Terapie antituberkulotiky

Tuberculosis and the fight against **Antimicrobial Resistance**

World Health Organization
REGIONAL OFFICE FOR Europe

Why pay attention to antimicrobial resistance (AMR)?

Antimicrobial agents, such as antibiotics, are essential to treat human and animal infectious diseases. But bacteria, and other microorganisms, have protective mechanisms that will help them develop resistance to antimicrobials, meaning that the antimicrobial drug will be less effective. Development of resistance happens especially when the microbes are frequently exposed to antimicrobials. Therefore, all unnecessary and inappropriate use of antibiotics and other antimicrobials increases the risk that resistance will develop and spread. Unnecessary use happens, for example, when antibiotics are used to treat viral infections, such as the common cold or flu, or as a growth promoter in agriculture. It also happens when antibiotic courses are regularly interrupted.

As a result, the world is running out of effective antibiotics to treat infectious diseases, and unless appropriate action is taken, decades of progress in health and medicine risk being undone. AMR not only costs a lot of money, but also generates a lot of suffering.

In May 2015, the World Health Assembly (WHA) endorsed a global action plan on AMR and urged all Member States to develop national action plans. WHA72 (May 2019) called for an accelerated implementation.

Why pay attention to tuberculosis (TB)?

TB is caused by the bacterium Mycobacterium tuberculosis and it most often affects the lungs. TB is spread through the air by people with pulmonary TB who are not receiving appropriate treatment.

Anyone can be infected with TB and nobody is safe. There are 231 000 estimated TB cases and 20 000 people lose their lives to TB each year in the WHO European Region. However, TB is a curable disease. Rapidly diagnosis and timely initiating the correct therapy stops both the infection in the individual, prevent the development of drug-resistance and its transmission to others. Worryingly, drug-resistant TB has become common in many countries, which significantly complicates treatment strategies. Every third TB patient in the Region has a multidrug- or rifampicin-resistant variant (MDR/RR-TB); and one in four of them has additional resistance to potent second-line medications – fluoroquinolones – leading to pre-extensively drug-resistant TB (pre-XDR-TB). Forty-seven per cent of the world's burden of fluoroquinolone-resistant pre-XDR-TB is in the Region. However, chances of successful outcomes for MDR/RR-TB are much higher with the availability of newly WHO-recommended medicines for TB with proven effectiveness and good safety profiles.

How can both areas benefit from each other?

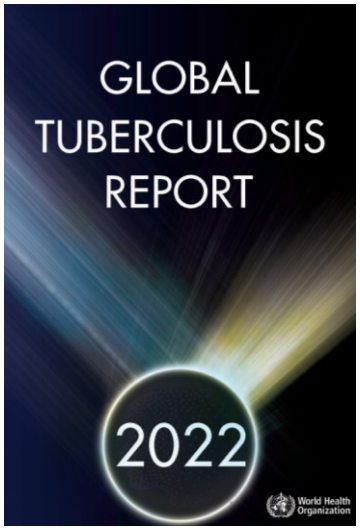
Preventing and controlling the development of drug resistance is fundamental to WHO/Europe's work on both AMR and TB. Both areas have great examples of success in terms of policy intervention and implementation through the use of research and innovation. Accurate and rapid diagnosis is key to quickly finding people with TB and putting them on the right treatment path. Using the correct treatment prevents resistance from developing and amplifying and stops further transmission of the infection in society. Chances of cure depend highly on the timely initiation of appropriate treatment that is possible after rapid diagnosis of TB by WHO-recommended molecular testing (mWRD). It is also dependent on strong laboratory services further confirming diagnosis, the availability of medicines for therapy, and the use of approaches focusing on strengthened adherence to treatment. Both AMR and TB benefit from initiatives to improve the quality of diagnosis and capacity-building of health providers. Robust surveillance is crucial for monitoring the development of resistance and ensuring timely action under national AMR and TB strategies and action plans.

Update 2023

24. březen:

Světový den boje proti tuberkulóze

Situace TBC



- Na tuberkulózu **ve světě ročně umírá** dle
  WHO *Global Tuberculosis Report 2022 (data 2021)*
  1,2 milionů (2019) **vs 1,4 milionů** (2021) lidí zemřelo
  6,4 milionů lidí se odhaduje, že má aktivní TB (2021)
  Děti do 15 let tvořily **14%** z celkových úmrtí na TB v roce 2021
  > **500,000 nových** (MDR/RR-TB) **případů**, kde je prokázána multirezistence nejméně na 2 antimikrobika a rifampicin (RR)

- **V zemích EU** je stav poměrně příznivý (**10,5** (2019) notifikovaných TB na 100 tisíc obyvatel; záznam ze 30 států EU/EEA vs **7,4** (2021;29 států (bez UK) ...
- Ale **celkově Evropa** (včetně států mimo EU/EEA měla **25** / 100 tisíc
- ***?? Bias - podhlášenost v důsledku COVIDu ??***
- Tuberculosis surveillance and monitoring in Europe 2023 - 2021 data (europa.eu)
  - Koinfekce TBC a HIV 14,8% testovaných (38 zemí Evropy, tedy EU/EEA + další země)
  - Podreportování případů z věznic (jen 17 států hlásilo 2019 –> zlepšení 26 států 2021)
- V ČR – ČR výskyt choroby **3,3** případů na sto tisíc obyvatel (2021)

Situace v ČR – I
dostupná data 2021 (publik. 2023)

Czechia

Total population at 23 April 2022 by EUROSTAT: 10 701 777

TB cases, 2021

Notifications		
Total number of cases	357	
Notification rate per 100 000	3.3	
New[a] and relapse	352	
New[a] and relapse notification rate per 100 000	3.3	
Pulmonary	321	(89.9%)
of which microscopy-positive	171	(53.3%)
of which laboratory-confirmed	271	(84.4%)
Laboratory-confirmed TB cases	298	(83.5%)
Mean age of new native TB cases	52.8 years	
Mean age of new foreign TB cases	40.1 years	
Foreign origin of all TB cases	132	(37.0%)
New (not previously treated)	332	(93.0%)
Estimates		
Estimated new and relapse cases N, best [low–high]	400	[350–470]

[a] Cases with unknown previous TB history included in new cases.

Drug resistance surveillance and TB/HIV coinfection, 2021

Completeness of DRS data[a]	Yes	
Completeness of HIV data[b]	Yes	
Case-linked data-reporting	Yes	
Cases with DST results	278	(93.3%)
Estimated RR-TB among notified bacteriologically confirmed pulmonary TB cases N, best [low–high]	11	[7–14]
Pulmonary RR/MDR-TB cases notified	9	(3.5%)
of which pre-XDR-TB cases	2	(22.2%)
Notified RR/MDR-TB	10	(3.6%)
of which pre-XDR-TB cases	2	(20.0%)
TB cases tested for HIV	212	(59.4%)
HIV-positive TB cases	7	(3.3%)
of these on ART	–	–

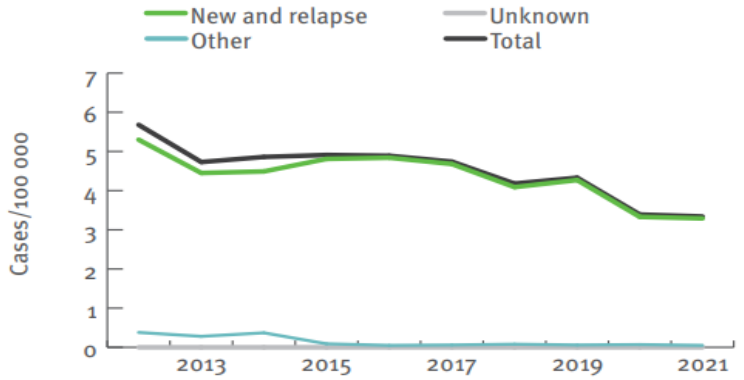
[a] National coverage 100% or culturing ≥ 90%, C+/all TB cases > 50%, DST done for C+ > 75%, EQA ≥ 95%.
[b] More than 50% of TB cases with reported HIV status.

Treatment outcome monitoring

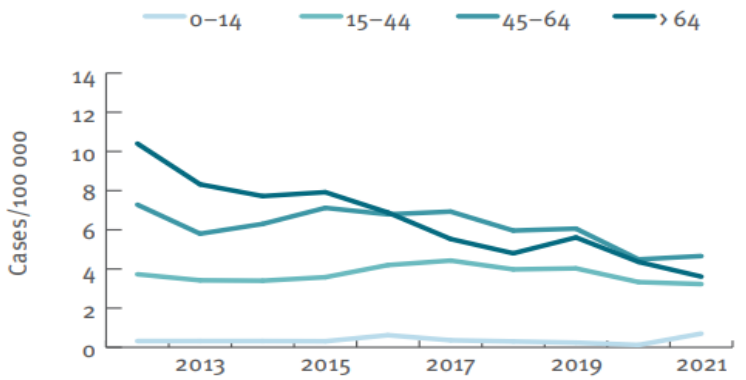
Geographical coverage	National			
Outcome cohort	New culture-positive pulmonary TB cases notified in 2020[a]		All RR/MDR-TB cases notified in 2019[b]	
Case-linked data-reporting	Yes		–	
Cases notified	239		8	
Success	152	(63.6%)	4	(50.0%)
Died	41	(17.2%)	1	(12.5%)
Failed	1	(0.4%)	0	(0.0%)
Lost to follow-up	31	(13.0%)	1	(12.5%)
Still on treatment	9	(3.8%)	0	(0.0%)
Not evaluated	5	(2.1%)	2	(25.0%)

[a] Treatment outcome as presented is treatment outcome after 12 months.
[b] Treatment outcome as presented is treatment outcome after 24 months.

TB notification rates by previous treatment history, 2012–2021

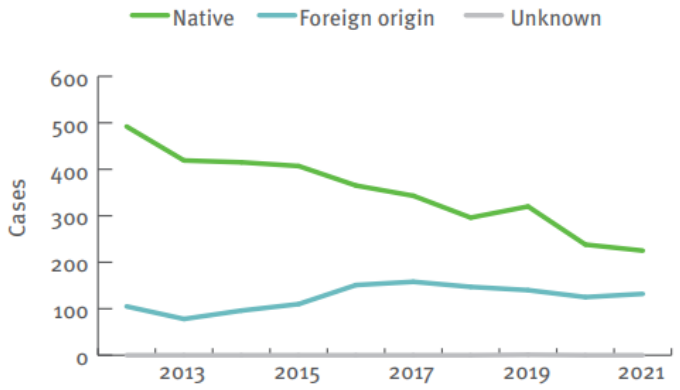


New and relapse TB cases – notification rates by age group, 2012–2021

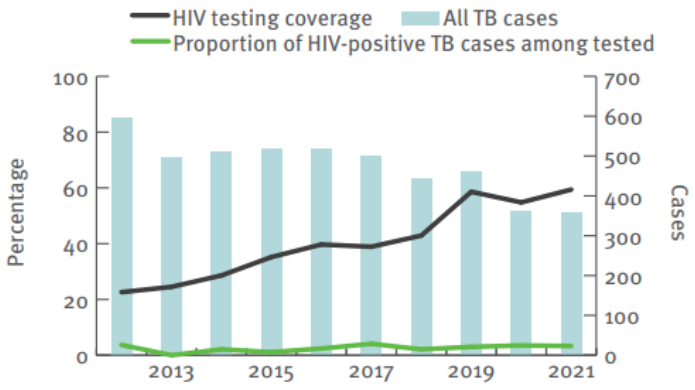


Situace v ČR – I
dostupná data 2021 (publik. 2023)

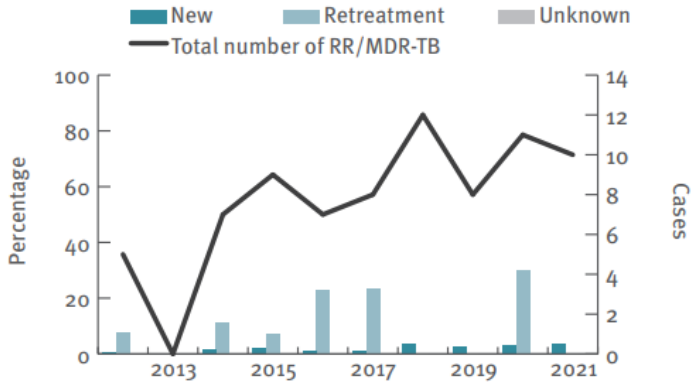
TB cases by geographical origin, 2012–2021



TB/HIV coinfection, 2012–2021

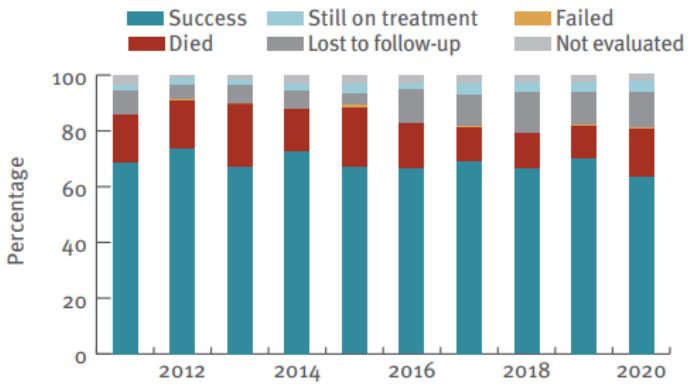


RR/MDR-TB cases and percentage of RR/MDR-TB cases by previous treatment history among all TB cases, 2012–2021



Note: Percentage is calculated on the basis of all new, retreated and unknown cases, meaning that the sum of all cases can sometimes be over 100% for a particular year.

Treatment outcome, new culture-confirmed pulmonary TB cases, 2011–2020



Klasifikace TBC

- **"klasické citlivé" formy TBC** citlivost na základní sadu antituberkulotik
- **multirezistentní tuberkulóza (multidrug-resistant TBC - MDR TBC)** charakterizovaná rezistencí minimálně na dvě nejúčinnější léčiva isoniazid a rifampicin => odhad těchto MDR TBC půl miliónu nových případů ročně
- **extrémně rezistentní tuberkulózy (extensively drug-resistant TBC- XDR TBC**). V těchto případech jde o kombinaci MDR TBC rezistencí na fluorochinolony a současně ještě jeden z injekčních přípravků, kapreomycin, kanamycin nebo amikacin.
- **totálně rezistentní TBC (totally drug-resistant TBC- TDR TBC**). Je to dosud nejzávažnější varianta TBC. Je definována rezistencí na všechna antituberkulotika první a druhé řady. První případy byly popsány u pacientů z různých zemí Asie - Íránu, Iráku, Afghánistánu.

Esenciální antituberkulotika
léčivé přípravky první volby ČR – SEAI 2020

ESENCIÁLNÍ ANTITUBERKULOTIKA		
ZÁKLADNÍ ANTITUBERKULOTIKA		
NÁZEV LÉČIVÉ LÁTKY	**LÉKOVÉ FORMY**	**ZDŮVODNĚNÍ**
etambutol (J04AK02)	Tekutá perorální forma: 25 mg/ml [c]	Léčivé přípravky první volby
	Tablety: 100 mg - 400 mg (hydrochlorid)	
isoniazid (J04AC01)	Perorální tekutá forma: 50 mg/5 ml [c]	
	Tablety: 100 mg až 250 mg	
	IV forma: 250 mg; 500 mg	
rifampicin (J04AB02)	Perorální tekutá forma: 20 mg/ml [c]	
streptomycin(J01GA01)	Prášek pro injekce: 1 g (sulfát) v lahvičce	
pyrazinamid (J04AK01)	Tekutá perorální forma: 30 mg/ml [c]	
	Tablety (rozpustné): 150 mg	
	Tablety: 500 mg	
rifampicin (J04AB02)	Pevná perorální forma: 150 mg; 300 mg	
	Perorální tekutá forma: 20 mg/ml [c]	
	parenterální forma	

Esenciální antituberkulotika

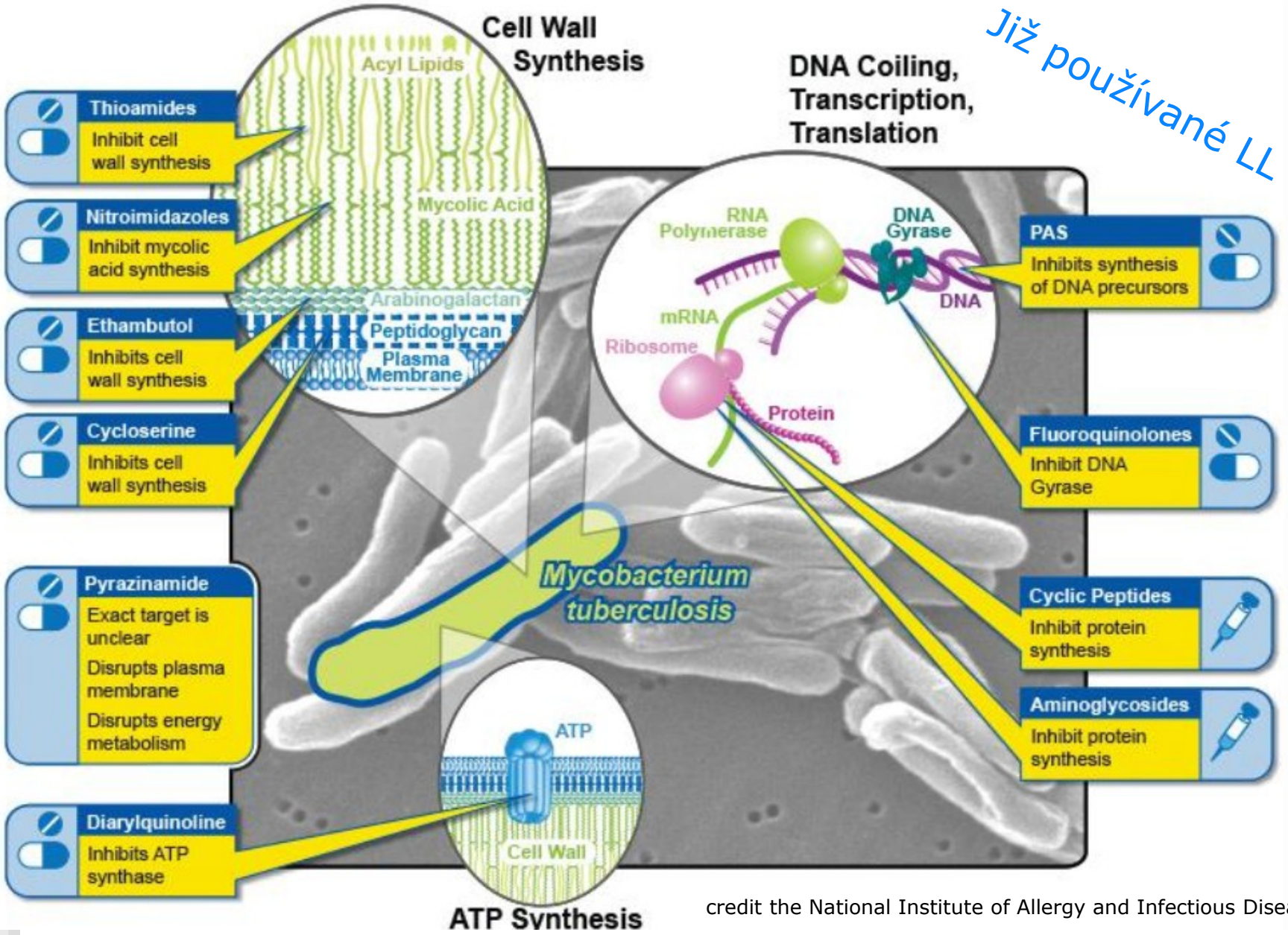
léčivé přípravky alternativní volby u multirezistentní tuberkulózy ČR – SEAI 2020

SPECIÁLNÍ ANTITUBERKULOTIKA		
NÁZEV LÉČIVÉ LÁTKY	**LÉKOVÉ FORMY**	**ZDŮVODNĚNÍ**
amikacin (J01GB06)	Prášek pro injekce: 100 mg; 500 mg; 1 g (sulfát) v lahvičce	Alternativní léčivé přípravky pro léčbu multirezistentní tuberkulózy
clofazimine (J04BA01)	Tobolka: 50 mg	
ofloxacin (J01MA01)	Tablety: 200 mg	
p-aminosalicylová kys. (J04AA01)	Granule: 4 g v sáčku	
	Tablety: 500 mg	
rifabutin (J04AB04)	Tobolka: 150 mg	
rifampicin (J04AB02)	Prášek pro i.v. injekce (sodná sůl): 300 mg; 600 mg	
bedaquiline (J04AK02)	Tablety: 100 mg	
moxifloxacin (J01MA14)	Infuzní roztok: 400 mg/250 ml	
	Tablety: 400 mg	
NÁZEV LÉČIVÉHO PŘÍPRAVKU	**LÉKOVÉ FORMY**	**ZDŮVODNĚNÍ**
capreomycin (J04AB30)	Prášek pro injekce: 1 g (sulfát) v lahvičce	Alternativní léčivé přípravky pro léčbu multirezistentní tuberkulózy
cykloserin (J04AB01)	Pevná perorální forma: 250 mg	
dapson (J04BA02)	Tablety: 25 mg; 50 mg; 100 mg	
ethionamid (J04AD03)	Tablety: 125 mg; 250 mg	
kanamycin (J01GB04)	Prášek pro injekce: 1 g (sulfát) v lahvičce.	

