2019 г. от менингита и энцефалита в мире умерло 236 000 и 89 000 людей соответственно [42]. При инфекции ЦНС крайне важно быстро и точно определить возбудителя заболевания для своевременного назначения терапии. К сожалению, примерно в 50 % случаев этиологию менингита и энцефалита установить не удается [43,44].

В работе по изучению эффективности диагностики ЦНС-инфекций у детей, перенесших черепно-мозговую травму или хирургическое вмешательство, был проведен сравнительный анализ *tNGS* и традиционных методов, таких как культуральное исследование и микроскопия мазков спинномозговой жидкости. Было показано, что чувствительность *tNGS* выше, чем у традиционных методов (81.8 % и 13.6 % соответственно), однако специфичность оказалась ниже (76.9 % и 100 %) [45].

Туберкулезный менингит относится к числу самых опасных для жизни проявлений туберкулеза. В 2023 г. ВОЗ официально рекомендовала к применению *tNGS* для определения лекарственной устойчивости к противотуберкулезным препаратам. В исследовании 2024 г., включавшем 72 пациента с микробиологически подтвержденным туберкулезным менингитом, секвенирование с использованием панели *Deeplex Muc-TB* позволило найти ДНК *Mycobacterium tuberculosis* в 24 пробах (33,3 % от общего числа), в 22 из которых удалось получить полные профили лекарственной устойчивости к 13 препаратам [46]. Авторы работы отмечают, что метод продемонстрировал хорошую сопоставимость с фенотипическим тестированием лекарственной чувствительности и способен обеспечить результаты в более короткое время, однако плохо применим для образцов с низкой бактериальной нагрузкой.

Биоинформатический анализ данных *tNGS/mNGS*

Одним из критически важных этапов любого исследования с использованием технологий *NGS* является тщательный анализ данных секвенирования. Параметры чувствительности и специфичности *tNGS* и *mNGS* значительно зависят, среди прочего, от качества работы вычислительного (био-

информатического) конвейера. Первичная обработка данных включает контроль качества «сырых» (т.е. полученных непосредственно с прибора до обработки) прочтений и удаление адаптеров/служебных последовательностей (*Trimmomatic*), удаление прочтений хозяина путем картирования на референсный геном (*bowtie2*), а при наличии перекрывающихся парных прочтений – объединение пар (*BBMerge*) [47–49]. При анализе ампликонных данных дополнительно требуется удаление последовательностей праймеров. Для коротких ампликонов значительная доля прочтений может приходиться на ПЦР-дубликаты, поэтому их кластеризация (напр., *CD-HIT-EST*) позволяет существенно ускорить последующую обработку без заметной потери информативности [52]. На завершающем этапе применяются высокоточные таксономические классификаторы, которые условно делят на две группы. Первая – методы, основанные на анализе *kmer*'ов (например, *Kraken2*), отличающиеся высокой скоростью [51]. Вторая – методы, использующие выравнивание последовательностей нуклеиновых кислот и/или белков (например, *DIAMOND*, который предназначен для быстрого поиска по базе аминокислотных последовательностей) [52]. Инструменты из второй группы медленнее, но часто лучше обнаруживают отдаленную гомологию (особенно при поиске на уровне белков).

Как правило, в одном запуске секвенируется множество образцов (от десятков до нескольких сотен), что делает кросс-контаминацию существенной методологической проблемой, особенно при использовании предварительной амплификации, например, при *mp-tNGS*. Поскольку исходная концентрация ДНК/РНК различных возбудителей инфекционных заболеваний может различаться между образцами на несколько порядков, один и тот же патоген нередко представлен в разных пробах сотнями тысяч или даже миллионами прочтений. Вследствие контаминации существует вероятность обнаружить такой патоген в заметных количествах и в других образцах, где он физически отсутствовал. Это повышает риск ложноположительных результатов и требует внедрения процедур постобработки и фильтрации. Один из возможных подходов для борьбы с межобразцовой контаминацией – адаптивная пороговая фильтрация: для каждого патогена в данной панели суммируют число прочтений по всем образцам запуска (прогона секвенатора) и вычисляют индивидуальный порог (например, 0,1–1 % от этой суммы). Сигналы ниже порога в конкретных образцах интерпретируются как вероятная контаминация. Кроме того, может помочь использование уникальных идентификаторов, находящихся на 5'-конце праймеров (штрих-коды/тэги). Их применение позволяет на этапе биоинформатического анализа выявлять «перескок» ампликонов и отличать истинное присутствие патогена в образце от межобразцовой

контаминации. Однако при таком подходе возрастает стоимость изготовления праймеров за счет увеличения длины синтезируемой последовательности (праймер + тэг).

