World Health Organization
European Region

Unitaid
SAVE LIVES FASTER

KNCV TB PLUS

MEDECINS SANS FRONTIERES

РЕГИОНАЛЬНЫЙ СЕМИНАР ПО ВОПРОСУ УСКОРЕННОГО ВНЕДРЕНИЯ
РУКОВОДСТВА ВОЗ ПО ПРОФИЛАКТИКЕ И ДИАГНОСТИКЕ ТУБЕРКУЛЕЗА И ЛЕЧЕНИЮ ТУБЕРКУЛЕЗА С ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТЬЮ (ЛУ-ТБ)

REGIONAL WORKSHOP ON ACCELERATED IMPLEMENTATION OF WHO GUIDELINES
ON TB PREVENTION, DIAGNOSIS, AND DRUG-RESISTANT TB (DR-TB) TREATMENT

Изменения в стратегии ВОЗ: целевое секвенирование нового поколения

Комплексные решения для выявления ЛУ-ТБ

Семинар ЕРБ ВОЗ по планированию ускоренной реализации новых стратегий ВОЗ

Алматы, 28-30 апреля 2025 г.

Patricia Hall-Eidson
Alexei Korobitsyn

Группа по диагностике,
Глобальная программа по борьбе с ТБ

World Health Organization

План презентации

- Секвенирование нового поколения
- Рекомендации ВОЗ по использованию целевого секвенирования нового поколения (цСНП) для эпиднадзора
- Недавняя и готовящаяся к принятию стратегии ВОЗ по использованию цСНП для клинического ведения пациентов
- Следующие шаги и ресурсы

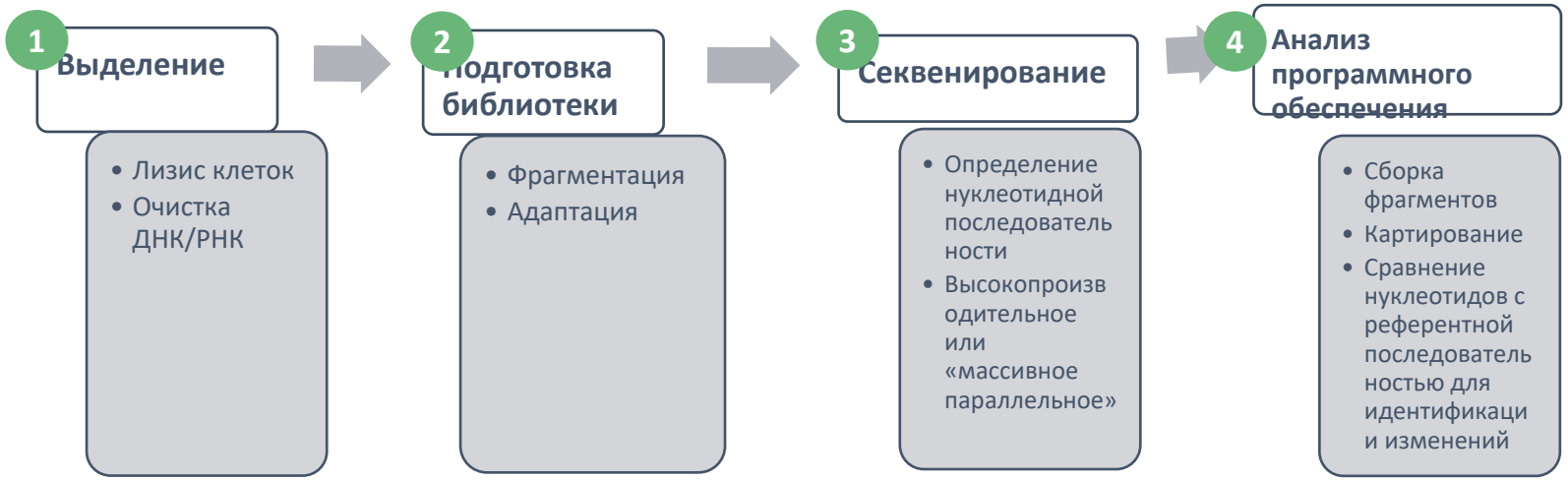
Секвенирование нового поколения

Обзор

Секвенирование нового поколения (СНП): обзор

Секвенирование *– это лабораторная процедура, которая определяет последовательность нуклеотидов в геноме (РНК или ДНК) организма.*