Tuberkulinový test a vakcína – stav 2018

TUBERKULINOVÝ TEST A BCG VAKCÍNA		
tuberkulinový test (V04CF01) **PPDTUBERCULIN MAMMALIAN, BB-NCIPD Ltd.**	**Injekce, vialka a 1ml (10 dávek), 50 TU PPD = 5 TU/0,1ml (na dávku)**	Test pro diagnostiku tuberkulózy, indikaci profylaxe a očkování proti tuberkulóze (Mantoux) *Pozn. Do budoucího seznamu esenciálních vakcín a imunopreparátů*
BCG vakcina (J07AN01) **SZCZEPIONKA PRZECIWGRUŽLICZA BCG 10, BIOMED-LUBLIN**	**Injekce, 1 vialka = 10 dávek, 0,1 ml (1 dávka)/150000-160000 živých tyčinek BCG**	Očkovací látka proti tuberkulóze *Pozn. Do budoucího seznamu esenciálních vakcín a imunopreparátů*

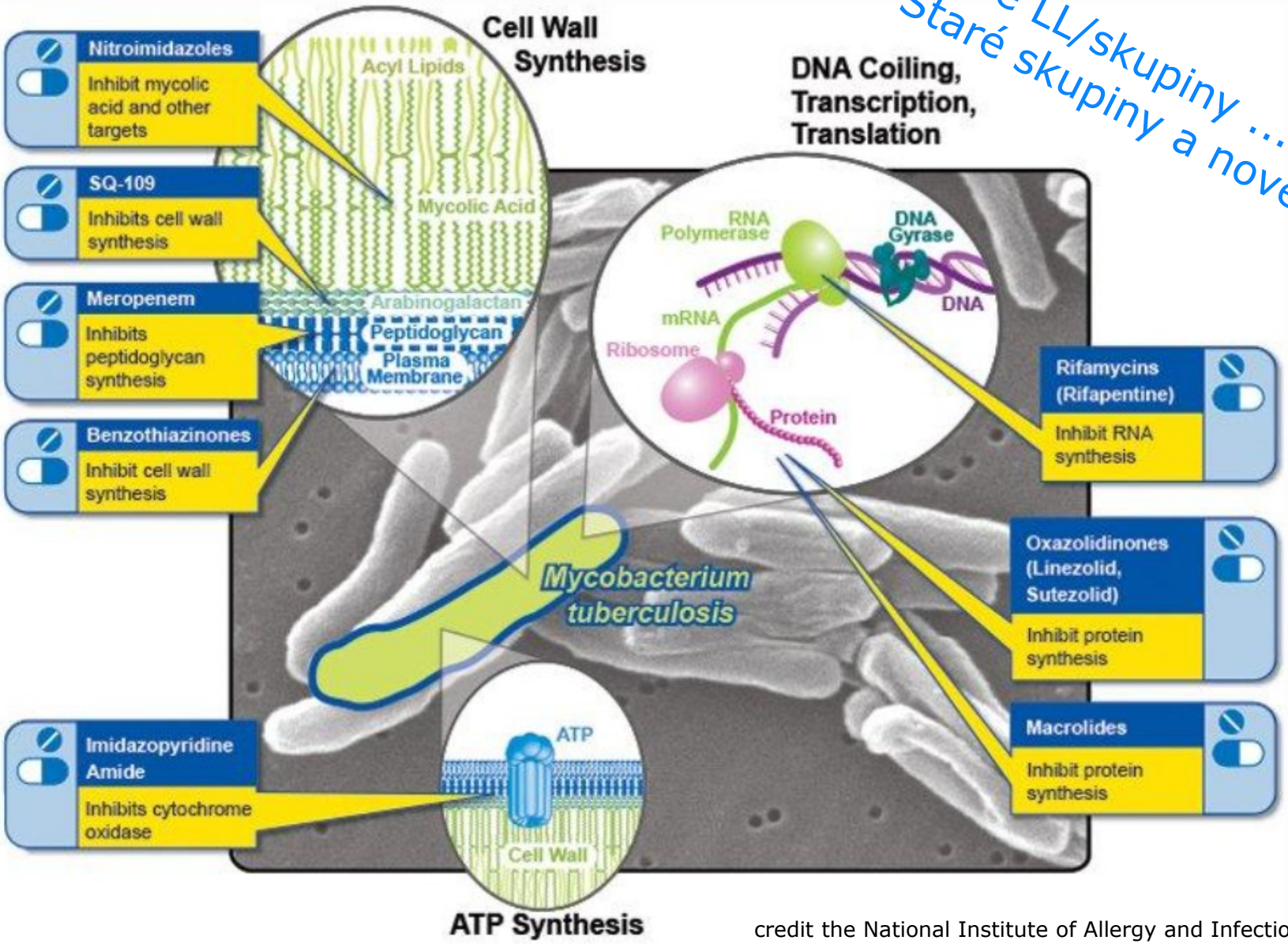
Mechanizmus účinku anti TB léčiv



credit the National Institute of Allergy and Infectious Diseases

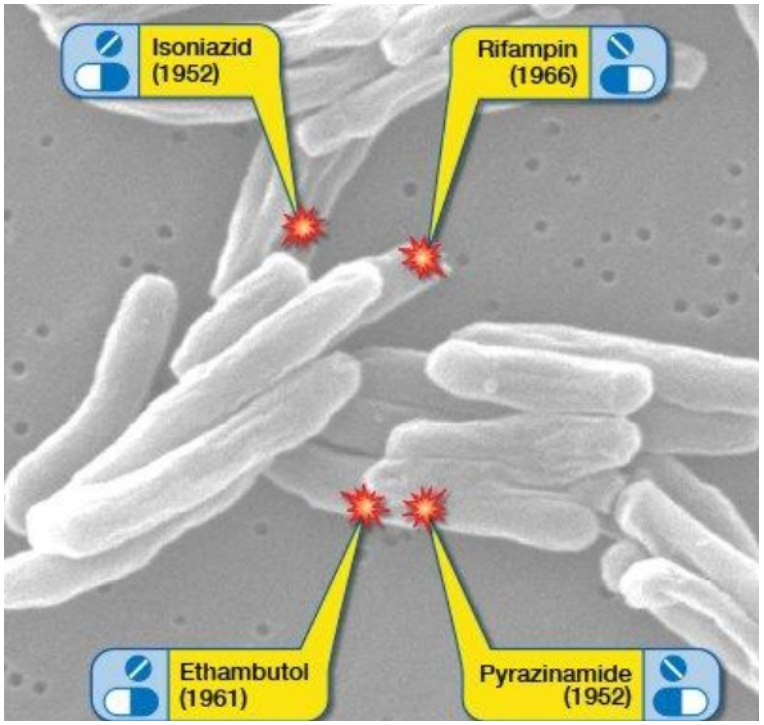
Mechanizmus účinku anti TB léčiv

Nové LL/skupiny … NEBO
Staré skupiny a nové LL



credit the National Institute of Allergy and Infectious Diseases

Základní (esenciální) antituberkulotika



- Isoniazid
- Rifampicin
- Ethambutol
- Pyrazinamid
- Streptomycin (se dnes používá většinou pouze u rezistentní TB a při recidivách onemocnění, případně ještě u TB centrální nervové soustavy).

Esenciální antituberkulotika 1:

(1) Izoniazid

- baktericidní, vysoká účinnost,
- jsou schopny ještě 5-6 dní inhibovat růst kmenů mykobakterií, i když jejich hladina v těle poklesla pod MIC
- mechanismus účinku založen na inhibici syntézy kyseliny mykolové, akumulace IZO v buňce + zásah do metabolismu bakterie prostřednictvím interference s kyselinou nikotinovou a NAD
- při dlouhodobém podávání účinek na CNS – lze zmírnit podáváním pyridoxinu

Esenciální antituberkulotika 2:

(2) Rifampicin

- baktericidní
- účinek na syntézu bakteriální DNA – působí na DNA dependentní RNA polymerázu
- není zkřížená R s ostatními antituberkulotiky
- s významem zejména u pomalu se množících mykobakterií přítomných ve zbytkových lézích,
- farmakokinetika umožní okamžité a rychlé působení po podání
- pozor na ztrátu účinnosti perorálních kontraceptiv !
- Pozor barví do červenooranžova moč, sputum, slzy

Esenciální antituberkulotika 3:

(3) Pyrazinamid

- baktericidní, zejména v kyselém intracelulárním prostředí,
- kumuluje se jako pyrazinkarbonová kyselina v bakteriálních buňkách,
- narušení metabolismu prostřednictvím energetické disbalance, narušení membrán mykobakterií – narušení trans-translace => cíle v MTB buňce synthasa I – mastné kyseliny, ribozomální protein S1)

- uplatnění zejména při prevenci recidiv, nasazuje se často v iniciální terapii,
- značná hepatotoxicta

Esenciální antituberkulotika 4:

(4) Streptomycin

- baktericidní, zejména účinný na rychle se množící kmeny
- V ČR dnes dovoz pouze na výjimku, spíše uplatnění u recidivujících případů
- vzhledem k rychle vznikající R užití pouze v kombinaci s jinými antituberkulotiky
- monoterapie streptomycinem může vést k tzv.

  fall and rise fenomenonu - kmeny zničeny nebo alespoň inhibovány ve sputu, ale v kavernách a ložiscích selekce rezistentních mutant vedoucích ke znovunavrácení onemocnění

- poškození 8. mozkového nervu => poškození vestibulárního aparátu a později i nervus acusticus, hluchota, ireverzibilní

Esenciální antituberkulotika 5:

(5) Etambutol

- bakteriostatický, zasahuje do syntézy buněčné stěny mykobakterií inhibicí arabinogalaktanu
- vhodný pouze ke kombinované terapii
- při dlouhodobém užívání poruchy zraku:
  - retrobulbární neuritida se snížením zrakové ostrosti, zúžením zorného pole, centrálním nebo periferním skotomem a červenozelenou barvoslepostí

RIFAMPICIN a PYRAZINAMID

jsou schopny tzv.

sterilizace tkání od mykobakterií

- zabíjí i tzv.spící mykobakteria (která díky své minimalizaci metabolismu a jakési hybernaci nemetabolizují a nejsou a ni vnímavá k účinku jiných antituberkulotik)

- Většina léků zejména v kombinované terapii:
  - slušně účinná
  - díky možnosti nižší dávky než při podání samostatných preparátů se kromě snížení pravděpodobnosti
    - selhání léčby
    - nárůstu rezistence
    - také sníží pravděpodobnost toxického působení.

Kritické koncentrace antituberkulotik in vitro :

Preparát	Kritická koncentrace / mg/ml /
Izoniazid	0,20
Rifampicin	5,00
Pyrazinamid	400,00
Streptomycin	5,00
Etambutol	2,00

Antituberkulotika u dětí

- **EMA uzavřela přezkum doporučeného dávkování antituberkulotik u dětí (únor 2012)**

- Výbor CHMP konstatoval, že definovat dávkování antituberkulotik volby je u dětí obtížné pro omezenou dostupnost dat a další limitující faktory.
- Přezkum nicméně ukončil souhlasem s následujícím návrhem WHO pro léčivé přípravky s obsahem:

- Etambutol: 20 (15-25) mg/ml
- Isoniazid: 10 (10-15) mg/ml
- Pyrazinamid: 35 (30-40) mg/ml
- Rifampicin: 15 (10-20) mg/ml

Krátkodobá sterilizační terapie

Dvě fáze : iniciální nemocniční a pokračovací ambulantní

Krátkodobý režim :

- Po celou dobu terapie **RFP**

Iniciálně čtyřléková kombinace : 1) INH, RFP, PZA, EMB
nebo 2) INH, RFP, PZA, STM

- intermitentně 3 x týdně nebo denně , délka 2 (eventuelně až 3) měsíce
- pro snížení neurotoxicity INH – pyridoxin

Pokračovací dvoulékově : 1) INH, RFP (+ pyridoxin)

- Pacienti BK + 6 měsíců
- Pacienti aktivní tbc (RTG, klinika) ale BK - 4 měsíce

- BK (= kultivačně *M. tuberculosis)*

Zkrácený režim :

- Při alergii nebo jiných toxických projevech RFP :
- **Iniciálně** jen trojkombinace, nebo STM nahrazení RFP

- **Pokračovací** dvoulékově : INH, STM (+ pyridoxin)

- Pacienti BK + 9 měsíců
- Pacienti aktivní tbc(RTG, klinika) ale BK - 7 měsíců

12 měsíční režim :

- při silné toxicitě a nesnášenlivosti RFP, u velmi starých nemocných aj.
- čtyřkombinace bez RFP nebo trojkombinace, denní režim, delší hospitalizace

Rezistence :

- Kmeny *Mycobacterium tuberculosis,* rezistentní minimálně na dvě ATB už lze považovat za multirezistentní,
  - nejčastěji R na kombinaci antituberkulotik izoniazidu a rifampicinu
- lze se ovšem setkat s kmeny, které jsou rezistentní i na více antimikrobních látek z řady antituberkulotik současně (kromě izoniazidu a rifampicinu, rezistence také na streptomycin, pyrazinamid a etambutol).

Rezistence vs. terapie

- Jelikož testování citlivosti in vitro není krátkodobá záležitost, je **nutno léčbu pacientů zahájit empiricky** - tedy jako kauzální antituberkulotickou terapii.
- Proto je nutné vyhledávat další preparáty, na které jsou tyto kmeny označované jako

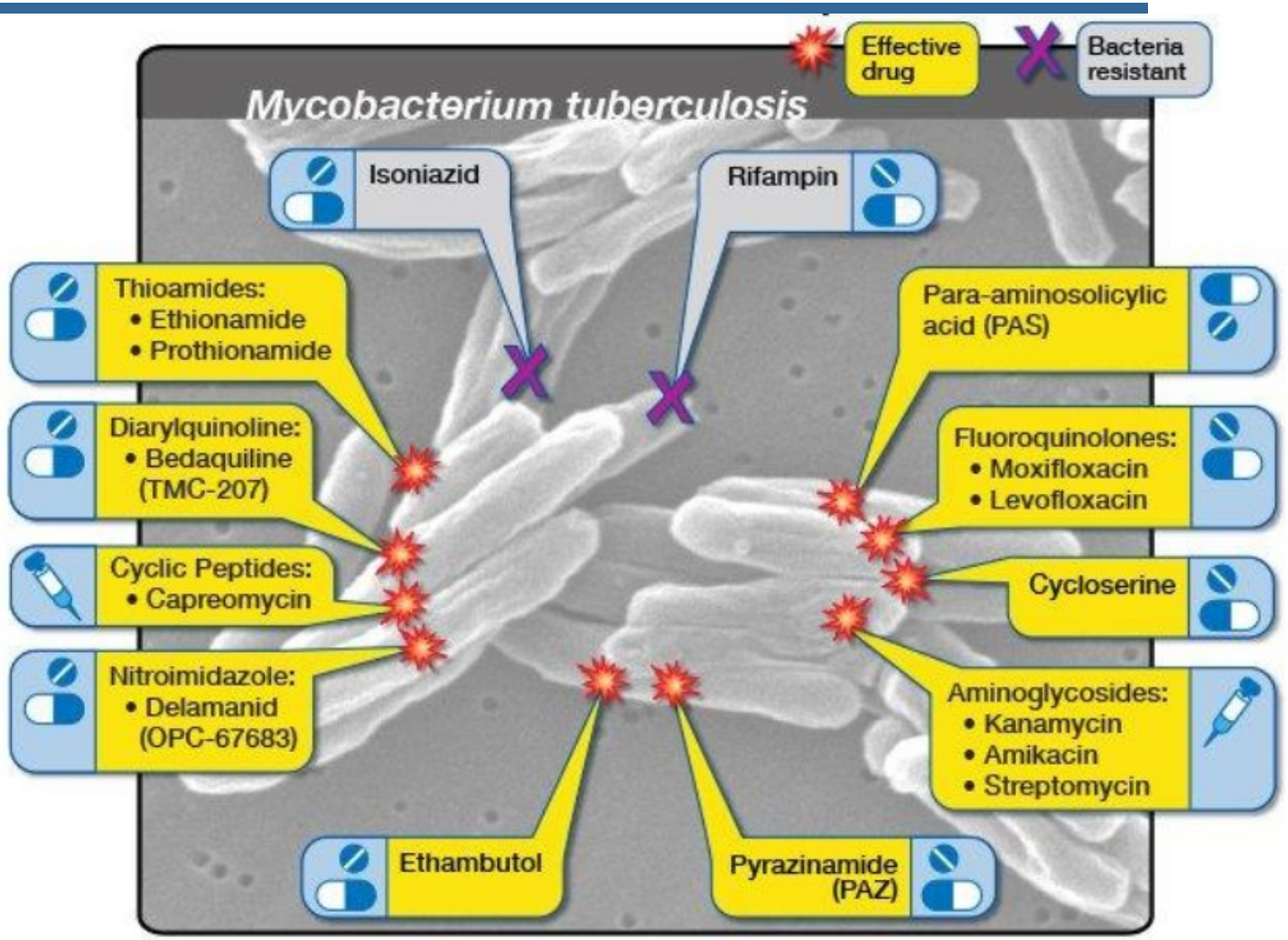
  MDR (**M**ulti **D**rug **R**esistant) citlivé a kterými je možno tyto kmeny usmrtit.

Second-line Drugs (SDL)

- Preparáty účinné na **MDR** kmeny jsou řazeny mezi takzvané **Second-line Drugs (SDL) -** pro léčbu TBC jsou v našich i zahraničních pracech uváděny přípravky obsahující tyto účinné látky **:**

Vybraná antimikrobika (viz další snímek) považována za účinná pro léčbu MDR TB … **než přišly kmeny** XDR TB a TDR TB).