Подбор и валидация праймеров для мультиплексного tNGS

Использование мультиплексных таргетных панелей накладывает строгие требования к праймерам: помимо специфичности к мишени, оптимальной длины и GC-состава, необходимо, чтобы все праймеры работали при сопоставимой температуре отжига (T_m) и не образовывали существенно-го числа праймер-праймерных димеров и шпилек [53]. Чем больше праймеров в панели и чем они длиннее, тем выше риск димеризации, что приводит к повышенному расходу реагентов и снижению эффективности выявления патогенов. В таком случае применяют разбивку праймерного набора на несколько непересекающихся пулов. Температуры отжига праймеров в пуле не должны сильно отличаться, желательно, чтобы максимальное отличие было не более 5 °C. Длину ампликонов также выбирают приблизительно в одном диапазоне (около 150–200 пар оснований для секвенаторов Illumina и аналогов). Важно, чтобы праймеры были специфичны и не отжигались на нецелевых последовательностях, таких как геном человека или микробиоты. Для проверки специфичности праймеров одним из популярных он-лайн инструментов является Primer-BLAST [54].

В последние годы для решения проблемы образования большого количества димеров было предложено множество инструментов, таких как PrimerSuite и NGS-PrimerPlex, а в 2022 г. был опубликован метод SADDLE на основе алгоритма имитации отжига, который позволил создать панель для одновременной амплификации 96 участков ДНК в одной реакции [33,55,56].

Заключение

Развитие технологий секвенирования нового поколения в настоящее время меняет подход к диагностике инфекционных заболеваний, делая возможным одновременный анализ широкого спектра патогенов и ассоциированных с ними маркеров вирулентности и антимикробной резистентности. Метагеномное секвенирование заняло особое место как универсальный инструмент, позволяющий выявлять возбудители, ранее не описанные или неожиданные, а также обнаруживать коинфицирование, в том числе при тяжелых и жизнеугрожающих состояниях. Однако высокая стоимость, сложность пробоподготовки и значительные требования к биоинформатической обработке пока сильно ограничивают внедрение mNGS в рутинную клиническую практику. На этом фоне таргетное секвенирование (tNGS), включающее мультиплексную ПЦР (mp-tNGS) и гибридизацион-

ный захват (hc-tNGS), представляется более прагматичным и технологически управляемым решением для клинической диагностики. Mp-tNGS-подходы обеспечивают чувствительность, сопоставимую с ПЦР, при существенном расширении спектра детектируемых патогенов и маркеров, а hc-tNGS позволяет масштабировать число мишеней до нескольких сотен и даже тысяч, а также лучше работать с переменными геномными участками. Уже сейчас tNGS демонстрирует высокую эффективность при диагностике респираторных заболеваний, ЦНС-инфекций и туберкулезного менингита, а также при определении профилей лекарственной устойчивости [45,57–60]. Ожидается, что, по мере удешевления секвенирования, унификации панелей и накопления клинического опыта, tNGS будет все активнее интегрироваться в рутинную работу клинических лабораторий [25].

Ключевыми направлениями дальнейшего развития являются стандартизация и автоматизация протоколов пробоподготовки, оптимизация и валидация биоинформатических конвейеров, а также повышение качества референсных баз данных. Не менее важно внедрение эффективных процедур контроля и учета контаминации, использование уникальных молекулярных идентификаторов, разработка общепринятых порогов интерпретации результатов и формирование согласованных клинико-лабораторных рекомендаций. Существенный вклад в повышение клинической значимости NGS-диагностики внесут методы машинного обучения и экспертные системы, способные автоматически интегрировать данные секвенирования с клинической картиной и результатами лабораторных анализов.