Секвенирование нового поколения *– это высокопроизводительный метод секвенирования, используемый для определения нуклеотидной последовательности генома в одной биохимической реакции.*

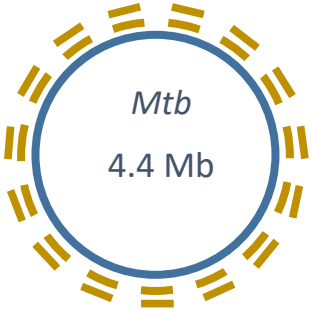


Полногеномное и целевое СНП

Полногеномное секвенирование (ПГС)

- Исследует весь геном
- Наиболее комплексный подход
- Меньшая глубина (меньше прочтений в каждой точке генома)
- Требуется культура ТБ, что приводит к более длительному сроку выполнения
- Больше данных, что позволяет проводить более полное сравнение штаммов, полезных для целей эпиднадзора

Целевое СНП

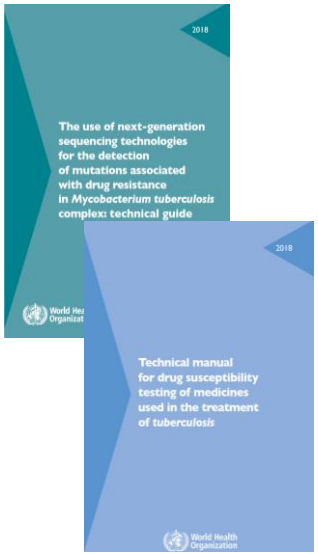


- Нацелено на определенные области генома, которые содержат мутации, связанные с ЛУ-ТБ
- Можно адаптировать к новым генам путем добавления новых праймеров
- Большая глубина (больше прочтений в каждой точке генома)
- Более быстрое время выполнения с использованием первичных клинических образцов (мокроты), полезных для целей клинической помощи
- Меньше данных, что уменьшает объем необходимого хранилища и аналитической емкости

Рекомендации ВОЗ по СНП

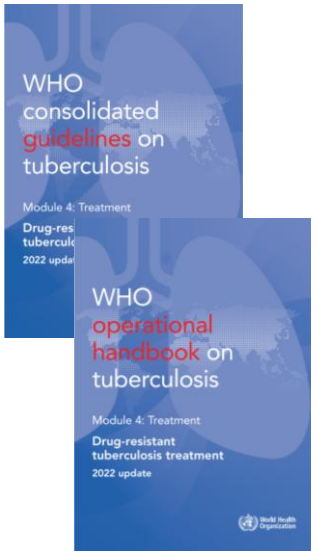
Хронология выхода публикаций ВОЗ, относящихся к СНП

2018



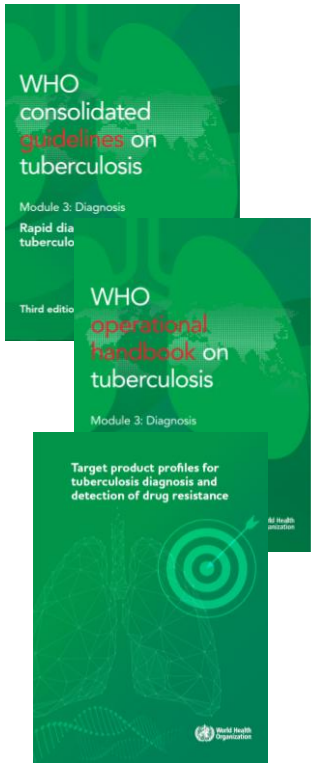
2021

2022



2023

2024



World Health Organization

Рекомендации ВОЗ по использованию целевого СНП (цСНП) для диагностики лекарственно-устойчивого туберкулеза