MDR-TB rezistence na Isoniazid a rifampicin: léky druhé linie



credit the National Institute of Allergy and Infectious Diseases

Léky doporučované pro léčbu onemocnění vyvolaných kmeny **MDR**-TB

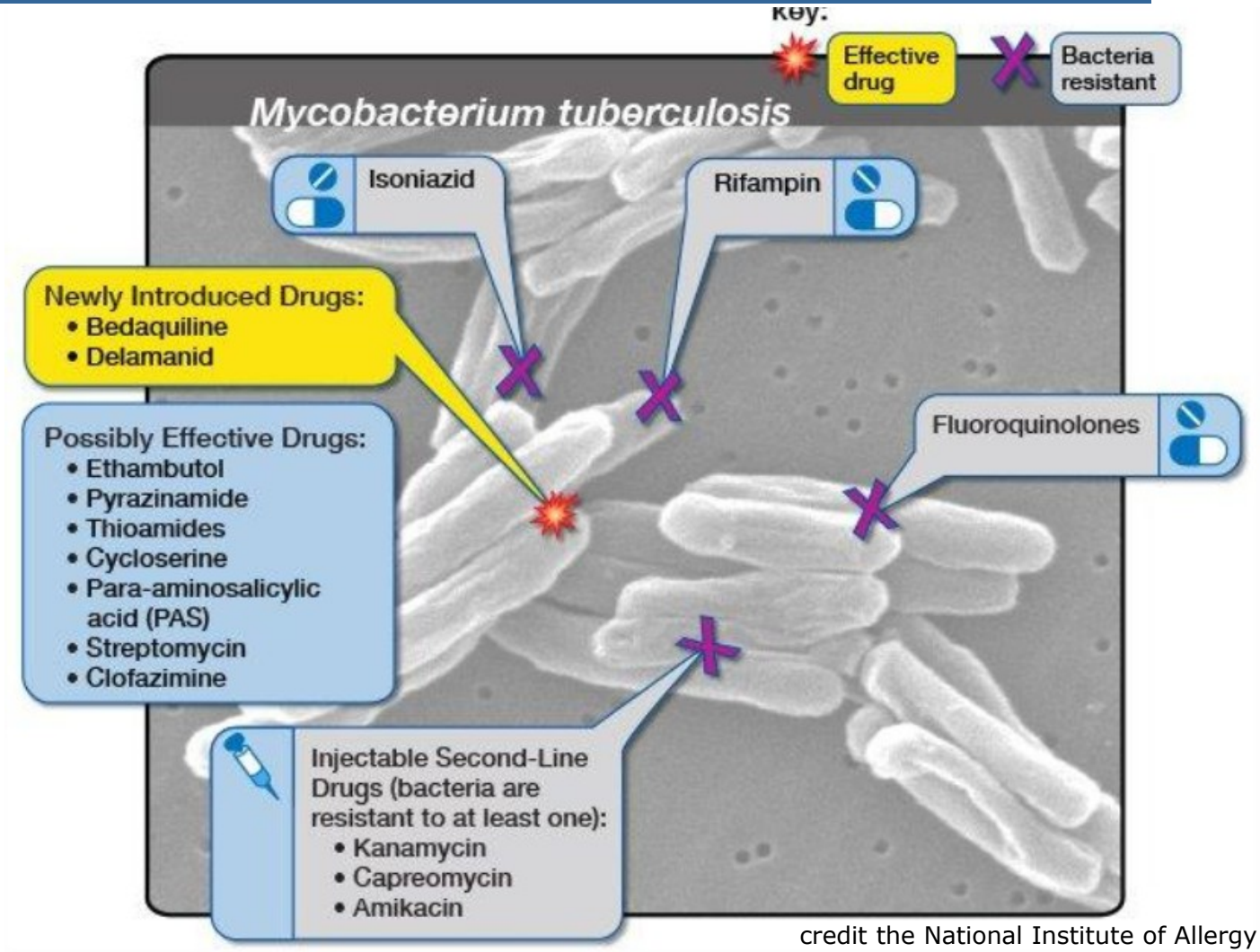
Skupina	Lék	Zkratka
Skupina A: **Pokud možno, mají být použité všechny tři**	Levofloxacin *nebo* Moxifloxacin	Lfx Mfx
	Bedaquilin	Bdq
	Linezolid	Lzd
Skupina B: **Pokud možno, přidat oba léky**	Clofazimin	Cfz
	Cycloserin nebo Terizidon	Cs nebo Trd
Skupina C: **Použít na doplnění léčebného režimu v případě, pokud nelze použít léky ze skupiny A a B**	Ethambutol	E
	Delamanid	Dlm
	Pyrazinamid	Z
	Imipenem-cilastatin *nebo* Meropenem	Ipm-Cln Mpm
	Amikacin (*nebo* Streptomycin)	Am (S)
	Ethionamid *nebo* Prothionamid	Eto Pto
	p-aminosalicylová kyselina	PAS

Wallenfels et. Al, 2018; Klin Farmakol Farm 2018; 32(4): 10–14

Extrémně rezistentní tuberkulóza

- Dalším pojmem, se kterým se od r. 2006 setkáváme ve spojitosti s tuberkulózou jsou tzv. **XDR TBC** **extrémně rezistentní tuberkulóza** (resp. kmeny, které jsou rezistentní i na antimikrobní látky z tzv. second – line.
- Od roku 2009 pak tzv. **totálně rezistentní tuberkulóza** **TDR TBC**

XDR-TB rezistence - nefunkční RIF, ISO, FQ, AMG: léčebné možnosti



credit the National Institute of Allergy and Infectious Diseases

Požadavek na vyhrazení farmak jen pro TBC

- **Požadavek** lékařů zainteresovaných do léčby TBC - domluva s ostatními obory a ponechání tzv. **farmak vyhrazených pouze pro léčbu TBC** . Viz obrovský nárůst R u rifampicinu při jeho používání v pneumologii k terapii infekcí plic (a snad i souvislost s použitím ve veterinární medicíně).

The global clinical development pipeline for new anti-TB drugs and drug regimens to treat TB disease, August 2020

Phase I[a]

- BTZ-043[b]
- Macozinone[b]
- OPC-167832[b]
- SPR720[b]
- TBAJ-876
- TBI-166
- TBI-223
- ACTG A5312

Phase II[a]

- GSK-3036656[b]
- Telacebec (Q203)[b]
- TBA-7371[b]
- Delpazolid (LCB01-0371)
- SQ109
- Sutezolid
- High-dose rifampicin for drug-susceptible TB **(PanACEA)**
- Bedaquiline and delamanid **(ACTG 5343 DELIBERATE trial)**
- Bedaquiline and pretomanid with existing and re-purposed anti-TB drugs for MDR-TB **(TB PRACTECAL Phase II/III trial)**
- Shorter regimens including clofazamine and rifapentine for drug-susceptible TB **(CLO-FAST trial)**
- Pretomanid-containing regimens to shorten treatment for drug-susceptible TB **(APT trial)**
- Delamanid–linezolid–levofloxacin–pyranzimamide for fluoroquinolone-susceptible MDR-TB **(MDR-END trial)**
- Levofloxacin with OBR[c] for MDR-TB **(Opti-Q)**
- 4-month treatment for drug-susceptible TB **(PredicTB trial)**
- High-dose rifampicin for TB meningitis **(ReDEFINe)**
- Multiple adjunctive host-directed TB therapies for drug-susceptible TB **(TBHDT)**

Phase III[a]

- Bedaquiline (TMC-207)[b]
- Delamanid (OPC-67683)[b]
- Pretomanid
- Clofazimine
- High-dose rifampicin for treatment of drug-susceptible TB
- Rifapentine for treatment of drug-susceptible TB
- Bedaquiline–delamanid–linezolid–levofloxacin–clofazimine (6-month oral regimen for RR-TB) or bedaquiline–delamanid–linezolid–clofazimine (6–9 month oral regimen for pre-XDR and XDR-TB) **(BEAT TB trial)**
- Bedaquiline–pretomanid–moxifloxacin–pyrazinamide (BPaMZ) **(SimpliciTB trial)**
- Bedaquiline–pretomanid–linezolid **(NiX-TB trial)**
- Bedaquiline–pretomanid–linezolid **(ZeNix trial)** - Linezolid optimization
- Bedaquiline with two OBRs[c] (all-oral, 9 months; with injectable, 6 months) **(STREAM trial)**
- Bedaquiline–linezolid–levofloxacin with OBR[c] for MDR-TB **(NExT trial)**
- Bedaquiline and delamanid with various existing regimens for MDR-TB and XDR-TB **(endTB trial)**
- Bedaquiline-delamanid-linezolid-clofazamine for fluoroquinolone-resistant MDR-TB **(endTB-Q)**
- Rifapentine–moxifloxacin for treatment of drug-susceptible TB **(TB Trial Consortium Study 31/A5349)**
- Several 2-month regimens for drug-susceptible TB **(TRUNCATE-TB trial)**

XDR-TB = combined resistance to rifampicin, isoniazid, a fluoroquinolone and an injectable agent

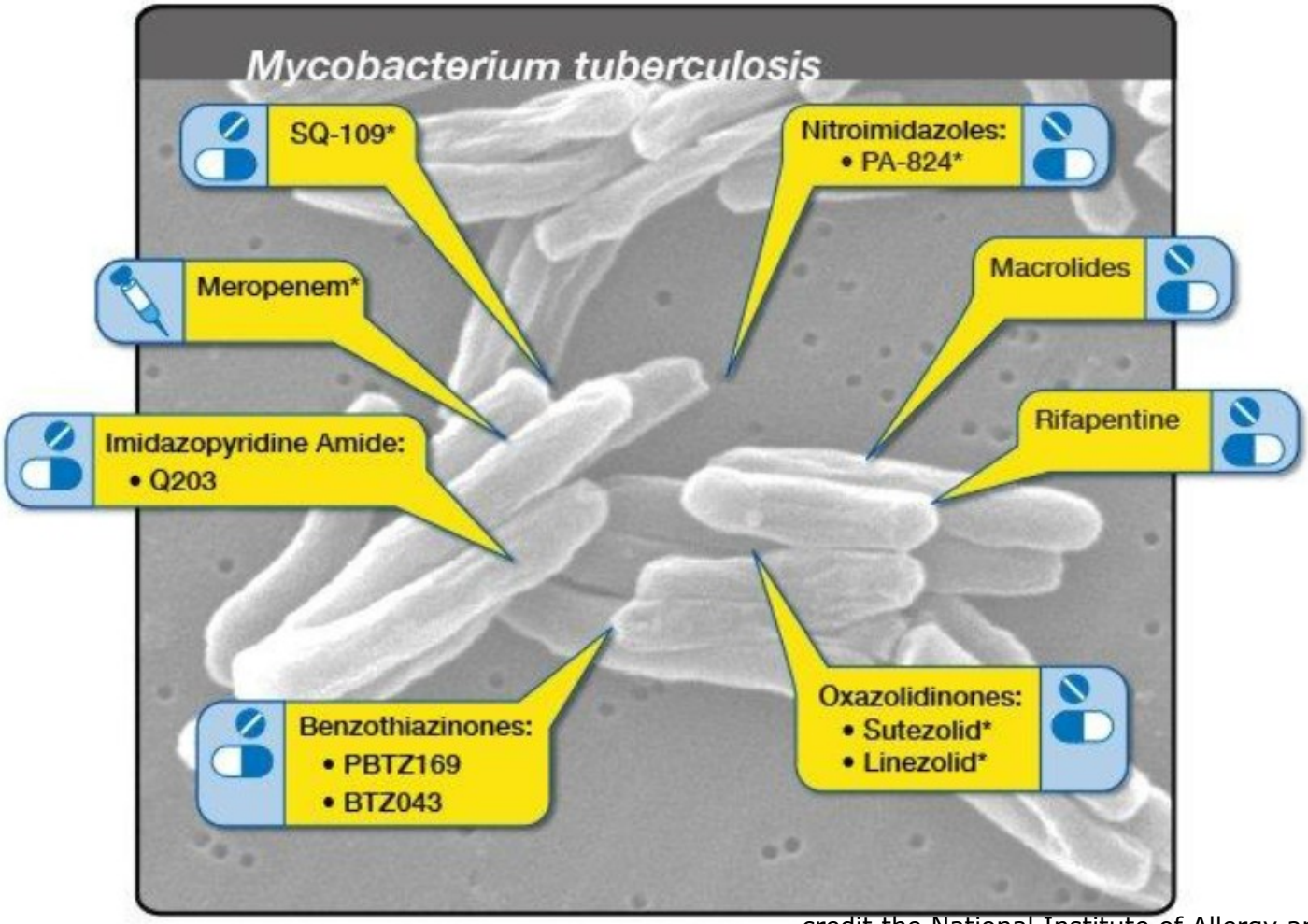
[a] New drug compounds are listed first, followed by repurposed drugs and then by regimens.

[b] New chemical class.

[c] Optimized background regimen.

Source: Adapted from the Working Group on New TB Drugs pipeline. More information on these products and other ongoing projects can be found at http://www.newtbdrugs.org/pipeline.php

Nové typy anti TBC léčiv, některé z nich „repurposing“



credit the National Institute of Allergy and Infectious Diseases

Nová antituberkulotika (I)

Bedachilin

- Diarylchinolon
- Pro léčbu dospělých > 18 let, nutno kontrolovat elektro**kardiogram,**
- doba podávání 24 týdnů
- vždy v kombinaci alespoň se čtyřmi dalšími ATM s citlivostí u izolátů MDR- TB,
- Je metabolizován enzymem CYP3A4 (proto nekombinovat s induktory tohoto enzymu např. rifampicinem… i když as ohledem na fakt, že MDR kmeny jsou rifampicin R, není to pravděpodobné)

Nová antituberkulotika (II)

- **Delamanid**
  - Dospělí pacienti
  - MDR-TB
  - doba podávání 24 týdnů
  - Málo účinný na XDR kmeny
  - Monitorování – elektrokardiogram v průběhu léčby

TB a info v regionu Evropy

European Centre for Disease Prevention and Control
An agency of the European Union

All sections | Enter your keyword(s)

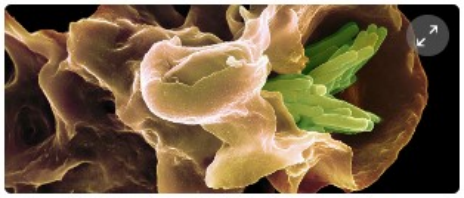
Infectious disease topics | Data | Analysis and guidance | Training and tools | About ECDC

Home > Infectious disease topics > A–Z disease list > Tuberculosis

- A–Z disease list
- **Tuberculosis**
  - Facts
  - Communication
  - Prevention and control
  - Surveillance and disease data
  - Threats and outbreaks
  - Microbiology
  - Antimicrobial resistance
  - World Tuberculosis Day

Tuberculosis

Translate this page



Tuberculosis (TB) is a severe infectious disease caused by various strains of mycobacteria, most commonly *Mycobacterium tuberculosis*. TB affects the lungs (pulmonary tuberculosis), but can also manifest outside the lungs (extrapulmonary tuberculosis). People are infected with TB by inhaling airborne droplets produced by infectious TB carriers - for example when coughing or sneezing. Latent tuberculosis infection (LTBI) carriers are asymptomatic and not infectious. About 10% of those with LTBI develop active TB. Read more facts about tuberculosis

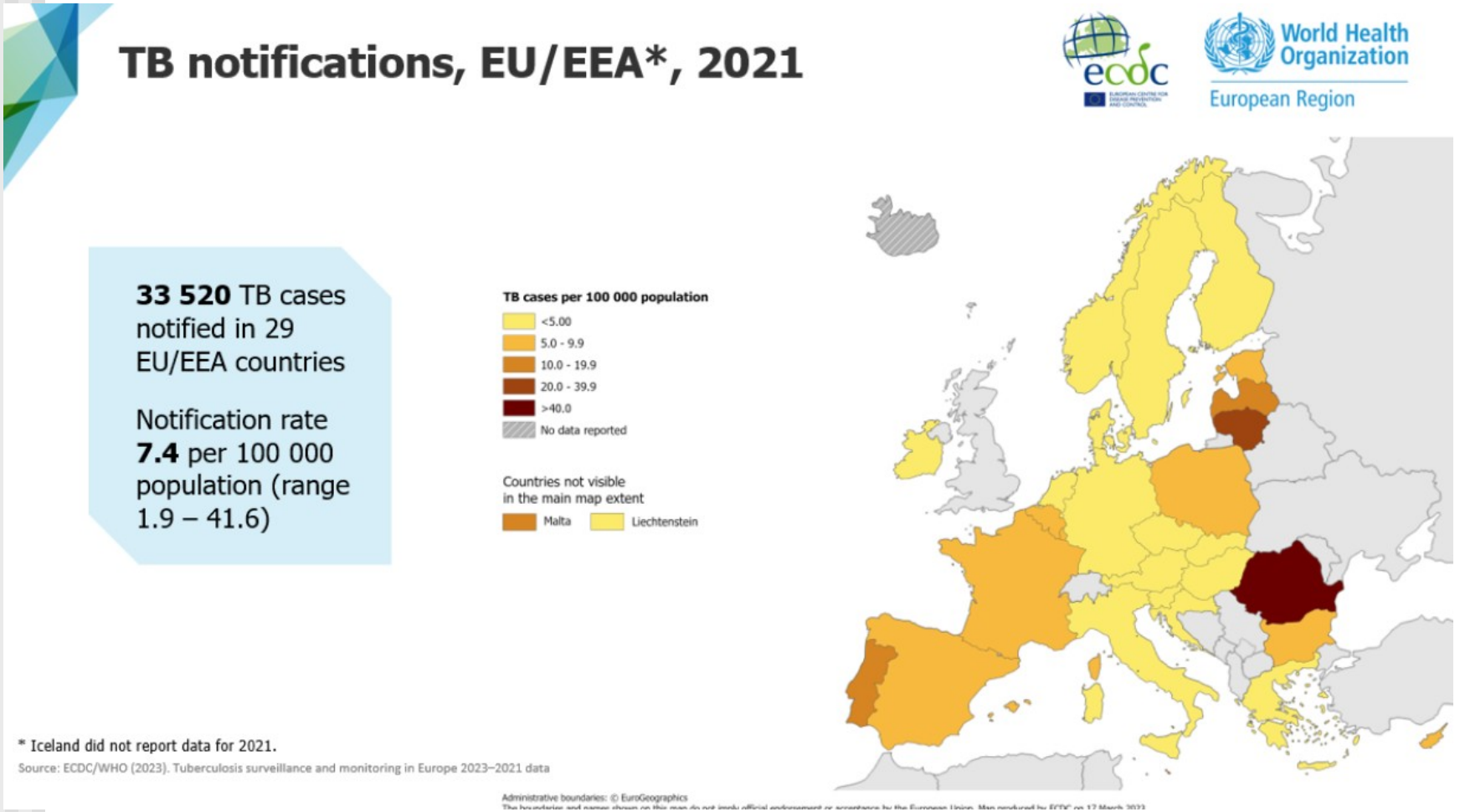
Latest updates

Reports and news | Maps | Infographics | Peer-reviewed publications

News
ECDC: On Air - Episode 34 - Yes! We Can End TB!
News story - 24 Mar 2023

News
World Tuberculosis Day 2023
24 Mar 2023

TB notifikace, EU/EEA, 2021

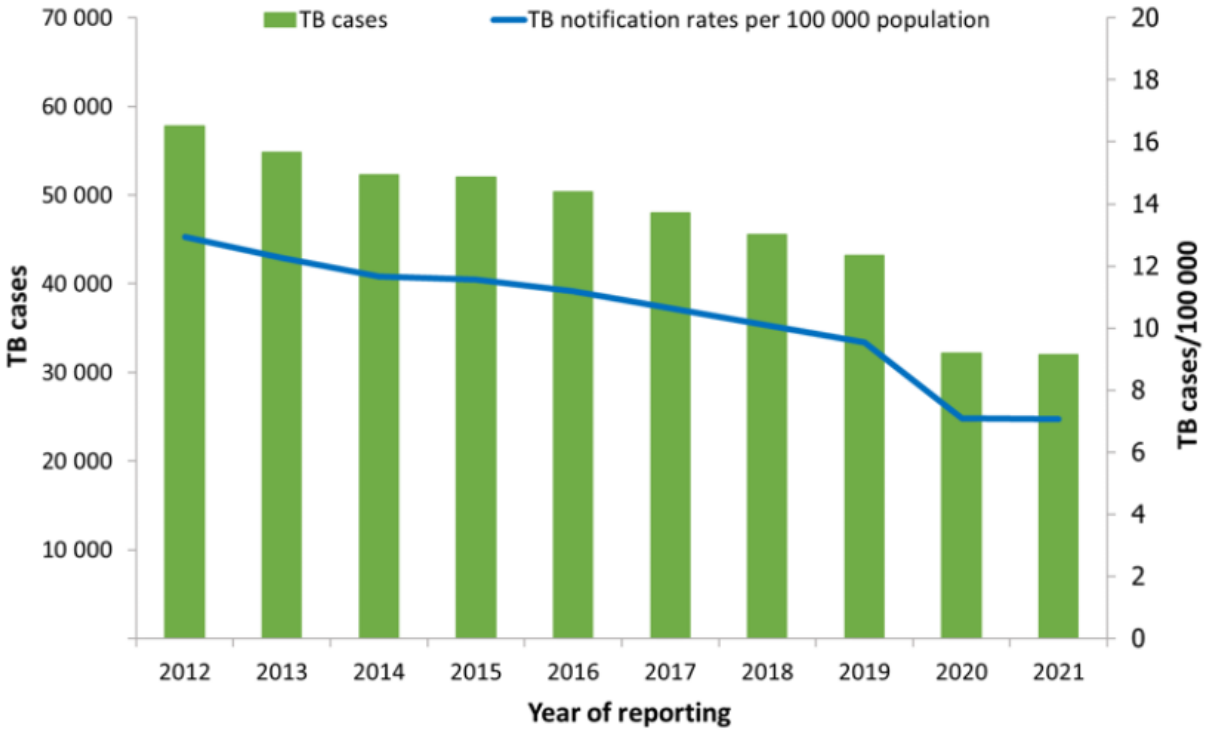


Notifikované případy – pokles 2012 - 2021

Notified TB cases, EU/EEA*, 2012–2021

Continuous decline between 2012 and 2021:

- Number of TB cases decreased by **45%**
- Notification rate decreased by **45%**



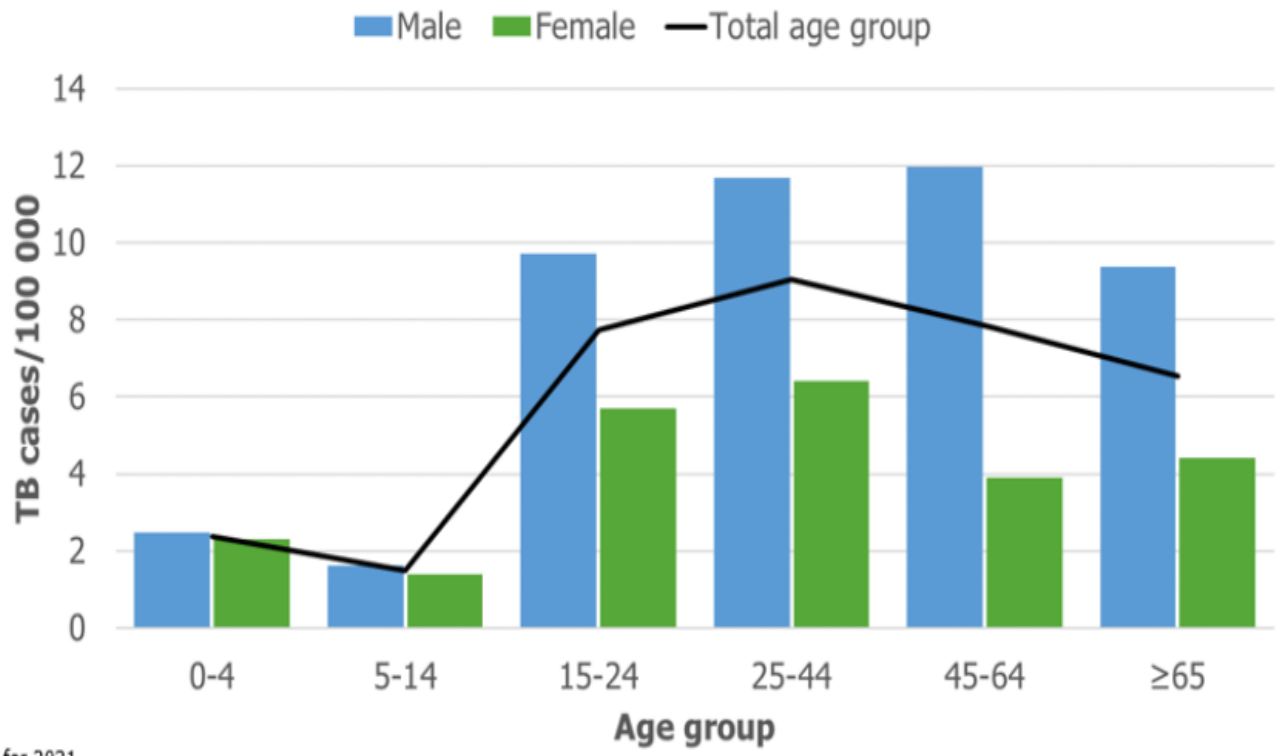
* Latvia did not report data for 2018, 2019 and 2020; Liechtenstein did not report data for 2019; and Iceland did not report data for 2021.

Source: ECDC/WHO (2023). Tuberculosis surveillance and monitoring in Europe 2023–2021 data

TB notifikační poměry dle pohlaví a věku EU/EEA, 2021

Nejvíce notifikovaných: skupina **25–44 years** (9,4 per 100 000)

Muži výrazně více ve všech skupinách nad 14 let



* Iceland did not report data for 2021.

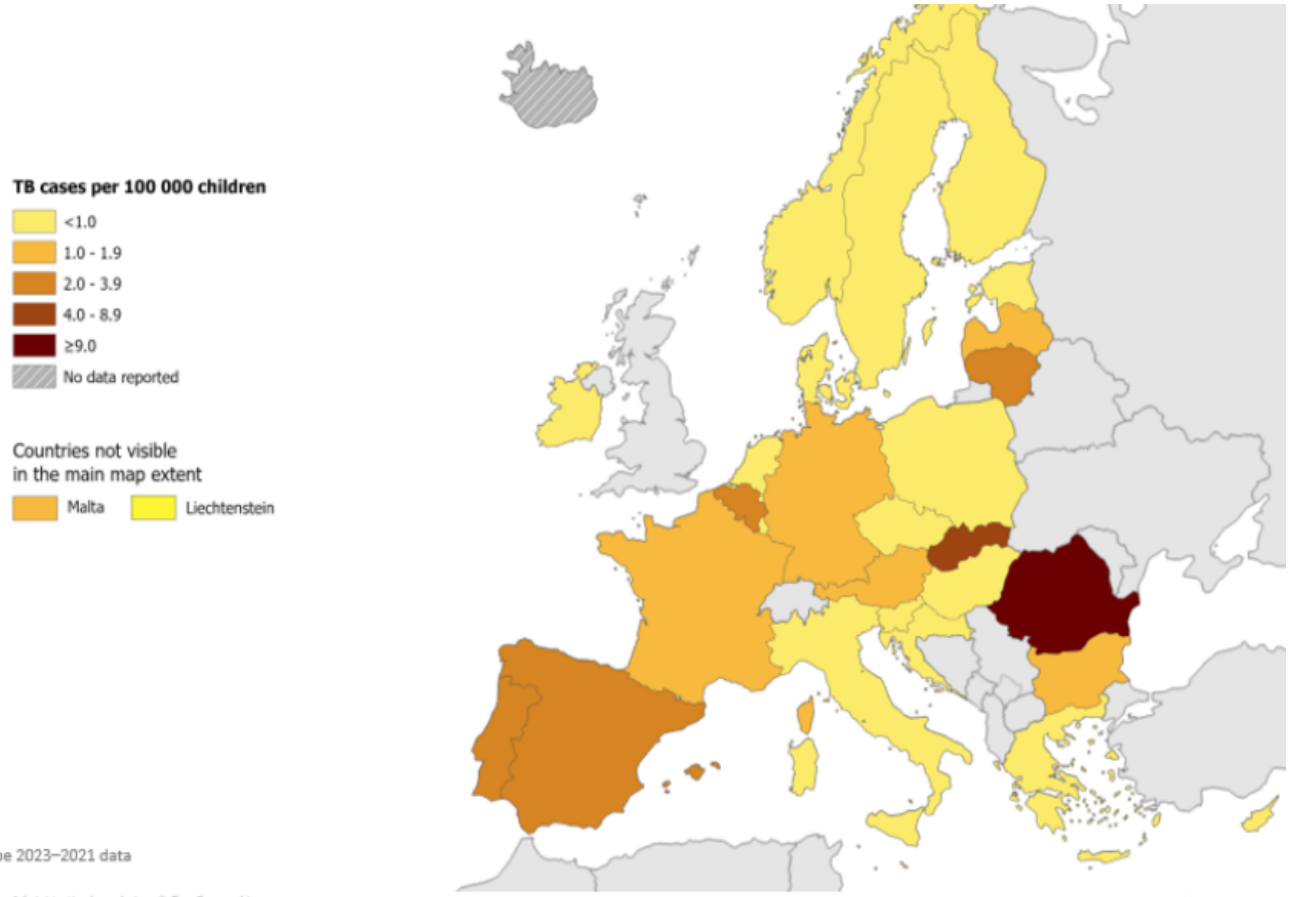
Source: ECDC/WHO (2023). Tuberculosis surveillance and monitoring in Europe 2023–2021 data

TB u dětí mladších 15 let, EU/EEA, 2021

1 116 TB u dětí mladších 15 let

3.3% ze všech hlášených TB případů (napříč státy jsou rozdíly, rozmezí 0–29,9%)

1,6 na 100 000 v rámci populace dětí (napříč státy jsou rozdíly, rozmezí 0–9,3)



* Iceland did not report data for 2021.

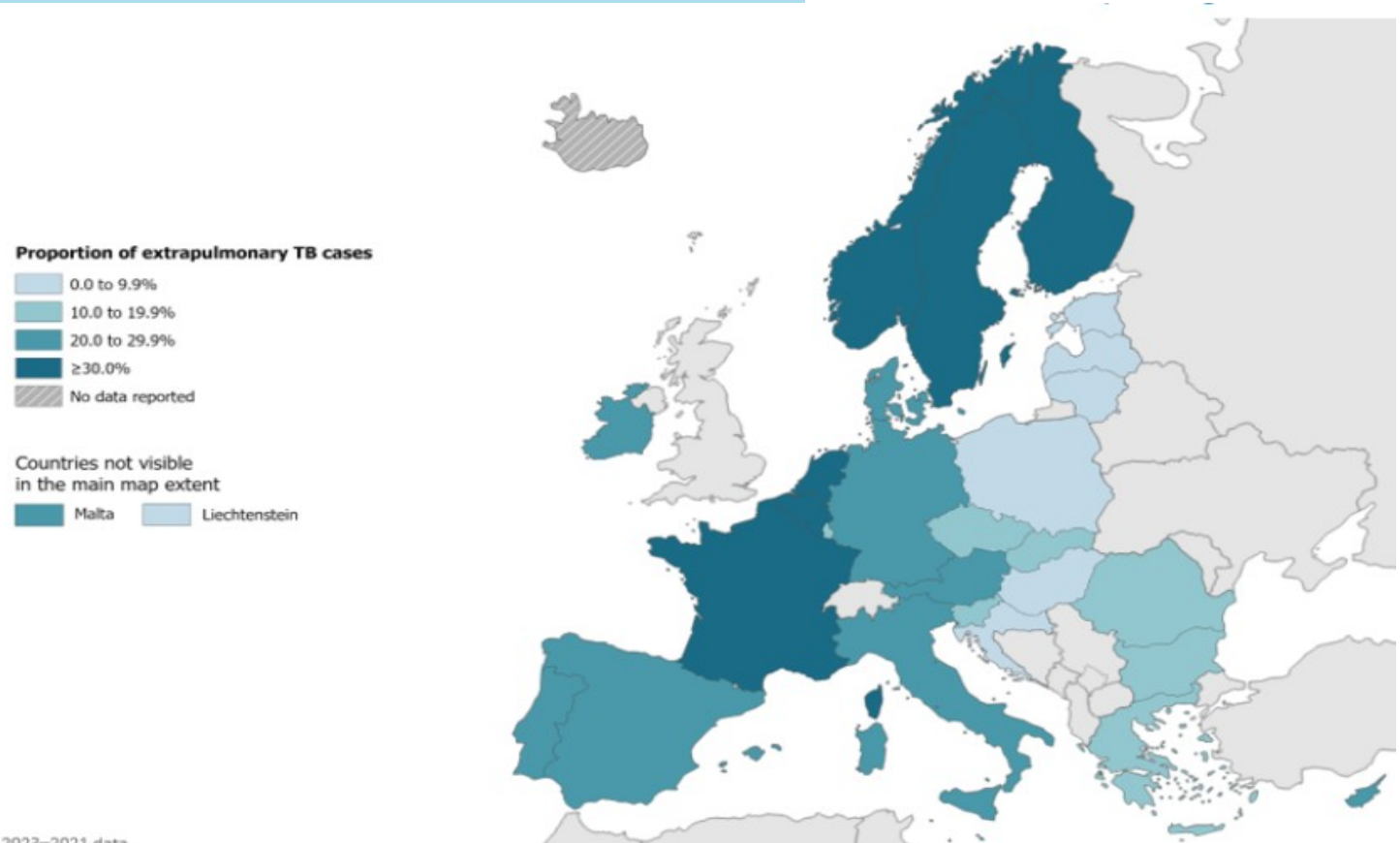
Source: ECDC/WHO (2023). Tuberculosis surveillance and monitoring in Europe 2023–2021 data

Source: ECDC/WHO (2020). Tuberculosis surveillance and monitoring in Europe 2022 : 2020 data

Extrapulmonární TB EU/EEA, 2021

7 026 notifikovaných bylo extrapulmonární TB

21% všech TB případů (velké rozdíly mezi státy, rozmezí 0,0 – 45,2%)



MDR TB, EU/EEA,2021

(případy, kde byly dostupné testy citlivosti na léčiva)

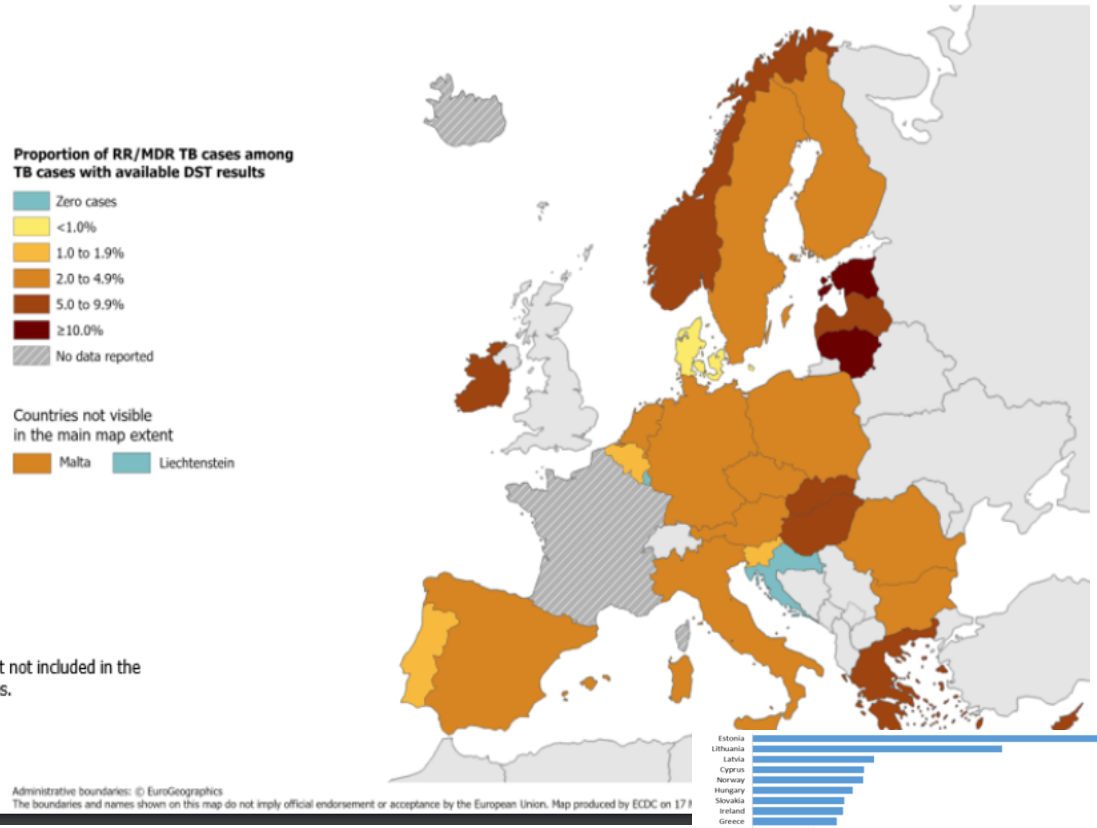
RR/MDR TB cases with available DST results, EU/EEA*, 2021

ecdc

World Health Organization
European Region

770 RR/MDR TB cases notified by 29 EU/EEA countries* among cases with available DST results

4.1% of all TB cases with available DST† results had RR/MDR TB (range 0.0–28.0%, excluding France)

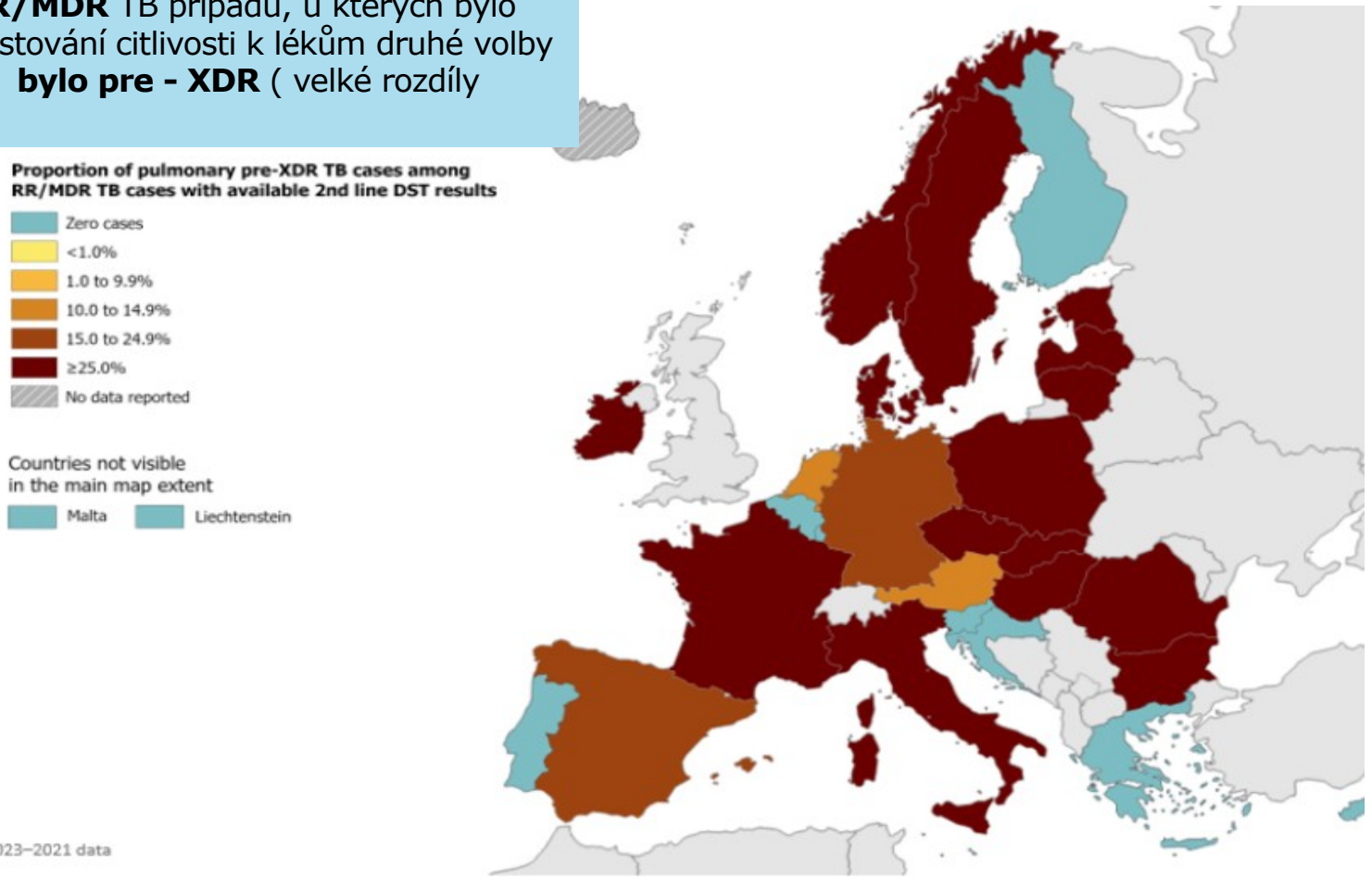


† Data from France included in the total cases notified and percentage, but not included in the range or the map, as DST results are only available for RR/MDR TB cases.
Iceland did not report data for 2021.
DST – drug susceptibility test.