NGS-технологии имеют все предпосылки для того, чтобы в обозримом будущем стать одним из важных инструментов молекулярной диагностики. Их применение позволит не только ускорять и удешевлять диагностику, особенно для сложных клинических случаев, но и проводить персонализированный подбор терапии с учетом молекулярных характеристик возбудителя. Более того, данные технологии значительно повышают эффективность контроля за эпидемиологической ситуацией, так как они упрощают проведение массового мониторинга распространения более контагиозных или резистентных к препаратам штаммов, что способствует оперативному реагированию в ответ на появление новых угроз. В совокупности это открывает возможности для перехода от фрагментарной, ориентированной на ограниченный набор патогенов диагностики к более целостной, системной модели управления инфекционной заболеваемостью, как на уровне отдельного пациента, так и на популяционном уровне.

Исследование выполнено при поддержке гранта Центрального научно-исследовательского института Эпидемиологии Роспотребнадзора (ЕГИСУ НИОКТР №125012900979-9).

Литература

1. Li Z.-J., Zhang H.-Y., Ren L.-L., et al. Etiological and epidemiological features of acute respiratory infections in China. *Nat Commun.* 2021. T. 12, № 1. C. 5026.
2. Bender R. G., Sirota S. B., Swetschinski L. R., et al. Global, regional, and national incidence and mortality burden of non-COVID-19 lower respiratory infections and aetiologies, 1990–2021: a systematic analysis from the Global Burden of Disease Study 2021. *The Lancet Infectious Diseases.* 2024. T. 24, № 9. C. 974–1002.
3. Mahony J. B. Detection of Respiratory Viruses by Molecular Methods. *Clin Microbiol Rev.* 2008. T. 21, № 4. C. 716–747.
4. Rousogianni E., Perlepe G., Boutlas S., et al. Clinical features and outcomes of viral respiratory infections in adults during the 2023–2024 winter season. *Sci Rep.* 2025. T. 15, № 1. C. 35800.
5. Ginocchio C. C., McAdam A. J. Current Best Practices for Respiratory Virus Testing. *J Clin Microbiol.* 2011. T. 49, № 9_Supplement.
6. Wang X., Li Y., Deloria-Knoll M., et al. Global burden of acute lower respiratory infection associated with human parainfluenza virus in children younger than 5 years for 2018: a systematic review and meta-analysis. *The Lancet Global Health.* 2021. T. 9, № 8. C. e1077–e1087.
7. Wang X., Li Y., Deloria-Knoll M., et al. Global burden of acute lower respiratory infection associated with human metapneumovirus in children under 5 years in 2018: a systematic review and modelling study. *The Lancet Global Health.* 2021. T. 9, № 1. C. e33–e43.
8. Babawale P. I., Guerrero-Plata A. Respiratory Viral Coinfections: Insights into Epidemiology, Immune Response, Pathology, and Clinical Outcomes. *Pathogens.* 2024. T. 13, № 4. C. 316.
9. Yang S., Rothman R. E. PCR-based diagnostics for infectious diseases: uses, limitations, and future applications in acute-care settings. *The Lancet Infectious Diseases.* 2004. T. 4, № 6. C. 337–348.
10. Amat J. A. R., Dudgeon S. N., Cheemarla N. R., et al. Nasal biomarker testing to rule out viral respiratory infection and triage samples: a test performance study. *eBioMedicine.* 2025. T. 117. C. 105820.
11. Mamanova L., Coffey A. J., Scott C. E., et al. Target-enrichment strategies for next-generation sequencing. *Nat Methods.* 2010. T. 7, № 2. C. 111–118.
12. Nafea A. M., Wang Y., Wang D., et al. Application of next-generation sequencing to identify different pathogens. *Front. Microbiol.* 2024. T. 14. C. 1329330.
13. Houldcroft C. J., Beale M. A., Breuer J. Clinical and biological insights from viral genome sequencing. *Nat Rev Microbiol.* 2017. T. 15, № 3. C. 183–192.
14. Li N., Cai Q., Miao Q., et al. High-Throughput Metagenomics for Identification of Pathogens in the Clinical Settings. *Small Methods.* 2021. T. 5, № 1. C. 2000792.
15. Yin Y., Zhu P., Guo Y., et al. Enhancing lower respiratory tract infection diagnosis: implementation and clinical assessment of multiplex PCR-based and hybrid capture-based targeted next-generation sequencing. *eBioMedicine.* 2024. T. 107. C. 105307.