Рекомендации по использованию целевого СНП

Contents

Acknowledgements vii
Abbreviations and acronyms xvii
Definitions xix
Executive summary xx
1. Introduction 1
1.1 Background 1
1.2 Scope of the document 4
1.3 Target audience 4
2. Recommendations 5
2.1 Initial diagnostic tests for diagnosis of TB with drug-resistance detection 5
Xpert MTB/RIF and Xpert MTB/RIF Ultra assays 5
Truenat MTB, MTB Plus and MTB-RIF Dx assays 43
Moderate complexity automated NAATs for detection of TB and resistance to rifampicin and isoniazid 50
2.2. Initial diagnostic tests for diagnosis of TB without drug-resistance detection 67
Loop-mediated isothermal amplification 67
Lateral flow urine lipoarabinomannan assay 74
2.3 Follow-on diagnostic tests for detection of additional drug-resistance after TB confirmation 87
Low complexity automated NAATs for detection of resistance to isoniazid and second-line anti-TB agents 87
First-line LPAs 102
Second-line LPAs 108
Performance of SL-LPA on sputum specimens and culture isolates 112
High complexity reverse hybridization-based NAATs for detection of pyrazinamide resistance 115
Targeted next-generation sequencing NEW 123

Новый класс диагностики ТБ: целевое секвенирование нового поколения

Использует массивное параллельное секвенирование для выявления устойчивости к противотуберкулезным препаратам, начиная с обработанного клинического образца и заканчивая отчетом для конечного пользователя, в котором обнаруженные мутации *Mycobacterium tuberculosis* связываются с наличием (или отсутствием) устойчивости к препаратам на основе интерпретации стандартного каталога мутаций.

Ниже перечислены продукты и препараты, для которых соответствующие данные отвечают критериям эффективности на основе класса:
Deeplex® Myc-TB (Genoscreen, Франция): рифампицин, изониазид, пиразинамид, этамбутол, фторхинолоны, бедаквилин, линезолид, клофазимин, амикацин и стрептомицин
AmPORE-TB® (Oxford Nanopore Diagnostics, Великобритания): рифампицин, изониазид, фторхинолоны, линезолид, амикацин и стрептомицин
TBseq® (Hangzhou ShengTing Medical Technology Co., Китай): этамбутол

World Health Organization

END TB

Метод цСНП оказался точным для обнаружения ЛУ-ТБ

Среди людей с бактериологически подтвержденным легочным ТБ

Точный метод для всех оцениваемых препаратов.

Суммарная чувствительность ≥ 95% для рифампицина, изониазида, моксифлоксацина и этамбутола, 94% для левофлоксацина и 88% для пиразинамида.

Специфичность составила ≥ 96% для всех препаратов.

Среди лиц с бактериологически подтвержденным легочным ТБ, устойчивым к рифампицину (таблица)

Точный метод для изониазида, левофлоксацина, моксифлоксацина, пиразинамида и этамбутола (суммарная чувствительность ≥ 95%; выделено желтым цветом в таблице).

Приемлем для бедаквилина (68%), линезолида (69%), клофазимина (70%), амикацина (87%) и пиразинамида (90%) (выделено оранжевым цветом в таблице).

Специфичность составила ≥ 95% для всех препаратов, за исключением стрептомицина (75%).

Экономически эффективный в зависимости от условий и контекста

Приемлемый и реализуемый, несмотря на присущую сложность

Table 2.3.6. The accuracy and certainty of evidence of targeted NGS for the detection of resistance to anti-TB drugs among bacteriologically confirmed rifampicin-resistant pulmonary TB