Source: ECDC/WHO (2020). Tuberculosis surveillance and monitoring in Europe 2020–2018 data

Pre- XDR pulmonární TB EU/EEA, 2021

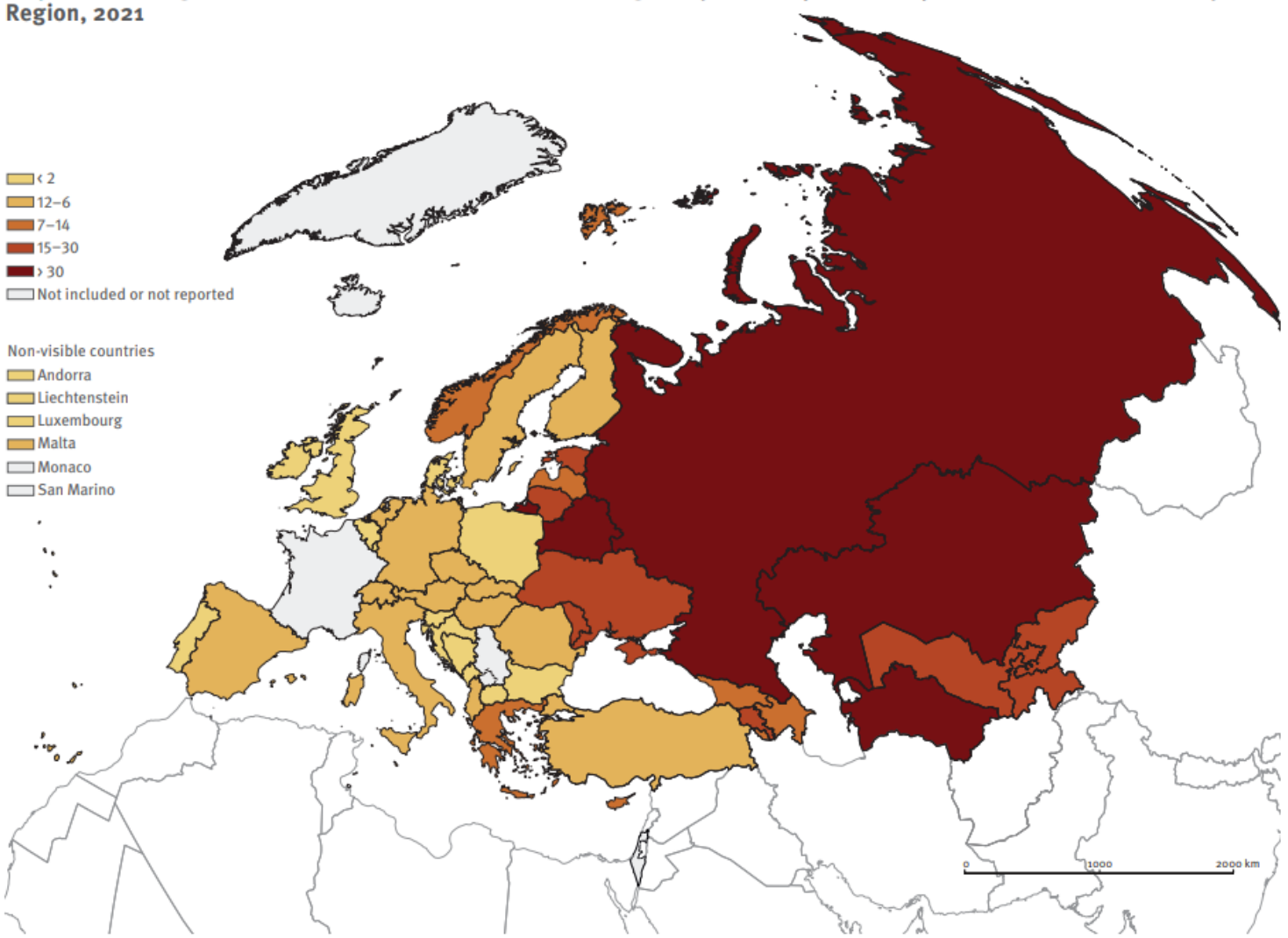
28,5 % z RR/MDR TB případů, u kterých bylo provedeno testování citlivosti k lékům druhé volby (second line**)** **bylo pre - XDR** (velké rozdíly mezi státy)



Source: ECDC/WHO (2020). Tuberculosis surveillance and monitoring in Europe 2020–2018 data

Tuberkulóza % notifikovaných případů s RR/MDR v rámci plicní formy TBC v Evropě (včetně států mimo EU/EEA) v roce 2021 : publikováno 2023

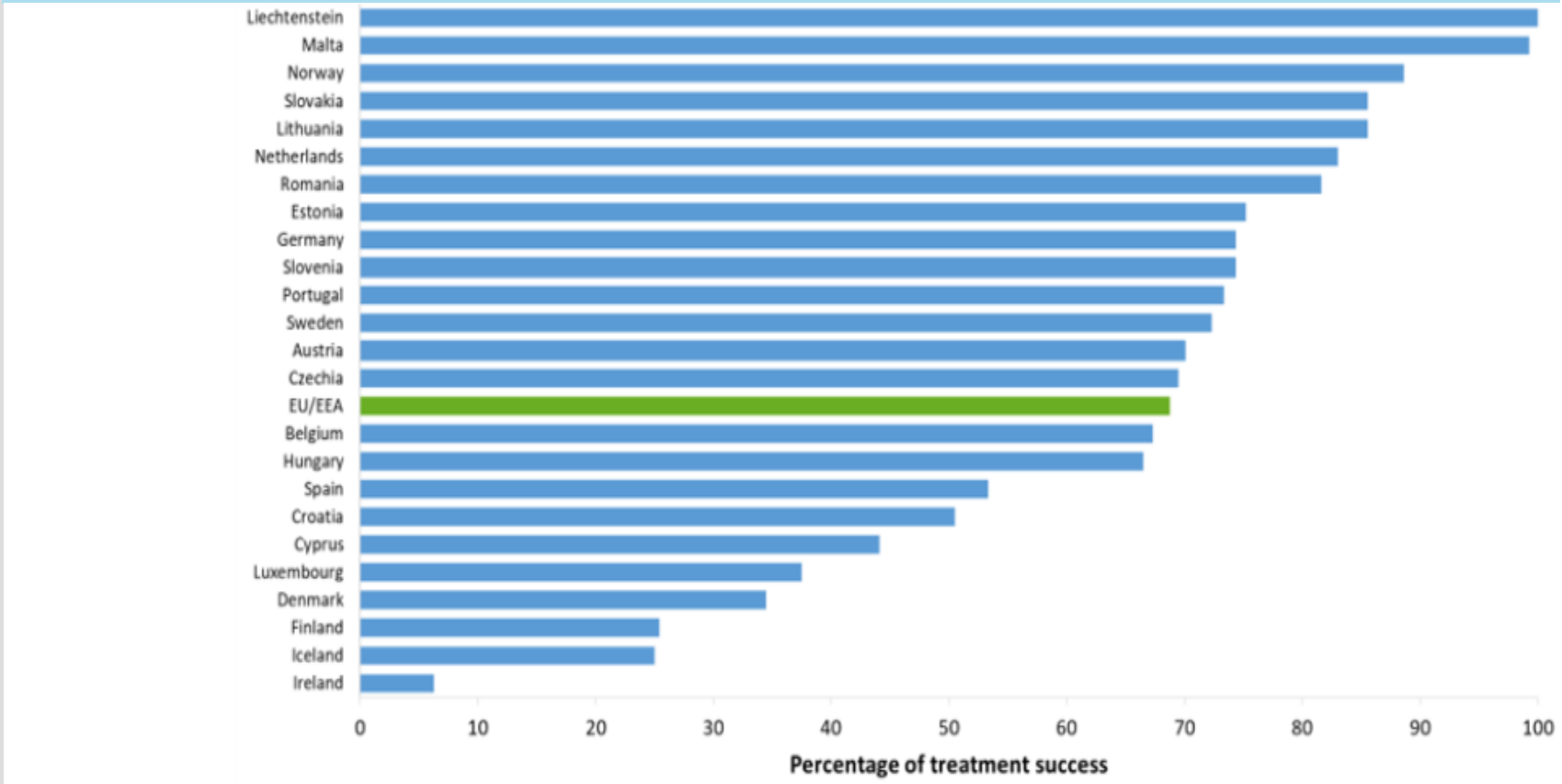
Map 2. Percentage of notified TB cases with RR/MDR among new pulmonary laboratory-confirmed TB cases, European Region, 2021



Sources: 2021 data from the European Surveillance Systems (TESSy) and 2021 data from the WHO global TB data-collection system. Map production: ©ECDC.

Úspěšnost léčby případů z roku 2020 (v roce 2021), EU/EEA

71,7% všech TB případů*, které měly úspěšnou léčbu do 12 měsíců od dg



Six EU/EEA countries did not report treatment outcome data: Bulgaria, France, Greece, Italy, Latvia, Poland.
Iceland did not report data for 2021; 2020 data contained information on treatment success.

Source: ECDC/WHO (2020). Tuberculosis surveillance and monitoring in Europe 2020–2018 data

Czechia

Total population at 23 April 2022 by EUROSTAT: 10 701 777

TB cases, 2021

Notifications

Total number of cases	357	
Notification rate per 100000	3.3	
New* and relapse	352	
New* and relapse notification rate per 100000	3.3	
Pulmonary	321	(89.9%)
of which microscopy-positive	171	(53.3%)
of which laboratory-confirmed	271	(84.4%)
Laboratory-confirmed TB cases	298	(83.5%)
Mean age of new native TB cases	52.8 years	
Mean age of new foreign TB cases	40.1 years	
Foreign origin of all TB cases	132	(37.0%)
New (not previously treated)	332	(93.0%)
Estimates		
Estimated new and relapse cases N, best [low–high]	400	[350–470]

* Cases with unknown previous TB history included in new cases.

Drug resistance surveillance and TB/HIV coinfection, 2021

Completeness of DRS data*	Yes	
Completeness of HIV data*	Yes	
Case-linked data-reporting	Yes	
Cases with DST results	278	(93.3%)
Estimated RR-TB among notified bacteriologically confirmed pulmonary TB cases N, best [low–high]	11	[7–14]
Pulmonary RR/MDR-TB cases notified	9	(3.5%)
of which pre-XDR-TB cases	2	(22.2%)
Notified RR/MDR-TB	10	(3.6%)
of which pre-XDR-TB cases	2	(20.0%)
TB cases tested for HIV	212	(59.4%)
HIV-positive TB cases	7	(3.3%)
of these on ART	–	–

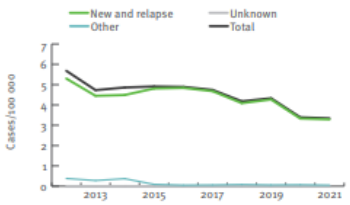
* National coverage 100% or culturing ≥ 90%, C+/all TB cases >50%, DST done for C+ >75%, EQA ≥ 95%.
* More than 50% of TB cases with reported HIV status.

Treatment outcome monitoring

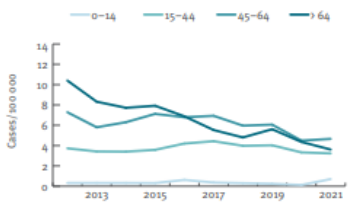
Geographical coverage	National			
Outcome cohort	New culture-positive pulmonary TB cases notified in 2020*		All RR/MDR-TB cases notified in 2019*	
Case-linked data-reporting	Yes		–	
Cases notified	239		8	
Success	152	(63.6%)	4	(50.0%)
Died	41	(17.2%)	1	(12.5%)
Failed	1	(0.4%)	0	(0.0%)
Lost to follow-up	31	(13.0%)	1	(12.5%)
Still on treatment	9	(3.8%)	0	(0.0%)
Not evaluated	5	(2.1%)	2	(25.0%)

* Treatment outcome as presented is treatment outcome after 12 months.
* Treatment outcome as presented is treatment outcome after 24 months.

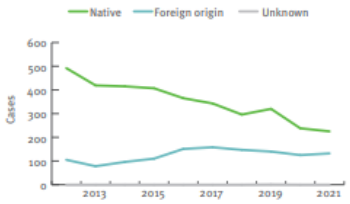
TB notification rates by previous treatment history, 2012–2021



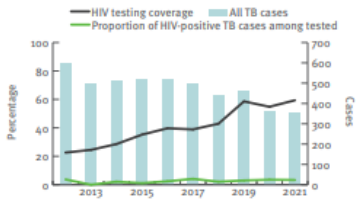
New and relapse TB cases – notification rates by age group, 2012–2021



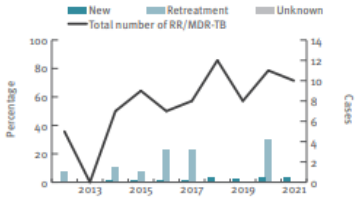
TB cases by geographical origin, 2012–2021



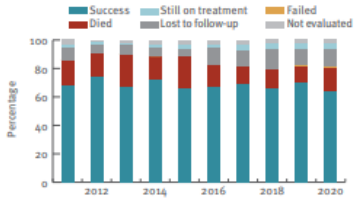
TB/HIV coinfection, 2012–2021



RR/MDR-TB cases and percentage of RR/MDR-TB cases by previous treatment history among all TB cases, 2012–2021



Treatment outcome, new culture-confirmed pulmonary TB cases, 2011–2020



Ukraine

Total population estimate 2021 by United Nations Statistical Database: 43 531 422

TB cases, 2021

Notifications

Total number of cases	19793	
Notification rate per 100000	45.5	
New* and relapse	18307	
New* and relapse notification rate per 100000	42.1	
Pulmonary	18199	(91.9%)
of which microscopy-positive	–	–
of which laboratory-confirmed	13571	(74.6%)
Laboratory-confirmed TB cases	–	–
Mean age of new native TB cases	44.8 years	
Mean age of new foreign TB cases	–	
Foreign origin of all TB cases	32	(0.2%)
New (not previously treated)	14667	(74.1%)
Estimates		
Estimated new and relapse cases N, best [low–high]	31000	[20000–44000]

* Cases with unknown previous TB history included in new cases.

Drug resistance surveillance and TB/HIV coinfection, 2021

Completeness of DRS data*	Yes	
Completeness of HIV data*	Yes	
Case-linked data-reporting	Yes	
Cases with DST results	13214	(97.4%)
Estimated RR-TB among notified bacteriologically confirmed pulmonary TB cases N, best [low–high]	4800	[4700–4900]
Pulmonary RR/MDR-TB cases notified	4025	(30.5%)
of which pre-XDR-TB cases	994	(30.4%)
Notified RR/MDR-TB	4046	
of which pre-XDR-TB cases	1015	(25.1%)
TB cases tested for HIV	17991	(98.3%)
HIV-positive TB cases	3646	(20.3%)
of these on ART	3354	(92.0%)

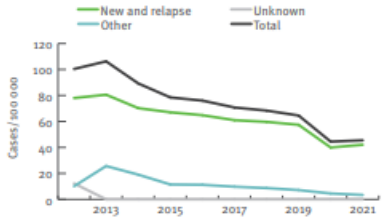
* National coverage 100% or culturing ≥ 90%, C+/all TB cases >50%, DST done for C+ >75%, EQA ≥ 95%.
* More than 50% of TB cases with reported HIV status.

Treatment outcome monitoring

Geographical coverage	National			
Outcome cohort	New and relapse TB cases notified in 2020*		RR/MDR TB cases enrolled into DR-TB treatment in 2018*	
Case-linked data-reporting	Yes		–	
Cases notified	13218		7359	
Success	10232	(77.4%)	4460	(61.4%)
Died	1377	(10.4%)	969	(13.3%)
Failed	852	(6.4%)	907	(12.5%)
Lost to follow-up	744	(5.6%)	918	(12.6%)
Not evaluated	13	(0.1%)	5	(0.1%)

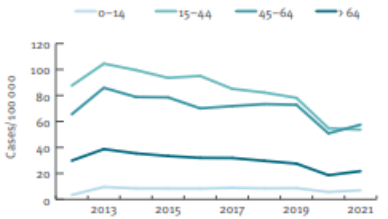
* Treatment outcome as presented is treatment outcome after 12 months.
* Treatment outcome as presented is treatment outcome after 24 months.

TB notification rates by previous treatment history, 2012–2021



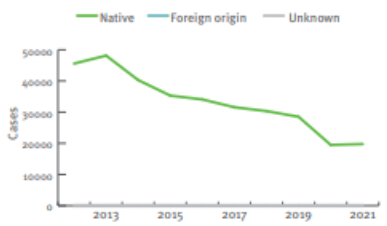
Note: starting from 2013, cases with unknown history are included in new and relapses.

New and relapse TB cases – notification rates by age group, 2012–2021

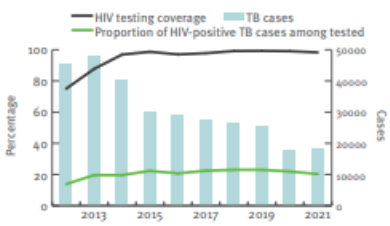


Note: 2012 data include new TB cases only.

TB cases by geographical origin, 2012–2021

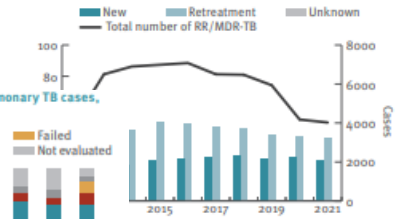


TB/HIV coinfection, 2012–2021



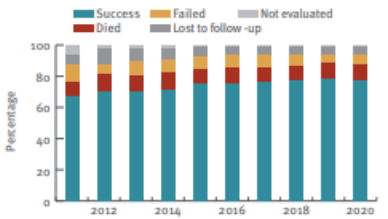
Note: data up to 2014 include all TB cases.