16. Gauthier N. P. G., Chorlton S. D., Kraiden M., et al. Agnostic Sequencing for Detection of Viral Pathogens. *Clin Microbiol Rev.* 2023. T. 36, № 1. C. e00119–22.
17. He Y., Fang K., Shi X., et al. Enhanced DNA and RNA pathogen detection via metagenomic sequencing in patients with pneumonia. *J Transl Med.* 2022. T. 20, № 1. C. 195.
18. Tan J. K., Servellita V., Stryke D., et al. Laboratory validation of a clinical metagenomic next-generation sequencing assay for respiratory virus detection and discovery. *Nat Commun.* 2024. T. 15, № 1. C. 9016.
19. Li Y., Deng X., Hu F., et al. Metagenomic analysis identified co-infection with human rhinovirus C and bocavirus 1 in an adult suffering from severe pneumonia. *Journal of Infection.* 2018. T. 76, № 3. C. 311–313.
20. Marra P. S., Marra A. R., Chen E., et al. Metagenomic Next-generation Sequencing in Patients With Infectious Meningoencephalitis: A Comprehensive Systematic Literature Review and Meta-analysis. *Open Forum Infectious Diseases.* 2025. T. 12, № 5. C. ofaf274.
21. Wahl A., Huptas C., Neuhaus K. Comparison of rRNA depletion methods for efficient bacterial mRNA sequencing. *Sci Rep.* 2022. T. 12, № 1. C. 5765.
22. Kim M., Parrish R. C., Tisza M. J., et al. Host DNA depletion on frozen human respiratory samples enables successful metagenomic sequencing for microbiome studies. *Commun Biol.* 2024. T. 7, № 1. C. 1590.
23. Takemae N., Kuba Y., Oba K., et al. Direct genome sequencing of respiratory viruses from low viral load clinical specimens using the target capture sequencing technology. *Microbiol Spectr / nođ ped.* Liu B. M. 2024. T. 12, № 11. C. e00986–24.
24. Zhang P., Liu B., Zhang S., et al. Clinical application of targeted next-generation sequencing in severe pneumonia: a retrospective review. *Crit Care.* 2024. T. 28, № 1. C. 225.
25. Chen Q., Yi J., Liu Y., et al. Clinical diagnostic value of targeted next-generation sequencing for infectious diseases (Review). *Mol Med Rep.* 2024. T. 30, № 3. C. 153.
26. Ding Y., Jing C., Wei J., et al. Comparison of the diagnostic capabilities of tNGS and mNGS for pathogens causing lower respiratory tract infections: a prospective observational study. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2025. T. 15. C. 1578939.
27. Zhou B., Deng Y.-M., Barnes J. R., et al. Multiplex Reverse Transcription-PCR for Simultaneous Surveillance of Influenza A and B Viruses. *J Clin Microbiol / nođ ped.* McAdam A. J. 2017. T. 55, № 12. C. 3492–3501.
28. Huang C., Huang Y., Wang Z., et al. Multiplex PCR-based next generation sequencing as a novel, targeted and accurate molecular approach for periprosthetic joint infection diagnosis. *Front. Microbiol.* 2023. T. 14. C. 1181348.
29. Yang K., Zhao J., Wang T., et al. Clinical application of targeted next-generation sequencing in pneumonia diagnosis among cancer patients. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2025. T. 15. C. 1497198.
30. Sun W., Zheng L., Kang L., et al. Comparative analysis of metagenomic and targeted next-generation sequencing for pathogens diagnosis in bronchoalveolar lavage fluid specimens. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2024. T. 14. C. 1451440.
31. Yang J., Wang Y., Yang L., et al. Laboratory validation of targeted next-generation sequencing assay for pathogen detection in lower respiratory infection. *Microbiol Spectr / nođ ped.* Georghiou S. B. 2025. T. 13, № 7. C. e01751–24.
32. Liu T., Chen Z., Chen W., et al. A benchmarking study of SARS-CoV-2 whole-genome sequencing protocols using COVID-19 patient samples. *iScience.* 2021. T. 24, № 8. C. 102892.
33. Xie N. G., Wang M. X., Song P., et al. Designing highly multiplex PCR primer sets with Simulated Annealing Design using Dimer Likelihood Estimation (SADDLE). *Nat Commun.* 2022. T. 13, № 1. C. 1881.
34. Gao L., Li L., Fang B., et al. Carryover Contamination-Controlled Amplicon Sequencing Workflow for Accurate Qualitative and Quantitative Detection of Pathogens: a Case Study on SARS-CoV-2. *Microbiol Spectr / nođ ped.* Kibenge F. S. B. 2023. T. 11, № 3. C. e00206–23.