Drug	Reference standard	Accuracy % (95% CI)	Studies (persons)	Certainty in evidence
Isoniazid	Phenotypic DST	Se: 96.5 (93.8–99.2)	12 (1440)	High
	Phenotypic DST	Sp: 95.8 (91.8–99.8)	12 (517)	High
Levofloxacin	Phenotypic DST	Se: 95.8 (90.4–100)	6 (654)	Moderate
	Phenotypic DST	Sp: 96.0 (93.1–98.9)	7 (913)	High
Moxifloxacin	Phenotypic DST	Se: 96.5 (93.6–99.5)	6 (652)	High
	Phenotypic DST	Sp: 95.2 (91.0–99.4)	8 (921)	High
Pyrazinamide	Phenotypic DST+WGS	Se: 90.0 (86.8–93.2)	3 (346)	High
	Phenotypic DST+WGS	Sp: 98.6 (96.8–100)	3 (269)	High
Bedaquiline	Phenotypic DST	Se: 67.9 (42.6–93.2)	3 (31)	Low
	Phenotypic DST	Sp: 97.0 (94.3–99.7)	4 (519)	High
Linezolid	Phenotypic DST	Se: 68.9 (38.7–99.1)	4 (31)	Low
	Phenotypic DST	Sp: 99.8 (99.6–100)	6 (1093)	High
Clofazimine	Phenotypic DST	Se: 70.4 (34.6–100)	4 (36)	Low
	Phenotypic DST	Sp: 96.3 (93.2–99.3)	6 (789)	High
Amikacin	Phenotypic DST	Se: 87.4 (74.5–100)	5 (115)	Very low
	Phenotypic DST	Sp: 99.0 (98.4–99.6)	8 (1003)	Moderate
Ethambutol	Phenotypic DST+WGS	Se: 96.7 (95.0–98.4)	4 (431)	Moderate
	Phenotypic DST+WGS	Sp: 98.4 (96.1–100)	4 (123)	Moderate
Streptomycin	Phenotypic DST	Se: 98.1 (96.1–100)	5 (493)	High
	Phenotypic DST	Sp: 75.0 (59.5–90.5)	5 (250)	Low

CI: confidence interval; DST: drug susceptibility testing; NGS: next-generation sequencing; Se: sensitivity; Sp: specificity; TB: tuberculosis; WGS: whole genome sequencing

Рекомендации по использованию целевого СНП, 2023 г.

Recommendations

1. In people with bacteriologically confirmed pulmonary TB disease, targeted next-generation sequencing technologies may be used on respiratory samples to diagnose resistance to rifampicin, isoniazid, fluoroquinolones, pyrazinamide and ethambutol rather than culture-based phenotypic drug susceptibility testing. *(Conditional recommendation, certainty of evidence moderate [isoniazid and pyrazinamide], low [rifampicin, fluoroquinolones and ethambutol])*

Remarks

- Priority should be assigned to those at higher risk of resistance to first-line treatment medications, including individuals who:
  - continue to be smear or culture positive after 2 or more months of treatment, or experience treatment failure;
  - have previously had TB treatment,
  - are in contact with a person known to have resistance to TB drugs; or
  - reside in settings or belong to subgroups where there is a high probability of resistance to either rifampicin, isoniazid or fluoroquinolone (used in new shorter regimens), or where there is a high prevalence of *M. tuberculosis* strains harbouring mutations not detected by other rapid molecular tests.
- This recommendation is conditional because of the lack of data on health benefits, the variable certainty of evidence on diagnostic accuracy, and the fact that accuracy is suboptimal for certain drugs. In addition, because this is a new technology that has not yet been widely implemented, there is still limited and variable evidence on costs, cost–effectiveness and feasibility of implementation.

2. In people with bacteriologically confirmed rifampicin-resistant pulmonary TB disease, targeted NGS technologies may be used on respiratory samples to diagnose resistance to isoniazid, fluoroquinolones, bedaquiline, linezolid, clofazimine, pyrazinamide, ethambutol, amikacin and streptomycin rather than culture-based phenotypic drug susceptibility testing.
   (Conditional recommendation, certainty of evidence high [isoniazid, fluoroquinolones and pyrazinamide], moderate [ethambutol], low [bedaquiline, linezolid, clofazimine and streptomycin], very low [amikacin])

Remarks

- Priority should be given to those at a higher risk of resistance to medications used for the treatment of RR-TB, including individuals who:
  - continue to be smear or culture positive after 2 months or more of treatment or have experienced treatment failure;
  - have previously had TB treatment, including with the new and repurposed drugs;
  - are in contact with a person known to have resistance to TB drugs, including the new and repurposed drugs; or
  - have pre-XDR-TB with resistance to fluoroquinolones.
- As above, this recommendation is conditional because of the lack of data on health benefits, the variable certainty of evidence on diagnostic accuracy, the fact that accuracy is suboptimal for certain drugs, and limited and variable evidence on costs, cost–effectiveness and feasibility of implementation.