RR/MDR-TB cases and percentage of RR/MDR-TB cases by previous treatment history among all TB cases, 2012–2021



on the basis of all new, retreated and unknown cases, meaning sometimes be over 100% for a particular year.

Treatment outcome, new and relapse TB cases, 2011–2020

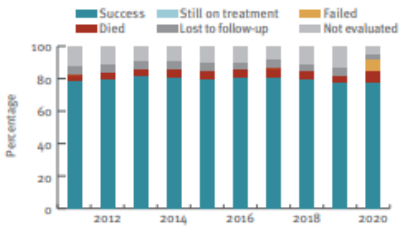


Note: 2011 cohort includes new cases only.

United Kingdom

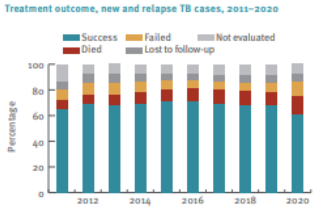
Total population: at 23 April 2022 by EUROSTAT: 67 281 040

Treatment outcome, new culture-confirmed pulmonary TB cases, 2011–2020



Russian Federation

Treatment outcome, new and relapse TB cases, 2011–2020



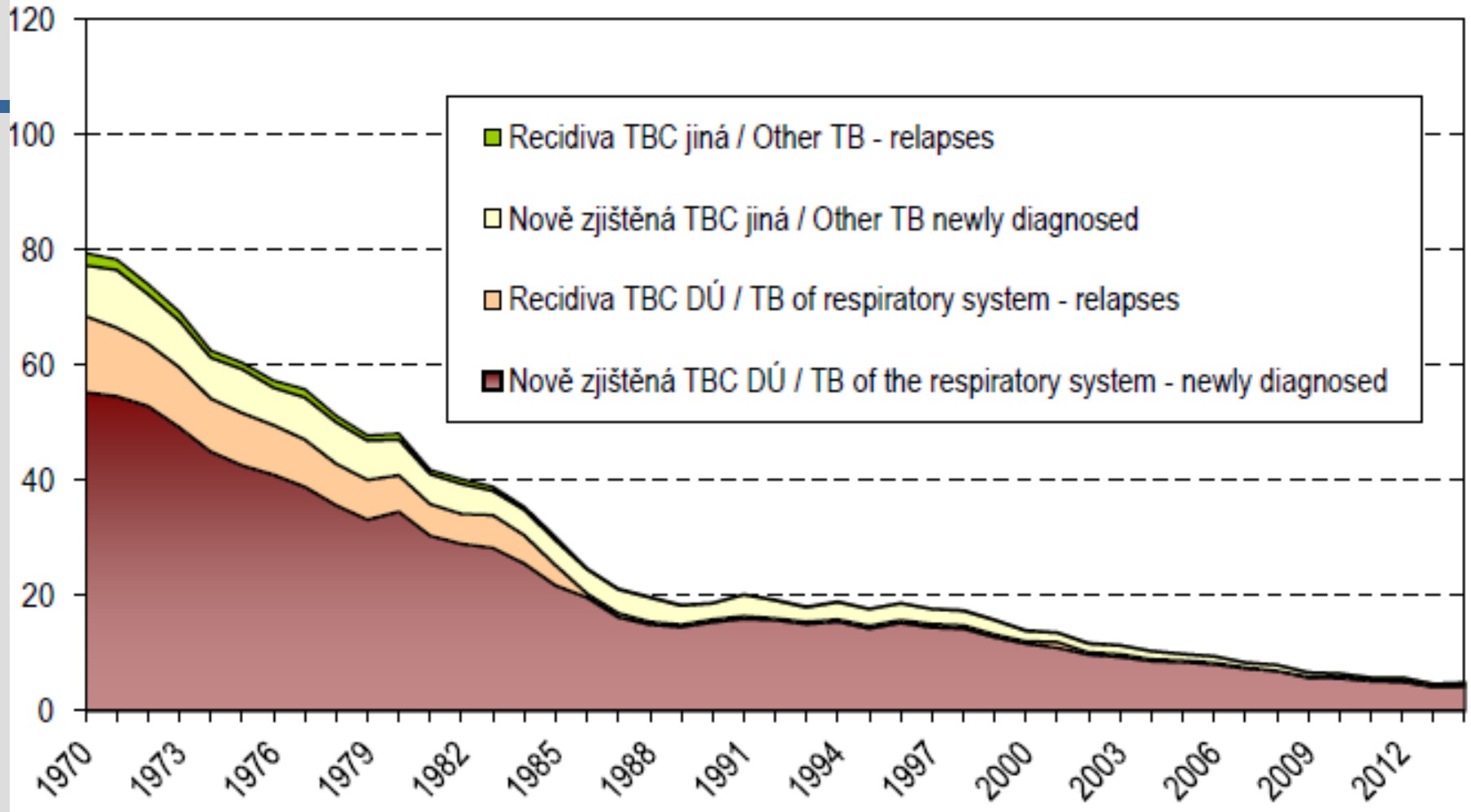
Note: 2011 cohort includes new cases only.

Zdroj ECDC

pozn. žluté = selhání léčby

Vývoj počtu hlášených onemocnění TBC na 100 000 obyvatel

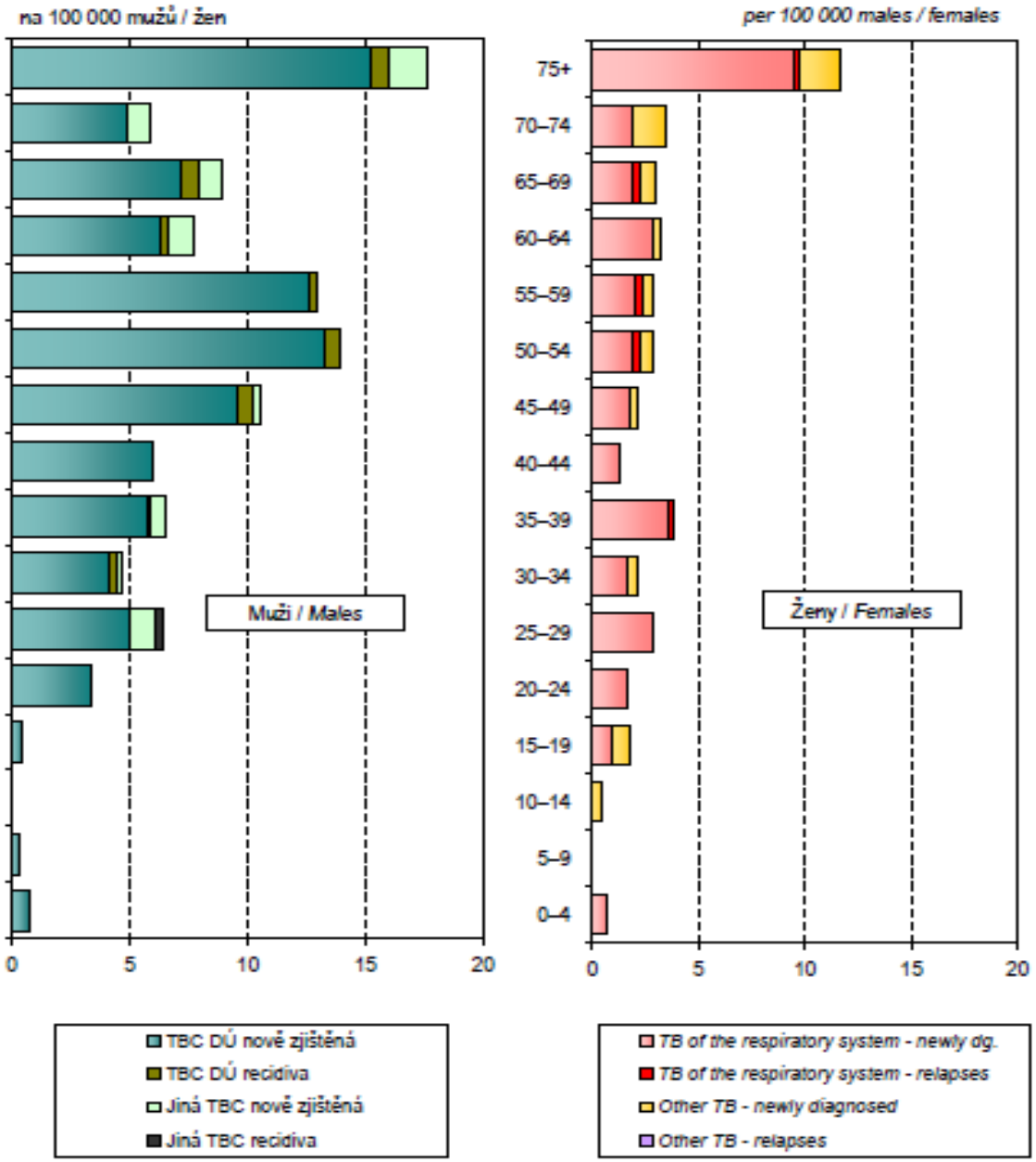
Trend of notified cases of TB per 100 000 inhabitants



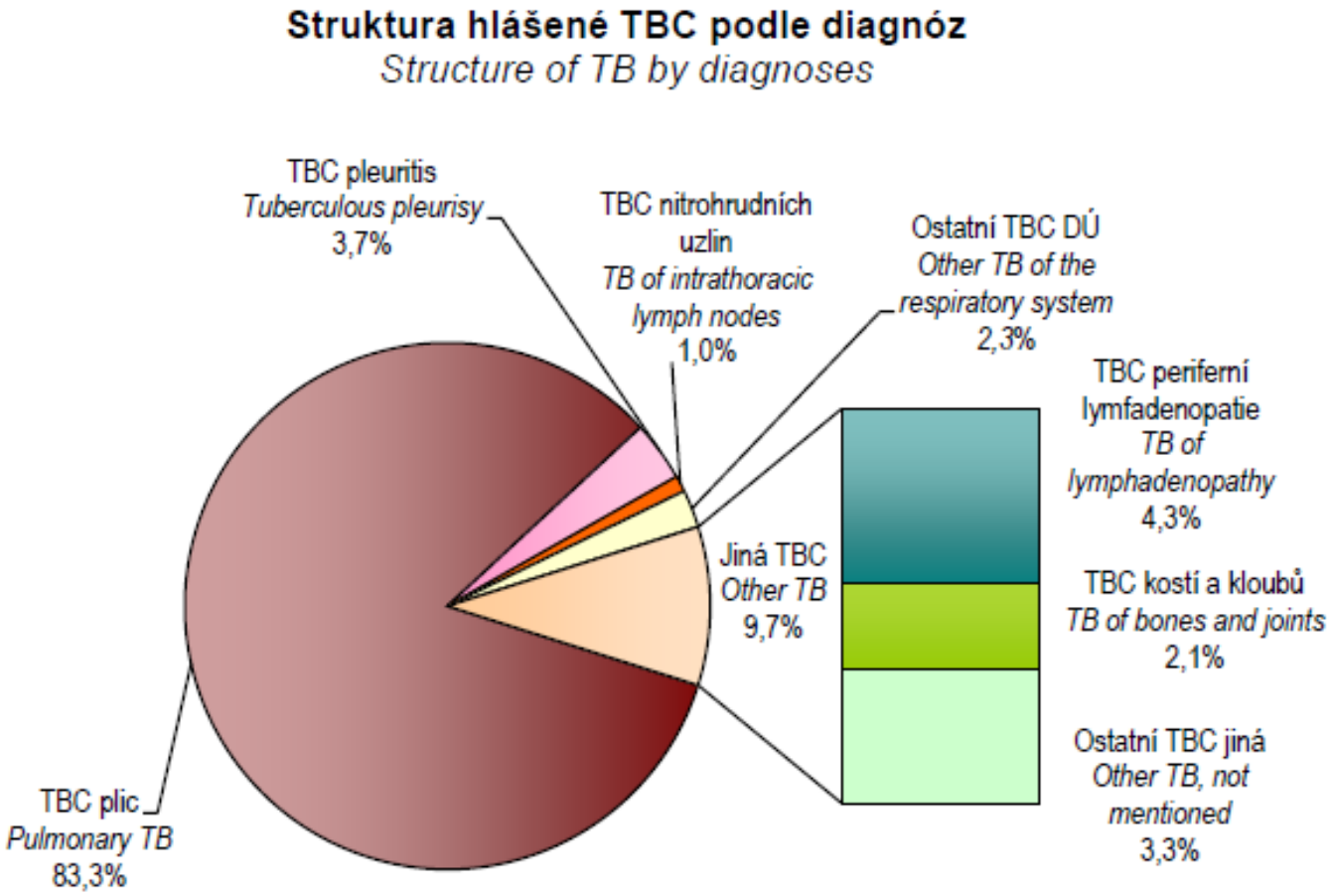
Pozn. Graf přestože zde nejsou nejnovější data ukazuje na dlouhodobý trend (>40let)

Struktura TBC podle věku

Age structure of TB cases



Typy TBC v ČR-2014



Léčba TBC onemocnění- příklad z ČR s daty 2014

Podle výsledků kontrolních hlášení- Registr TBC:

trvala léčba nemocných antituberkulotiky (2014):

- do 26 týdnů (46%), 27–39 týdnů (43%)
- 95% případů reportováno jako vyléčených
- Hospitalizace nemocných probíhala v nejvíce případech (36%) po dobu 61–90 dnů.
- Nejběžněji podávanými antituberkulotiky byly isoniazid a rifampicin.
- **Rezistence 2015:** celkem 368 vyšetřených pacientů
  - R izoniazid 20 (5,4 %)
  - R streptomycin 15 (4,1 %)
  - R rifampicin 10 (2,7 %)
  - R ethambutol 5 (1,4 %)

Statistiky TBC ČR

Situace ČR 2021

- 2021 hlášeno celkem **357** onemocnění tuberkulózou všech forem a lokalizací,
- **3,4 případu na 100 000 obyvatel** – dlouhodobě trend poklesu, ČR země s nízkým výskytem TB

- **322 případů (90,2 %)** plicní TBC, mimoplicní TBC byla hlášena u 35 osob
- Výskyt TBC je mnohem častější u mužů než u žen (muži 70 % případů
- Věk nejčastěji **55–59 let muži** a ženy **25-29 let** a **90 a více let.**
- 2020/2021 vzrostl počet nemocných ve věku do 14 let.

- **132** (37%) nahlášených osob narozených mimo ČR s onemocněním TBC.
- Nejvíce nemocných pocházelo z Ukrajiny (35 osob), Rumunska (17 osob), Slovenska (15 osob), Vietnamu (15 osob), Mongolska (12 osob) a Indie (10 osob)

- Citlivost testována ze vzorků od 274 pacientů
  - 26 případů (9,5 %) rezistence na isoniazid,
  - 24 případů (8,8 %) rezistence na streptomycin,
  - 8 případů (2,9%) rezistence na pyrazinamid
  - 11 případů (4,0%) rezistence na rifampicin
  - 7 případů (2,6%) rezistence na etambutol

- Multirezistence byla zjištěna v 10 případech (3,6 %).

Testování citlivosti *Mycobacterium tuberculosis* na základní antituberkulotika

Souhrn z:

"Návrhu doplnění Doporučených standardních metod v mikrobiologii mykobakteriálních infekcí"

- Zdroj: Havelková M., Mezenský L., :Testování citlivosti *Mycobacterium tuberculosis* na základní antituberkulotika - Návrh doplnění Doporučených standardních metod v mikrobiologii mykobakteriálních infekcí,

  Zprávy CEM, 9/2003; 389 - 391

Do „Doporučených standardních metod v mikrobiologii mykobakteriálních infekcí“ byly nově začleněny v souladu s nejnovějšími poznatky v této oblasti:

- **Molekulárně biologické metody** (zvláště průkaz DNA/RNA mykobakterií komplexu *M. tuberculosis)*
- **Metody průkazu mykobakterií v různých detekčních systémech** založených na metabolických aktivitách (typ Bactec nebo MB/BacT ("urychlená kultivace")
- Doplnění 2003 - popis stanovení citlivosti na základní antituberkulotika v automatizovaných systémech Bactec MGIT 960 (Becton Dickinson) a MB/BacT (Organon Teknica).

Reference protocol for MIC determination of anti-tuberculous agents against isolates of the *Mycobacterium tuberculosis* complex in Middlebrook 7H9 broth

Version 6.1. 4th of July, 2019.

Appendix 1. Plate outline (7H9 AMST In-house).

1. **First step: Preparation of broth and anti-tuberculous agents:**
   - 1.1. A 96-well U-bottom-shaped polystyrene plate should be used. Plates or tubes made of polypropylene or other plastic material should not be used. When the plates have been prepared they should be used as soon as possible (within the same day).
   - 1.2. For each agent, MIC determination should be done by testing at least 8 concentrations in separated wells to cover the full range of potential MIC values (outlined in Table 1 and Appendix 1).
   - 1.3. Prepare Middlebrook 7H9 medium (7H9) from the base, according to the manufacturer's instructions. After the medium is autoclaved, allow to cool to 50°C in a pre-warmed water bath before adding 10% OADC which should be pre-warmed to room temperature (RT; 18-22°C). For each 96-well plate, 10 mL of ready-made 7H9/OADC broth is needed.
   - 1.4. A stock solution should be prepared as outlined in Table 1, by dissolving the active agent in its solvent as recommended in the ISO-20776-1 standard or if not listed, per recommendation by the manufacturer. As an example, if a stock solution of 10,240 mg/L is needed, 102.4 mg will be dissolved in 10 mL of the solvent if the potency of the agent is 100%. The stock solution is then aliquoted into 0.2 mL/vials and may be stored at -80ºC for a maximum of 12 months unless otherwise specified by the manufacturer. Thawed vials should not be reused. Record ordering and batch number of all agents as well as date of stock solution preparation.
   - 1.5. Prepare a 4X working solution in two dilution steps in 7H9/OADC from an aliquot of a stock solution as outlined in Table 1 (example for isoniazid, levofloxacin and amikacin).
   - 1.6. Add 0.1 mL 7H9/OADC to all wells, except the peripheral wells, which will be filled in by sterile distilled water, as described in Appendix 1, in order to prevent desiccation during the incubation time.

EUCAST referenční metoda

- EUCAST **referenční** metoda MIC bujónová mikrodiluční
- půda Middlebrook 7H9-10% OADC
- final inoculum 10^5 CFU/mL susp, 1:100 (dvakrát desetinásobné ředění) 0.5 McFarland suspenze (po rozmíchání na vortexu, kolonie se skleněnými kuličkami)
- U- tvar jamky, 96-jamková destička polystyren, sterilní, s víčkem
- Inkubace 36° ± 1°C.
- Odečet jakmile 1:100 rozředěná růstová kontrola (i.e. 10^3 CFU/mL susp) vykáže okem patrný nárůst
- Mycobacterium tuberculosis H37Rv ATCC 27294 referenční kmen s MIC range:
  - 0.03–0.12 isoniazid, 0.12–0.5 levofloxacin a 0.25–1 mg/L amikacin.

Pro stanovení citlivosti mykobakterií se používá standardně :

tzv. proporční metoda podle Canettiho na Löwenstein - Jensenově půdě bez škrobu.