35. Chen W., Chen H., Liu Z., et al. A case report of confirmed difficult pulmonary tuberculosis based on the hybrid capture-based tNGS method. *BMC Pulm Med.* 2025. T. 25, № 1. C. 64.
36. Charre C., Ginevra C., Sabatier M., et al. Evaluation of NGS-based approaches for SARS-CoV-2 whole genome characterisation. *Virus Evolution.* 2020. T. 6, № 2. C. veaa075.
37. Itokawa K., Sekizuka T., Hashino M., et al. Disentangling primer interactions improves SARS-CoV-2 genome sequencing by multiplex tiling PCR. *PLoS ONE / nođ ped.* Kalendar R. 2020. T. 15, № 9. C. e0239403.
38. Daviña-Núñez C., Pérez S., Cabrera-Alvargonzález J. J., et al. Performance of amplicon and capture based next-generation sequencing approaches for the epidemiological surveillance of Omicron SARS-CoV-2 and other variants of concern. *PLoS ONE / nođ ped.* Tsang H. F. 2024. T. 19, № 4. C. e0289188.
39. Rehn A., Braun P., Knüpfer M., et al. Catching SARS-CoV-2 by Sequence Hybridization: a Comparative Analysis. *mSystems / nođ ped.* Mackelprang R. 2021. T. 6, № 4. C. 10.1128/mSystems.00392-21.
40. Barra G. B., Santa Rita T. H., Mesquita P. G., et al. Analytical Sensitivity and Specificity of Two RT-qPCR Protocols for SARS-CoV-2 Detection Performed in an Automated Workflow. *Genes.* 2020. T. 11, № 10. C. 1183.
41. Kuang Y., Tan W., Hu C., et al. Diagnostic value of targeted and metagenomic sequencing in respiratory tract infection. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2024. T. 14. C. 1498512.
42. Kwambana-Adams B. Global burden of meningitis and implications for strategy. *The Lancet Neurology.* 2023. T. 22, № 8. C. 646–648.
43. Bloch K. C., Glaser C. A. Encephalitis Surveillance through the Emerging Infections Program, 1997–2010. *Emerg. Infect. Dis.* 2015. T. 21, № 9.
44. Sulaiman T., Salazar L., Hasbun R. Acute versus subacute community-acquired meningitis: Analysis of 611 patients. *Medicine.* 2017. T. 96, № 36. C. e7984.
45. Li J., Zhang L., Yang X., et al. Diagnostic Significance of Targeted Next-Generation Sequencing in Central Nervous System Infections in Neurosurgery of Pediatrics. *IDR.* 2023. T. Volume 16. C. 2227–2236.
46. Tram T. T. B., Trieu L. P. T., Nhat L. T. H., et al. Targeted sequencing from cerebrospinal fluid for rapid identification of drug-resistant tuberculous meningitis. *J Clin Microbiol / nođ ped.* Turenne C. Y. 2024. T. 62, № 4. C. e01287–23.
47. Bolger A. M., Lohse M., Usadel B. Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data. *Bioinformatics.* 2014. T. 30, № 15. C. 2114–2120.
48. Langmead B., Salzberg S. L. Fast gapped-read alignment with Bowtie 2. *Nat Methods.* 2012. T. 9, № 4. C. 357–359.
49. Bushnell B., Rood J., Singer E. BBMerge – Accurate paired shotgun read merging via overlap. *PLoS ONE / nođ ped.* Biggs P. J. 2017. T. 12, № 10. C. e0185056.
50. Fu L., Niu B., Zhu Z., et al. CD-HIT: accelerated for clustering the next-generation sequencing data. *Bioinformatics.* 2012. T. 28, № 23. C. 3150–3152.
51. Wood D. E., Lu J., Langmead B. Improved metagenomic analysis with Kraken 2. *Genome Biol.* 2019. T. 20, № 1. C. 257.
52. Buchfink B., Xie C., Huson D. H. Fast and sensitive protein alignment using DIAMOND. *Nat Methods.* 2015. T. 12, № 1. C. 59–60.
53. Shen Z., Qu W., Wang W., et al. MPrimer: a program for reliable multiplex PCR primer design. *BMC Bioinformatics.* 2010. T. 11, № 1. C. 143.
54. Ye J., Coulouris G., Zaretskaya I., et al. Primer-BLAST: A tool to design target-specific primers for polymerase chain reaction. *BMC Bioinformatics.* 2012. T. 13, № 1. C. 134.
55. Lu J., Johnston A., Berichon P., et al. PrimerSuite: A High-Throughput Web-Based Primer Design Program for Multiplex Bisulfite PCR. *Sci Rep.* 2017. T. 7, № 1. C. 41328.
56. Kechin A., Borobova V., Boyarskikh U., et al. NGS-PrimerPlex: High-throughput primer design for multiplex polymerase chain reactions. *PLoS Comput Biol / nođ ped.* Pertea M. 2020. T. 16, № 12. C. e1008468.
57. Yang F., Jiang L., Cao Q., et al. Evaluation of targeted next-generation sequencing for microbiological diagnosis of acute lower respiratory infection. *Front. Microbiol.* 2025. T. 16. C. 1615965.