World Health Organization

END TB

Соображения в отношении внедрения цСНП

- Технологии целевого СНП **не заменяют существующие экспресс-тесты, которые более доступны и удобоисполнимы** для выявления устойчивости к **рифампицину, изониазиду и фторхинолонам**.
  - Однако если целевое СНП можно выполнить быстро, его можно рассматривать как альтернативный начальный вариант для приоритетных групп населения.
- Приоритет следует отдавать образцам с **высокой бактериальной нагрузкой**, определяемой по результатам первоначальных бактериологических тестов (например, полуколичественная оценка высокая/средняя или положительные по мазку образцы).
  - При низкой бактериальной нагрузке (например, полуколичественная оценка низкая/очень низкая/следовая или отрицательные по мазку образцы), показатель неопределенных результатов, вероятно, будет выше, и в любом случае может потребоваться проведение ТЛЧ на основе культуральных методов.

Соображения в отношении цСНП для BDQ, CFZ, LZD

- Поскольку чувствительность цСНП для определения устойчивости к бедаквилину, линезолиду и клофазимину является **субоптимальной**, следует также проводить фенотипическое ТЛЧ.
- При интерпретации результатов целевого СНП для этих препаратов важно учитывать **предтестовую вероятность** (наличия заболевания до проведения анализа**)**.
  - Если риск **устойчивости низкий**, для выбора терапии можно использовать результаты теста на **чувствительность**
  - Если риск **устойчивости высокий**, для выбора терапии следует использовать как результаты теста на **чувствительность**, так и результаты теста на **устойчивость** совместно с ТЛЧ

Низкая предтестовая вероятность
Отрицательная прогностическая ценность хорошая

Высокая предтестовая вероятность
Положительная прогностическая ценность хорошая

Should BDQ be used to diagnose DR-TB in patients with RR-TB?

Sensitivity	0.68 (95% CI: 0.43 to 0.93)
Specificity	0.97 (95% CI: 0.94 to 1.00)

Prevalences 1% 3% 5%

Outcome	№ of studies (№ of patients)	Effect per 1,000 patients tested: pre-test probability of1%	pre-test probability of3%	pre-test probability of5%
True positives (patients with drug resistance to bedaquiline (BDQ) (pDST))	3 studies 31 patients*	7 (4 to 9)	20 (13 to 28)	34 (22 to 47)
False negatives (patients incorrectly classified as not having drug resistance to bedaquiline (BDQ) (pDST))		3 (1 to 6)	10 (2 to 17)	16 (3 to 28)
True negatives (patients without drug resistance to bedaquiline (BDQ) (pDST))	4 studies 519 patients*	960 (931 to 990)	941 (912 to 970)	922 (893 to 950)
False positives (patients incorrectly classified as having drug resistance to bedaquiline (BDQ) (pDST))		30 (0 to 59)	29 (0 to 58)	28 (0 to 57)

** Риск устойчивости оценивается на основе предшествующего приема препарата, распространенности устойчивости к BDQ выше или ниже 5% в популяции и истории контакта с BDQ-R.*

Новые технологии цСНП для выявления лекарственно-устойчивого ТБ

Обновленное ПО

ONT AmPORE-TB Reagent Kit

Анализ данных завершен

ABL Diagnostics SA DeepChek Assay 13-Plex KB Drug Susceptibility Testing Kit

- Достижения в области технологий цСНП: одно обновленное программное обеспечение для интерпретации результатов устойчивости (ONT AmPORE-TB) и один новый набор данных для обеспечения диагностической точности (ABL Diagnostics SA DeepChek Assay 13-Plex KB).
- В 2024 г. году был опубликован открытый и адресный призыв к предоставлению фактических данных, а в 2025 г. был завершен обзор собранных фактических данных ля проведения оценки Технической консультативной группой.
- Были оценены технологии для выявления устойчивости к препаратам первого ряда среди людей с бактериологически подтвержденным ТБ и устойчивости в препаратам второго ряда среди людей с ТБ, устойчивым к рифампицину.