- **Výhoda :**
  - relativní finanční nenáročnost,
- **Nevýhody**:
  - nestandardnost kultivačních půd s antituberkulotikem,
  - snížení účinnosti antituberkulotika při srážení L-J půdy
  - čas - výsledky jsou známy až po 4 týdnech

Nově tzv. "urychlené kultivace" a automatizované systémy (viz výše)

Automatizované systémy

- **Nevýhoda**
  - drahé vstupní náklady a dražší provoz
- **Výhody**
  - standardní vstupy
  - standardní provedení
  - výsledek do 5. až 7. dne

Stručně princip postupu :

- Zkumavky s inokulem (hustota upravena dle stupnice McFarlanda)
- Přidání příslušných suplementů
- Přidání antituberkulotika
- Kultivace a vyhodnocení

Hodnocení výsledků :

- **Citlivé kmeny** (s citlivostí na všechna zkoušená základní antituberkulotika) - výsledek lze ihned odeslat ošetřujícímu lékaři.
- **Kmeny se zjištěnou rezistencí na jedno nebo více antituberkulotik nebo nově zjištěné kmeny :**
  - 1) Mikroskopicky ověřit čistotu kultury obarvené dle Ziehl-Neelsena - acidorezistentní tyčky bez kontaminace
  - 2) Výsledky odeslat lékaři s komentářem a oznámením, že budou provedeny ověřovací testy klasickou proporční metodou.
  - 3) Shodu obou výsledků potvrdíme klinikovi.
  - 4) Neshodu výsledků - znovu rychlotest a po té oznámení výsledků klinikovi

Xpert MTB/RIF a Xpert Ultra diagnostické testy,

který může být iniciálním testem pro plicní tuberkulózu (nahrazujícím mikroskopii a testování citlivosti k rifampicinu)

Xpert MTB/RIF jako nahrazení mikroskopie nátěrů sputa:

Citlivost metody 85% všechny vzorky (mikr pozitivní i negativní). Specificita 98% všechny vzorky (mikr pozitivní i negativní). U HIV koinfikovaných citlivost 81%, specificita 98%.

Xpert MTB/RIF jako nahrazení fenotypového testu citlivosti k rifampicinu:

Citlivost metody 96%, Specificita 98% všechny vzorky (ve srovnání s fenotyp testem)

Xpert Ultra jako nahrazení mikroskopie nátěrů sputa:

Citlivost metody 90% všechny vzorky (mikr pozitivní i negativní). Specificita 96% všechny vzorky (mikr pozitivní i negativní). U HIV koinfikovaných citlivost 88%, specificita 95%.

Xpert Ultra jako nahrazení fenotypového testu citlivosti k rifampicinu:

Citlivost metody 94%, Specificita 99% všechny vzorky (ve srovnání s fenotyp testem)

Xpert MTB/RIF a Xpert Ultra diagnostické testy,

který může být iniciálním testem:
pro dospělé s pulmonár, extrapulmonární TB/ a detekovat R k rifampicinu,
pro děti ze sputa, stolice, nosohltan stěrů, gastric odběrů (detekce TB a rif R)

- **Dospělí extrapulmonární TB:**

  náhrada mikroskopie nátěrů a

  - **Xpert MTB/RIF:** Vzorky mozkomíšního moku (CSF), apirátu z mízních uzlin, biopsie mízních uzlin, pleurální tekutiny, moči, synoviální tekutiny, peritoneální tekutiny, tekutiny perikardu a krve
    - Citlivost metody 50% u pleurální až 97% u synoviální tekutiny, Specificita 79 ze vzorku biopsie mízních uzlin až 99% pleurální tekutiny
  - **Xpert Ultra**: CSF, pleurální tekutina, moč, synoviální tekutina
    - Citlivost metody 71% u pleurální až 00 vz biopsie mízních uzlin, Specificita 71% pleurální tekutina až 100% moč

  fenotypového testování R k rifampicinu

  - Citlivost metody 96-97%, Specificita 99% všechny vzorky (ve srovnání s fenotyp testem)

- **Děti – problém odběrů sputa, proto i další vzorky, srovnáváno s klasickou kultivací**
- Citlivost metody 46% vz z nosohltanu; 61% vz ze stolice; 65% vz ze sputa a 73% vz z GIT. Specificita u všech vz v rozmezí 98% až 100%.

  Pro test Rezistence k rifampicinu:

- Citlivost metody 90%, Specificita 99% všechny vzorky (ve srovnání s fenotyp testem)

Truenat MTB a MTB Plus diagnostické testy,
který může být iniciálním testem pro plicní tuberkulózu (nahrazujícím mikroskopii a testování citlivosti k rifampicinu)

Truenat MTB a MTB Plus jako nahrazení mikroskopie nátěrů sputa:

Citlivost metody Truenat MTB 83%, u MTB Plus 89%

Specificita Truenat MTB 99% a MTB Plus 98%

Truenat MTB-Rif Dx jako nahrazení fenotypového testu citlivosti k rifampicinu:

Citlivost metody 93%, Specificita 95% všechny vzorky (ve srovnání s fenotyp testem)

Výše uvedené 3 snímky k novým metodám viz též WHO pokyn (2020):
https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/330395/9789240000339-eng.pdf;jsessionid=3DEB4E5026A8ADE2616CF8DFFCF2A60C?sequence=1

Přehled pokroku ve vývoji TB diagnostik (I)

An overview of progress in the development of TB diagnostics, August 2020

TECHNOLOGIES IN DEVELOPMENT

Molecular detection of TB and drug resistance

- Gendrive MTB/RIF ID, Epistem, UK
- TruArray MDR-TB, Akkoni, USA
- INFINITIMTB Assay, AutoGenomics, USA
- FluoroType XDR-TB assay, Hain Lifescience, Germany
- MeltPro TB assay, Zeesan Biotech, China
- QuantuMDx, POC, UK
- Truenat MTB-INH/MTB-FQ, Molbio, India
- AccuPower XDR-TB RT PCR, Bioneer, Republic of Korea

Interferon gamma release assays (IGRAs) for TB infection

- Access QuantiFERON®-TB, QIAGEN, USA
- IP-10 IGRA elisa/lateral flow, rBioPharm, Germany
- ichroma™ IGRA-TB, Boditech Med Inc., Republic of Korea
- T-Track(R) TB, Lophius Biosciences GmbH, Germany
- VIDAS TB-IGRA, bioMérieux, France

Skin tests for TB infection

- c-Tb skin test, Serum Institute of India, India
- EC-Test, Anhui Zhifei Longcom Biopharmaceutical Co. Ltd, China

ON THE MARKET (NOT YET EVALUATED BY WHO)

Molecular detection of TB and drug resistance

- iCubate System, iCubate, USA
- Genechip, TB drug resistance array, Capital Bio, China
- EasyNAT TB Diagnostic kit, Ustar Biotechnologies, China
- Amplification-based tNGS assays: Next Gen-RDST assay, TGen, USA; Deeplex-MycTB assay, GenoScreen, France

Interferon gamma release assays (IGRAs) for TB infection

- Lioferon TB/LTBI, LIONEX Diagnostics & Therapeutics GmbH, Germany
- STANDARD E TB-Feron ELISA, SD Biosensor, Republic of Korea
- Advansure TB IGRA, LG chem, Republic of Korea

Skin tests for TB infection

- Diaskintest, JSC Generium, Russian Federation

Přehled pokroku ve vývoji TB diagnostik (II)

TECHNOLOGIES ENDORSED BY WHO

Molecular detection of TB and drug resistance

- Xpert MTB/RIF and Xpert Ultra as the initial diagnostic test for TB and rifampicin resistance, Cepheid, USA
- Line probe assays for the detection of *Mycobacterium tuberculosis* (MTB), isoniazid and rifampicin resistance in acid-fast bacilli smear positive sputum or MTB cultures (FL-LPA), Hain Lifescience, Germany and Nipro, Japan
- Line probe assays for the detection of resistance to fluoroquinolones and second-line injectable agents (SL-LPA), Hain Lifescience, Germany
- TB LAMP for detection of TB, Eiken, Japan
- Truenat MTB, MTB Plus and MTB-RIF Dx assays as initial diagnostic tests for TB and rifampicin resistance, Molbio Diagnostics, India

Interferon gamma release assays (IGRAs) for TB infection

- T-SPOT.TB, Oxford Immunotec, UK
- QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus), Qiagen, USA

Culture-based technologies

- Commercial liquid culture systems and rapid speciation
- Culture-based phenotypic DST using 1% critical proportion in LJ,7H10,7H11 and MGIT media

Microscopy

- Light and light-emitting diode microscopy (diagnosis and treatment monitoring)

Biomarker based assays

- Alere Determine TB-LAM, Alere, USA for TB detection in HIV infected people

UNDER EVALUATION BY WHO

Molecular detection of TB and drug resistance

- Molecular technologies for genotypic drug resistance testing (including sequencing technologies)
- FluoroType MTBDR, Hain Lifescience, Germany
- *m*2000 RealTi*me* MTB System, Abbott, USA
- BD Max MDR-TB, Becton Dickinson, USA
- Roche cobas® MTB system, Roche Diagnostics, Switzerland
- AccuPower TB & MDR RT PCR, Bioneer, Republic of Korea
- Genoscholar PZA TB II, Nipro, Japan
- Xpert XDR-TB cartridge, Cepheid, USA

Computer-aided detection (CAD) for digital chest radiography

- CAD4TB, Delft Imaging, Netherlands
- Lunit INSIGHT CXR, Lunit, South Korea
- qXR, qure.ai, India
- DxTB, Deeptek, USA
- XrayAME, Epcon, Belgium
- InterRead DR Chest, Inter VISION, China
- T-Xnet, Artelius, India
- Dr CADx, Dr CADx, Zimbabwe
- RediSen, AXIR, South Korea
- JF CXR-1, JF HEALTHCARE, China

Culture-based drug susceptibility testing

- Sensititre™ MYCOTBI plate; ThermoFisher Scientific Inc., USA

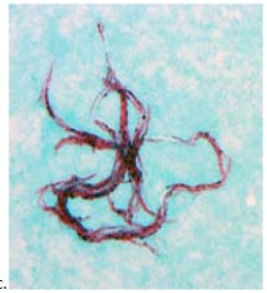
TECHNICAL REPORT

Mastering the basics of TB control

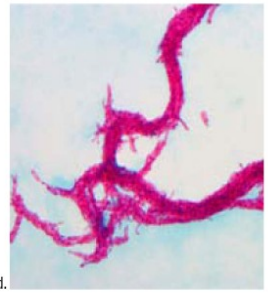
Development of a handbook on TB diagnostic methods

www.ecdc.europa.eu

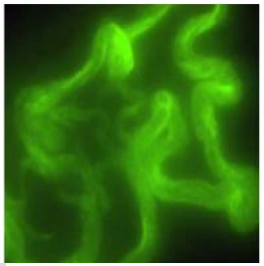
Figure 4.3. AFB smear microscopy of *M. tuberculosis* cultures. Images show cords: (c, d) Ziehl-Neelsen stain; (e) auramine stain



c.



d.



4 Smear microscopy

Susana David, Vera Katalinic-Jankovic, Daniela Cirillo

4.1 Background and principles

Early laboratory diagnosis of tuberculosis still relies on the examination of stained smears. For universal application in resource-limited countries, microscopy of stained sputum smears is the best choice among diagnostic methods[7,12]. This technique is based on the fact that the cell wall of the *Mycobacterium spp.* genus is rich in complex lipids that prevent access to common aniline dyes, but when stained with carbol fuchsin or fluorochromes under special staining procedures, these are not easily decolorised even with alcohol-acid solutions. Because of this characteristic, all members of *Mycobacterium spp.*, not only *M. tuberculosis*, are referred to as acid-fast bacilli (AFB).

At present, two types of acid fast stains are used for the detection of mycobacteria in clinical specimens:

- Carbol-fuchsin staining (Ziehl-Neelsen [ZN] method and its modification performed without heating the dye [Kinyoun cold staining])
- Fluorochrome (auramine or auramine-rhodamine) staining.

Kinyoun staining is a modification of the classic ZN staining which excludes the heating step during the staining procedure and uses a higher concentration of carbol-fuchsin. Mycobacteria appropriately stained by ZN and Kinyoun appear as red rods. The performance of Kinyoun staining is lower than ZN, therefore this procedure is not recommended[6].

Methods which apply a fluorochrome have been used to stain acid fast bacteria for many years. Using this method, mycobacteria are detected as bright fluorescent rods against a darker background. Fluorochrome staining has an increased sensitivity and a shorter time is required for screening the slides when compared to Kinyoun or ZN staining[6,8].

Smear microscopy is simple, inexpensive and efficient in detecting those cases of pulmonary tuberculosis that are most infectious. Since its yield is highly dependent on its execution, the quality of smear microscopy is crucial in the fight against TB in resource-limited settings[6,7].

A major limitation of smear microscopy is its low sensitivity (25–75% compared to culture), due to the high number of bacilli required for positivity (in the range of 5×10^3–10^4 bacilli per ml). Sensitivity of smear microscopy is influenced by numerous factors[7,12,13] such as the prevalence and severity of the disease, the type and quality of the specimen, the number of mycobacteria in the sample and the quality of the process of smear preparation, staining and reading. Smear microscopy does not allow for mycobacterial species identification nor does it give an indication of the viability of mycobacteria in the sample. HIV co-infected TB patients may have disseminated paucibacillary disease with fewer AFB. Smear microscopy is often negative or may require more scrutiny in screening to identify these lower numbers of AFB.

4.2 Procedure 1: Ziehl-Neelsen (ZN) [7,14,15]

Each batch of prepared reagent should be recorded in a reagent preparation workbook which includes: the signature of the technician who prepared it, the date of preparation and the results of quality control testing[2,8].

4.2.1 Ziehl-Neelsen (ZN) reagent preparation

Good staining reagents, made with high-quality carbol fuchsin dye are essential to detect AFBs[6]. Contamination of reagents by environmental mycobacteria should be prevented by using freshly distilled water.

Standard reagents:

Manuál: mikroskopie

- Sběr vzorků pro mikroskopii (nejlépe sputum – ranní vzorek)
- Přeprava vzorků
- Příprava vzorků
  - Ziehl – Neelsen barvení
    - => v ČR cca ¼ vzorků mikroskopie
  - Barvení fluorochrochromy
    - => v ČR cca 3/4 vzorků mikroskopie
    - auramin O => flurescenční mikroskopie

Manuál:Odběry na kultivaci

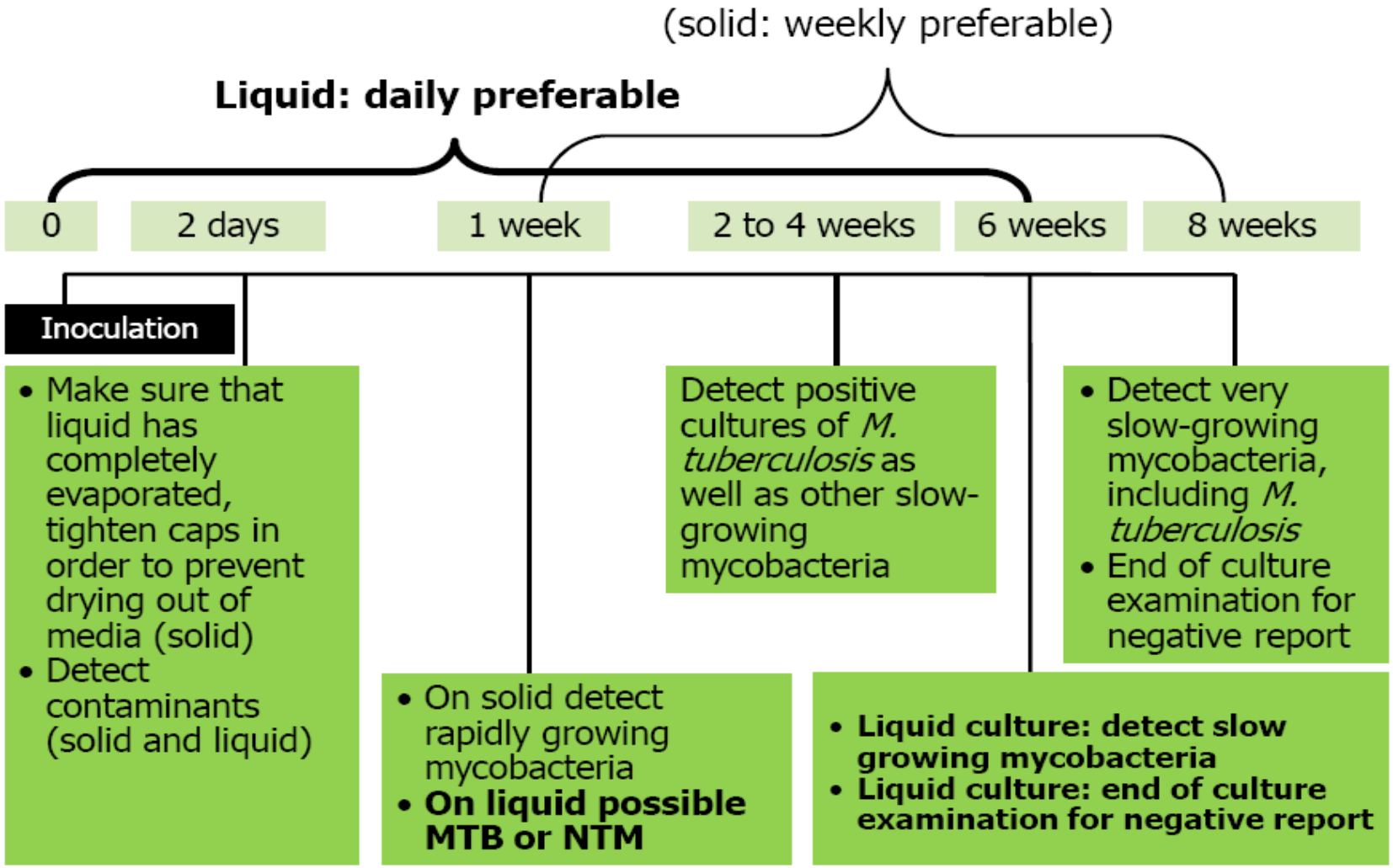
- Kromě vzorků sputa lze též odebírat:
  - spinální, pleurální, perikardiální, synoviální tekutinu
  - Krev
  - Hnis
  - Kostní dřeň

Manuál:Kultivační média

Nejčastěji:

- „vaječná“ média:
  - Löwenstein –Jensen
  - Ogawa
- Agarová média:
  - Middlebrook 7H10 a 7H11
- Tekutá média:
  - Middlebrook 7H9

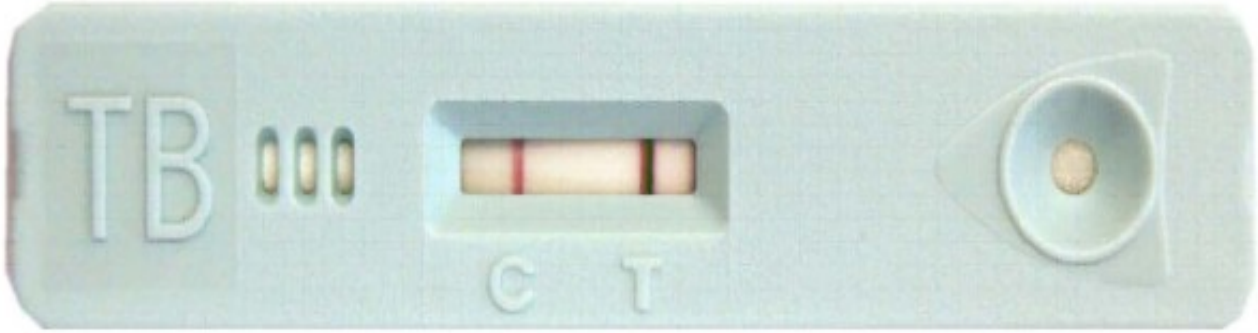
Figure 5.1. **Minimal examination schedule for solid cultures**