46. Tram TTB, Trieu LPT, Nhat LTH, et al. Targeted sequencing from cerebrospinal fluid for rapid identification of drug-resistant tuberculous meningitis. *Turenne CY, ed. J Clin Microbiol.* 2024;62(4):e01287–23. doi:10.1128/jcm.01287-23
47. Bolger AM, Lohse M, Usadel B. Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data. *Bioinformatics.* 2014;30(15):2114–2120. doi:10.1093/bioinformatics/btu170
48. Langmead B, Salzberg SL. Fast gapped-read alignment with Bowtie 2. *Nat Methods.* 2012;9(4):357–359. doi:10.1038/nmeth.1923
49. Bushnell B, Rood J, Singer E. BBMerge – Accurate paired shotgun read merging via overlap. *Biggs PJ, ed. PLoS ONE.* 2017;12(10):e0185056. doi:10.1371/journal.pone.0185056
50. Fu L, Niu B, Zhu Z, Wu S, Li W. CD-HIT: accelerated for clustering the next-generation sequencing data. *Bioinformatics.* 2012;28(23):3150–3152. doi:10.1093/bioinformatics/bts565
51. Wood DE, Lu J, Langmead B. Improved metagenomic analysis with Kraken 2. *Genome Biol.* 2019;20(1):257. doi:10.1186/s13059-019-1891-0
52. Buchfink B, Xie C, Huson DH. Fast and sensitive protein alignment using DIAMOND. *Nat Methods.* 2015;12(1):59–60. doi:10.1038/nmeth.3176
53. Shen Z, Qu W, Wang W, et al. MPPrimer: a program for reliable multiplex PCR primer design. *BMC Bioinformatics.* 2010;11(1):143. doi:10.1186/1471-2105-11-143
54. Ye J, Coulouris G, Zaretskaya I, Cutcutache I, Rozen S, Madden TL. Primer-BLAST: A tool to design target-specific primers for polymerase chain reaction. *BMC Bioinformatics.* 2012;13(1):134. doi:10.1186/1471-2105-13-134
55. Lu J, Johnston A, Berichon P, Ru K Lin, Korbie D, Trau M. PrimerSuite: A High-Throughput Web-Based Primer Design Program for Multiplex Bisulfite PCR. *Sci Rep.* 2017;7(1):41328. doi:10.1038/srep41328
56. Kechin A, Borobova V, Boyarskikh U, Khrapov E, Subbotin S, Filipenko M. NGS-PrimerPlex: High-throughput primer design for multiplex polymerase chain reactions. *Pereta M, ed. PLoS Comput Biol.* 2020;16(12):e1008468. doi:10.1371/journal.pcbi.1008468
57. Yang F, Jiang L, Cao Q, Yi M, Zhao Q. Evaluation of targeted next-generation sequencing for microbiological diagnosis of acute lower respiratory infection. *Front Microbiol.* 2025;16:1615965. doi:10.3389/fmicb.2025.1615965
58. Chen W, Liu G, Cui L, et al. Evaluation of metagenomic and pathogen-targeted next-generation sequencing for diagnosis of meningitis and encephalitis in adults: A multicenter prospective observational cohort study in China. *Journal of Infection.* 2024;88(5):106143. doi:10.1016/j.jinf.2024.106143
59. Kambli P, Ajbani K, Andrews AA, et al. Targeted Next Generation Sequencing (tNGS) for detection of drug-resistant tuberculous meningitis: Is this sequencing technology ready for prime time? *Indian Journal of Medical Microbiology.* 2024;51:100665. doi:10.1016/j.ijmm.2024.100665
60. Patil S, Wen F, Hanafiah A, Halami PM. Editorial: Targeted next-generation sequencing for pathogen and antimicrobial resistance (AMR) identification and profiling. *Front Cell Infect Microbiol.* 2025;15:1633941. doi:10.3389/fcimb.2025.1633941