Эффективность обновленного ПО AmPORE-TB для лекарственно-устойчивого ТБ

Бактериологически подтвержденный ТБ

Препарат	Эталонный стандарт	AmPORE-TB (ONT) (679 пациентов)		цСНП внутриклассовый (совокупно на препарат)	
		Чувствительность [95% ДИ]	Специфичность [95% ДИ]	Чувствительность [95% ДИ]	Специфичность [95% ДИ]
RIF	cDST	94.6% [92.3-96.3]	98.3% [93.9-99.8]	93.1% [87.0-99.2]	96.2% [88.6-100]
INH	pDST	95.3% [93.0-96.9]	97.3% [93.1-99.2]	95.8% [92.8-98.7]	97.0% [95.1-98.9]
MXF	pDST	95.4% [92.4-97.5]	96.4% [93.9-98.1]	95.6% [92.4-98.7]	96.3% [93.2-99.5]
LFX	pDST	94.8% [91.6-97.0]	96.1% [93.5-97.9]	94.2% [88.4-99.9]	96.2% [93.4-98.9]
PZA	cDST	91.1% [87.7-93.9]	98.4% [95.9-99.6]	88.4% [85.2-91.7]	98.5% [97.1-100]
EMB	cDST	84.7% [81.0-87.9]	98.6% [96.1-99.7]	95.8%[94.-0-97.6]	99.3% [98.2-100]

ТБ, устойчивый к рифампицину

INH	pDST	96.0% [93.8-97.5]	97.7% [87.7-99.9]	96.5% [93.8-99.2]	95.8% [91.8-99.8]
MXF	pDST	96.7% [94.0-98.4]	95.4% [91.9-97.7]	96.5% [93.6-99.5]	95.2% [91.0-99.4]
LFX	pDST	97.0% [94.3-97.0]	95.0% [91.4-97.4]	95.8% [90.4-100]	96.0% [93.1-98.9]
PZA	cDST	92.1% [87.7-94.7]	98.1% [94.6-99.6]	90.0% [86.8-93.2]	98.6% [96.8-100]
BDQ	pDST	73.5% [55.6-87.1]	97.2% [95.3-98.5]	67.9% [42.6-93.2]	97.0% [94.3-99.7]
LZD	pDST	77.8% [52.4-93.6]	99.6% [98.6-100]	68.9% [38.7-99.1]	99.8% [99.6-100]
CFZ	pDST	68.8% [50.0-83.9]	97.4% [95.6-98.6]	70.4% [34.6-100]	96.3% [93.2-99.3]
AMK	pDST	87.9% [76.7-95.0%]	99.0% [97.6-99.7]	87.4% [74.5-100]	99.0% [98.4-99.6]
EMB	cDST	85.4% [81.7-88.6]	98.6% [96.1-99.7]	96.7% [95.0-98.4]	98.4% [96.1-100]
SM	pDST	88.0% [84.5-91.0]	85.1% [77.2-91.1]	98.1% [96.1-100]	75.0% [59.5-90.5]

pDST = фенотипическое тестирование лекарственной чувствительности, pDST = комбинированное фенотипическое и полногеномное тестирование лекарственной чувствительности

World Health Organization

END TB

Новые технологии цСНП для выявления лекарственно-устойчивого ТБ

Обновленное ПО

ONT AmPORE-TB Reagent Kit

Анализ данных завершен

ABL Diagnostics SA DeepChek Assay 13-Plex KB Drug Susceptibility Testing Kit

- Эффективность технологии AmPORE-TB **сопоставима** с эффективностью других рекомендованных ВОЗ технологий цСНП для выявления устойчивости к:
  - ✓ препаратам первого ряда – рифампицин, изониазид, фторхинолоны и пиразинамид – среди людей с бактериологически подтвержденным легочным ТБ
  - ✓ изониазиду, фторхинолонам, бедаквилину, линезолиду, клофазимину, пиразинамиду, амикацину и стрептомицину среди людей с ТБ, устойчивым к рифампицину

- Эффективность технологии тестирования на лекарственную чувствительность DeepChek Assay 13-Plex KB **не может быть адекватно сопоставлена** с эффективностью рекомендованных ВОЗ технологий цСНП для выявления лекарственной устойчивости у людей с бактериологически подтвержденным легочным ТБ с устойчивостью к рифампицину или без нее.