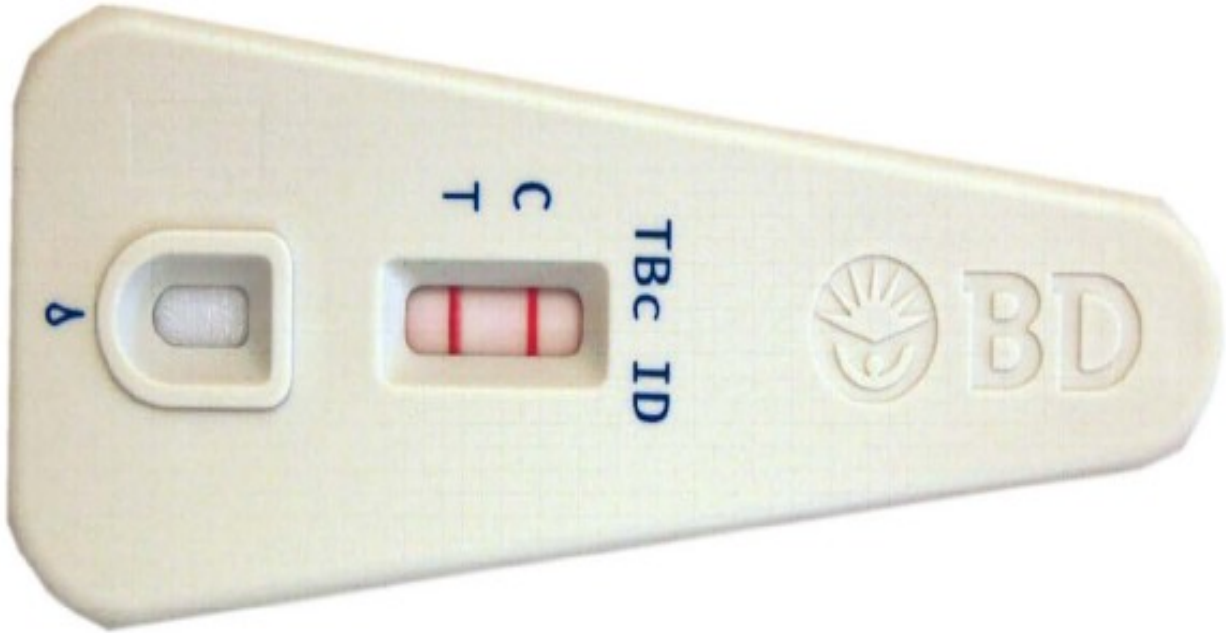
Immunoassay

- Kvalitativní chromatografické imunologické metody detekce *Mycobacterium tuberculosis*
  - z tekutých kultur s pozitivní kultivací

Figure 6.1. Examples of chromatographic immunoassays for the qualitative detection of *Mycobacterium tuberculosis* complex. Developed with 100 µl of a AFB+ smear-positive liquid culture after 15 minutes incubation time



a. Capilia TB-neo



b. BD MGIT TBc identification test

Molekulárně biologické metody I

1. Line probe assay:

- Identifikace 16 různých mykobakterií včetně *M.tuberculosis*
- Tři základní principy testu:
  - Extrakce, amplifikace a hybridizace DNA

Molekulárně biologické metody II

2. Line probe assay:

- Identifikace *M.tuberculosis*
- Detekce genů nesoucích informaci o rezistenci k RIF
- PCR – detekce tzv. **LiPA *rpo*B**

Molekulárně biologické metody III

. Line probe assay:

- Identifikace *M.tuberculosis*
- Detekce genů nesoucích informaci o rezistenci => detekce tzv. MDR a XDR kmenů
  - **RIF**(*rpo*B)a/nebo **izoniazid** (*kat*G/*inh*A) (nízká/vysoká R)
  - **Floroquinolony** a/nebo **aminoglykosidy/cyklické peptidy** (kanamycin, amikaci/capreomycin,viomycin) a/nebo **ethambutol**

Molekulárně biologické metody IV a V

- Test s využitím hybridizace nukleové kyseliny k identifikaci

  M. tuberculosis complex
- Single-use sample-processing cartridge systém s integrální real-time PCR k k identifikaci

  M. tuberculosis complex a rezistence RIF

Stanovení citlivosti proporční metodou dle Canettiho

- Viz citace výše snímek 27 …

ecdc
EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE PREVENTION AND CONTROL

SURVEILLANCE REPORT

Molecular typing for surveillance of multidrug-resistant tuberculosis in the EU/EEA

January 2016

Tuberculosis (TB)

Tuberculosis
Basic TB Facts +
Personal Stories +
Testing & Diagnosis +
Treatment +
Drug-Resistant TB
Research +
Infection Control
TB in Specific Populations +
Laboratory Information +
Data & Statistics +
Professional Resources & Tools +
Publications & Products -

CDC > Tuberculosis > Publications & Products > Guidelines > Guidelines by Date

TB Guidelines

Listed by Date

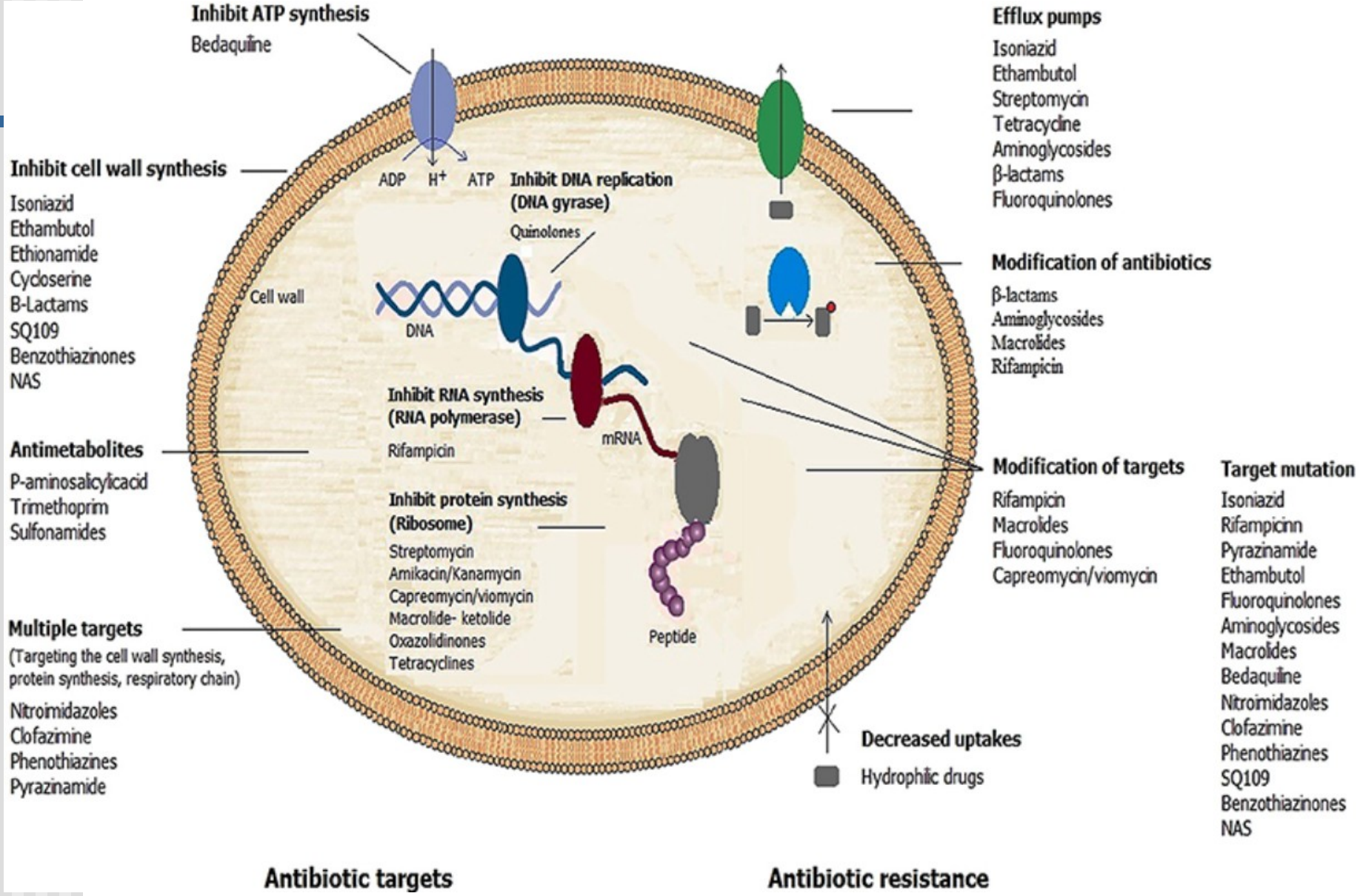
On this page –

- TB Guidelines
- Archived TB Guidelines

Title	Format	Date Published
Diagnosis of Tuberculosis in Children and Adults Clinical Infectious Disease 2017	PDF (2.83 MB)	01/2017
Treatment of Drug-Susceptible Tuberculosis Clinical Infectious Disease 2016	PDF (1MB)	08/2016
Provisional CDC Guidelines for the Use and Safety Monitoring of Bedaquiline Fumarate (Sirturo) for the Treatment of Multidrug-Resistant Tuberculosis *MMWR* 2013; 62 (No. 9)	PDF (411 KB)	10/2013

Mechanizmy účinku vs mechanizmy rezistence mykobakterií

https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2017.00681/full



Antimykobakteriální léčivé látky a: mechanizmus účinku + geny kódující rezistenci (spolu s funkčními vlastnostmi)

https://www.frontiersin.org/files/Articles/251117/fmicb-08-00681-HTML/image_m/fmicb-08-00681-t003.jpg

Agent	Mode of action	Target	Proven utility for (MIC μg/ml)	Gene	Gene function	Most prevalent mutation	References
Isoniazid	Inhibition of mycolic acid synthesis	Mycolic acids	*M. tuberculosis (0.02–0.1 in 7H10)*	*katG*	Catalase-peroxidase	Ser-315-Thr	OFFICIAL, 1990; Na Committee for Clinic Laboratory Standard (NCCLS), 2000; Somoskovi et al., 20 Ramaswamy et al., Zhang et al., 2005; et al., 2006
				inhA	Enoyl ACP reductase	C-15-T SNP	
				Ndh	NADH dehydrogenase II	Arg-13-Cys, Val-18-Ala	
				ahpC	Alkyl hidroperoxidase	C-39-T, G-9-A, SNPs	
				kasA	b-ketoacyl-ACP synthase	Gly-269-Ser	
Rifampicin	Inhibition of RNA polymerase	RNA polymerase	*M. tuberculosis (1 in 7H10)* *M. kansasii (2)* *M. marinum (1)*	*rpoB*	B-subunit of RNA polymerase	Ser-450-Leu	OFFICIAL, 1990; He et al., 2001; Somos et al., 2001; Philley Griffith, 2015
Pyrazinamide	Inhibition of energy production and trans-translation	Fatty acid synthase-I, ribosomal protein S1	*M. tuberculosis (16–50 in LJ)*	*pncA*	Pyrazinamidase	Asp-12-Ala/Asn,Leu-85-Pro	Somoskovi et al., 20 Shi et al., 2011; Feuerriegel et al., 20 Zhang et al., 2013,
				rpsA	S1 ribosomal protein	Deletion Ala438, Thr-5-Ala	
				panD	Aspartate decarboxylase	Ala-128-Ser, Val-138-Aal	
Ethambutol	Inhibition of arabinogalactan synthesis	Arabinosyl transferases	*M. tuberculosis (5 in 7H10)* *M. kansasii (5)* *M. marinum (5)*	*embCAB*	Arabinosyl transferases	Met-306-Val/Ile/Leu	OFFICIAL, 1990; Brown-Elliott et al., Palomino and Martin 2014; Philley and G 2015

https://www.frontiersin.org/files/Articles/251117/fmicb-08-00681-HTML/image_m/fmicb-08-00681-t003.jpg

Streptomycin	Inhibition of protein synthesis	30S ribosomal subunit	*M. tuberculosis* (2–10 in 7H10)	*rpsL* *rrs* *gidB*	S12 ribosomal protein 16S rRNA 16S rRNAmethyltransferase	Lis-43-Arg A-1401-G SNP Leu-16-Arg	OFFICIAL, 1990; Fir et al., 1993; Da Silv Palomino, 2011; Ve et al., 2014; Philley Griffith, 2015
Amikacin/Kanamycin	Inhibition of protein synthesis	30S ribosomal subunit	*M. tuberculosis* (5 in 7H10) *M. kansasii* (32)	*Rrs* *Eis*	16S rRNA Aminoglycoside acetyltransferase	A-1401-G SNP G-37-T, G-10-A, G-14-T SNPs *M. marinum* (32) RGM (64)	OFFICIAL, 1990; Zaunbrecher et al., Da Silva and Palomi 2011; Georghiou et 2012; Kasperbauer De Groote, 2015; P and Griffith, 2015
Capreomycin/viomycin	Inhibition of protein synthesis	30S and 50S ribosome subunits	*M. tuberculosis* (10 in 7H10)	*rrs* *tylA* *Eis*	16S rRNA rRNA methyltransferase Aminoglycoside acetyltransferase	A-1401-G SNP G-223-T SNP G-37-T, C-12-T SNPs	Johansen et al., 20 Da Silva and Palomi 2011; Georghiou et 2012
Ethionamide	Inhibition of mycolic acid synthesis	Mycolic acids	*M. tuberculosis* (5 in 7H10)	*ethA* *inhA* *Ndh* *mshA*	Monooxygenase Enoyl-ACP reductase NADH dehydrogenase Glycosyl transferase	Leu-397-Arg, Leu-328-Met Ile-21-Thr/Val, Ser-94-Ala Arg-13-Cys, Val-18-Ala Val-171-Gly, Aal-187-Val	Morlock et al., 2003 Boonaiam et al., 20 Brossier et al., 2011
Fluoroquinolones	Inhibition of DNA gyrase	DNA gyrase	*M. tuberculosis* (2 in 7H10) *M. kansasii* (2)	*gyrA* *gyrB*	DNA gyrase subunit A DNA gyrase subunit B	Ala-90-Val, Asp-94-Gly/Tyr Asn-533-Thr RGM (4)	OFFICIAL, 1990; Ch et al., 2004; Brown- et al., 2012; Kasper and De Groote, 201

https://www.frontiersin.org/files/Articles/251117/fmicb-08-00681-HTML/image_m/fmicb-08-00681-t003.jpg

P-aminosalicylicacid (PAS)	Inhibition of folate synthesis	Thymidylate synthase, Dihydrofolate synthase, Dihydrofolate reductases	*M. tuberculosis (2 in 7H10)*	*thyA* *folC* *ribD*	Thymidylate synthase Dihydrofolate synthase Dihydrofolate reductases	Thr-202-Ala, Val-261-Gly Glu-153-Aal, Asn-73-Ser G-11-A SNP	Mathys et al., 2009; Silva and Palomino, 2011; Zheng et al., Zhao et al., 2014; Zhang X. et al., 201
Cycloserine	Inhibition of peptidoglycan synthesis	Alanine racemase, D-Alanine-D-alanine ligase, D-serine/L- and D-alanine/glycine/D-cycloserine proton symporter, L-alanine dehydrogenase	*M. tuberculosis (5–10 in BACTEC)*	*alr* *ddl* *cycA* *Ald*	Alanine racemase D-Alanine-D-alanine ligase D-serine/L- and D-alanine/glycine/D-cycloserine proton symporter L-alanine dehydrogenase	G-10-T SNP – Gly-122-Ser	Cáceres et al., 1997 Pelayo et al., 2009; Silva and Palomino, 2011; Chen et al., Gu et al., 2016
Macrolide- ketolide	Inhibition of protein synthesis	50S ribosomal subunit	*M. avium (8–16 in BACTEC)*	*rrl*	23S ribosomal RNA	A-2058-T, A-2059-C SNPs	Meier et al., 1994; Silva and Palomino, 2011; Philley and G 2015
Clofazimine	Interfering with redox	NADH dehydrogenase	*M. tuberculosis (1)*	*rv0678*	Transcriptional regulator	G193 deletion, C-466-T SNPs	Hartkoorn et al., 201 Zhang S. et al., 201
	Cycling, causing membrane destabilization and production of reactive oxygen species			*rv2535c* *rv1979c*	Peptidase Permease	G-265-T SNP T-1052-C SNP	
Oxazolidinones (Linezolid, Sutezolid [PNU-100480] and AZD5847	Inhibition of protein synthesis	50S ribosomal subunit	*M. tuberculosis (4–8)*	*rrl* *rplC*	23S ribosomal rRNA 50S ribosomal protein L3	G-2061-T, G-2576-T, G-2270-T T-460-C	Hillemann et al., 200 Williams et al., 2009 Balasubramanian et 2014

https://www.frontiersin.org/files/Articles/251117/fmicb-08-00681-HTML/image_m/fmicb-08-00681-t003.jpg

B-Lactams (In combination with belactamase inhibitor)	Inhibition of peptidoglycan synthesis	Transpeptidases	*M. tuberculosis (NR)* *RGM (128)*	*blaC* *ponA* *Pbp*	beta-lactamase Penicillin-binding Proteins Penicillin-binding proteins	– – –	Fattorini et al., 1992 Hugonnet and Blanchard, 2007; Brown-Elliott et al., 2 Wivagg et al., 2014
Tetracyclines and glycylcyclines	Inhibition of protein synthesis	30S ribosomal subunit	*RGM (8–16)*	*16S rRNA gene*	16S rRNA	–	Brown-Elliott et al., 2 Kasperbauer and De Groote, 2015
Trimethoprim and sulfonamides	Inhibition of folate synthesis	Dihydrofolate reductase, Dihydropteroate synthetase	*RGM (64)*	*dfrA* *sull and folP1*	Dihydrofolate reductase Dihydropteroate synthetase	–	Brown-Elliott et al., 2 Kasperbauer and De Groote, 2015
Bedaquiline (TMC207)	Inhibition of ATP synthesis	ATP synthase	*M. tuberculosis (0.25)*	*atpE*	ATP synthase	Ala-63-Pro, Ile-66-Met	Andries et al., 2005; Segala et al., 2012
Nitroimidazoles (PA-824 [Pretomanid] and OPC-67683 [Delamanid])	Inhibition of cell wall lipid and protein synthesis	Dehydrogenase, Nitroreductase	*M. tuberculosis (0.5)*	*Rv0407* *Rv3547*	Dehydrogenase Nitroreductase	– –	Stover et al., 2000; Matsumoto et al., 20 Rivers and Mancera 2008
SQ109	Inhibition of lipid synthesis	Mycolic acids	*M. tuberculosis (0.5)*	*mmpL3*	Membrane transporter	–	Protopopova et al., 2 Tahlan et al., 2012
Phenothiazines (Thioridazine and Chlorpromazine)	Inhibition of calcium transport, inhibition of type II NADH	–	*M. tuberculosis (1–32)*	–	–	–	Ordway et al., 2003; Martins et al., 2008
Benzothiazinones (BTZ043)	Inhibition of cell wall arabinans synthesis	Nitroreductase, Decaprenylphosphoryl epimerase	*M. tuberculosis (6)*	*nfnB* *dprE1*	Nitroreductase Decaprenylphosphoryl epimerase	– –	Makarov et al., 2009 Manina et al., 2010
NAS-21 and NAS-91	Inhibition of mycolic acid synthesis	FAS-II dehydratase	*M. tuberculosis (NR)*	*rv0636*	FAS-II dehydratase	–	Gratraud et al., 2008