Об авторах

- **Максим Игоревич Надтока** – научный сотрудник, ФБУН «Центральный НИИ Эпидемиологии» Роспотребнадзора. +7 (916)080-97-50, nadтока@cmd.su. <https://orcid.org/0009-0002-3217-0963>.
- **Герман Викторович Роев** – биоинформатик, ФБУН «Центральный НИИ Эпидемиологии» Роспотребнадзора; аспирант ФГАОУ ВО «Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет)». +7 (925) 440-35-50, roev@cmd.su. <https://orcid.org/0000-0002-2353-5222>.
- **Камиль Фаридович Хафизов** – заведующий лабораторией, ФБУН «Центральный НИИ Эпидемиологии» Роспотребнадзора. +7 (917) 597-20-85, khafizov@cmd.su. <https://orcid.org/0000-0001-5524-0296>.
- **Василий Геннадьевич Акимкин** – директор, ФБУН «Центральный НИИ Эпидемиологии» Роспотребнадзора. Vgakimkin@yandex.ru. <https://orcid.org/0000-0003-4228-9044>.

Поступила: 04.12.25. Принята к печати: 13.01.2026.

Контент доступен под лицензией CC BY 4.0.

About the Authors

- **Maksim Ig. Nadtoka** – Research associate, FBSI Central Research Institute of Epidemiology of Rosпотребнадzor. +7 (916)080-97-50, nadtoka@cmd.su. <https://orcid.org/0009-0002-3217-0963>.
- **German V. Roev** – Bioinformatician, FBSI Central Research Institute of Epidemiology of Rosпотребнадzor; Postgraduate, Moscow Institute of Physics and Technology (National Research University), Russian Federation. +7 (925) 440-35-50, roev@cmd.su. <https://orcid.org/0000-0002-2353-5222>.
- **Kamil F. Khafizov** – Head of the laboratory, FBSI Central Research Institute of Epidemiology of Rosпотребнадzor. +7 (917) 597-20-85, khafizov@cmd.su. <https://orcid.org/0000-0001-5524-0296>.
- **Vasily G. Akimkin** – Director, FBSI Central Research Institute of Epidemiology of Rosпотребнадzor. Vgakimkin@yandex.ru. <https://orcid.org/0000-0003-4228-9044>.

Received: 04.12.25. Accepted: 13.01.2026.

Creative Commons Attribution CC BY 4.0.