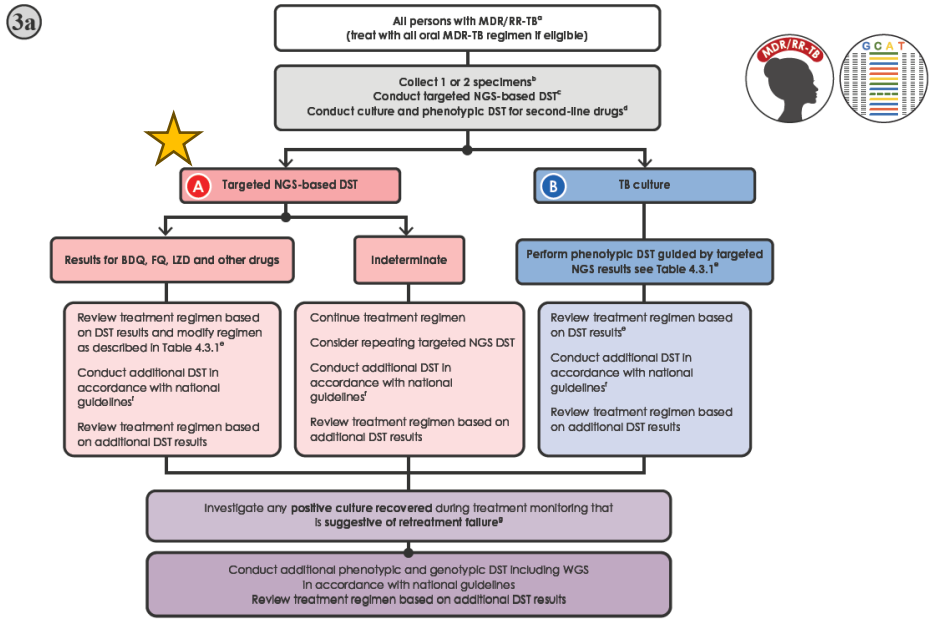
- Рекомендации ВОЗ по использованию цСНП **действительны** для технологии AmPORE-TB (ONT), которая теперь соответствует критериям эффективности на основе класса для выявления устойчивости к **трем дополнительным препаратам** (пиразинамиду, бедаквилину и клофазимину).

World Health Organization

END TB

Практический справочник: использование целевого СНП

Fig. 4.5. New Algorithm 3a: DST for MDR/RR-TB using targeted NGS



World Health Organization

END TB

Резюме и дальнейшие шаги

- Два новых комплексных решения цСНП, рекомендованные ВОЗ для выявления ТБ, устойчивого в препаратам первого и второго ряда.
- Готовящийся к публикации в 2025 г. практический справочник ВОЗ по диагностике ТБ будет содержать положения о новых технологиях и соответствующие отчеты.
- Ожидается, что прогресс в понимании молекулярных механизмов, связанных с устойчивостью, со временем улучшит эффективность технологий; обновления будут проходить проверку и оценку ВОЗ.
- Необходимо больше фактических данных о новых препаратах и влиянии целевого СНП на значимые исходы пациентов.
- Дополнительные будущие ресурсы: Каталог мутаций версии 3, электронный курс по цСНП Академии ВОЗ, разработка процесса предквалификации ВОЗ для класса цСНП

https://extranet.who.int/tbknowledge

World Health Organization

THANK YOU!
СПАСИБО!

World Health Organization
European Region

Unitaid
SAVE LIVES FASTER

KNCV
TB PLUS

MEDECINS SANS FRONTIERES