



Warszawa, dnia 2.08.2024 r.

## **Ocena diagnostyczna systemu molekularnego Standard M-10 SD Biosensor**

Szybka identyfikacja chorego z gruźlicą lekooporną, szczególnie z gruźlicą MDR, jest najważniejszym elementem programów Światowej Organizacji Zdrowia (WHO) i European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC), dotyczących nadzoru i zwalczania choroby. Aplikacja nowych systemów i testów wykrywających prątki i określających ich podstawowy profil lekooporności pozwala na wprowadzenie metod molekularnych do podstawowej diagnostyki chorego z podejrzeniem gruźlicy i mykobakteriozy. Ocena przydatności zautomatyzowanego systemu molekularnego Standard M-10 (SD Biosensor) do wykrywania prątków gruźlicy (w tym o oporności typu MDR) przeprowadzono poprzez analizę uzyskanych wyników testu

Ocenę przydatności testów STANDARD™ M10 MDR-TB w diagnostyce molekularnej prątków wykonano w Zakładzie Mikrobiologii Instytutu Gruźlicy i Chorób Płuc w Warszawie – Krajowym Referencyjnym Laboratorium Prętka.

Analiza molekularna materiału klinicznego prowadzona jest w jednym kartridżu gdzie zachodzi zarówno proces izolacji DNA jak i amplifikacji metodą RT-qPCR.. Badania pozwala na jednoczesne wykrycie DNA *M.tuberculosis* complex w materiale klinicznym oraz określenie oporności na RMP i INH. Dodatkowo wewnątrz kontrola wykonywana dla każdego oznaczenia pozwala na sprawdzenie prawidłowości przebiegu procesu amplifikacji w każdym kartridżu.

### **Test STANDARD™ M10 MDR-TB (SD Biosensor)**

W pracy została określona wiarygodność testu poprzez porównanie otrzymanych wyników z danymi uzyskanymi za pomocą metod molekularnych posiadających rekomendację WHO do diagnostyki prątków: BD Max MDR (BD), Xpert MTB/RIF Ultra (Cepheid), MTB/XDR (Cepheid). Materiały poddane były również analizie mikrobiologicznej z zastosowaniem konwencjonalnych metod diagnostycznych: bakterioskopii i hodowli. Hodowlę prowadzono na pożywkach stałych (Löwensteina-Jensena, Stonebrinka) oraz na pożywkach płynnych Middlebrook'a w systemie automatycznym Bactec MGIT (BD).

Analizę przeprowadzono dla 59 materiałów klinicznych z dróg oddechowych pochodzących od chorych z podejrzeniem gruźlicy.

Na podstawie analizy porównawczej wyników testu genetycznego Standard MDR-TB oraz testów genetycznych rekomendowanych przez WHO ( BD Max MDR-TB (BD), Xpert MTB/RIF Ultra, Xpert MTB/XDR(Cepehid) stwierdzono zgodność uzyskanych wyników na poziomie 89,8 %. Wynik pozytywny badania genetycznego MDR/ MTB Test Kit i badania wykonanego testem genetycznym rekomendowanym przez WHO uzyskano dla 17 materiałów (28,8%) natomiast ujemny wynik w obu metodach dla 36 materiałów (61%). W przypadku 6 materiałów klinicznych uzyskano wyniki rozbieżne: dla 5 pozytywny wynik testu genetycznego Standard MDR-TB i negatywny wynik testu rekomendowanego przez WHO, natomiast w 1 przypadku negatywny wynik testu Standard MDR-TB i pozytywny wynik testu rekomendowanego przez WHO. Na podstawie uzyskanych wyników obliczono czułość i specyficzność testu MDR/ MTB Test Kit w wykrywaniu prątków gruźlicy z materiałów klinicznych, jak również pozytywną i negatywną wartość predykcyjną. Czułość testu w przeprowadzonej ocenie w Krajowym Referencyjnym Laboratorium Prątka wynosiła 94% a specyficzność została określona na poziomie 88%. Pozytywna wartość predykcyjna (PPV) wynosiła 77% natomiast negatywna wartość predykcyjna (NPV) 97% (tab. 1).



**Tabela 1.** Porównanie wyników wykrywania prątków gruźlicy testem STANDARD M10 MDR-TB z wynikami uzyskanymi w testach genetycznych rekomendowanych przez WHO- analiza 59 materiałów klinicznych

		Test STANDARD M10 MDR-TB		Czułość	Specyficzność	PPV	NPV
		Pozytywny	Negatywny				
Test genetyczny rekomendowany przez WHO	Pozytywny	17	1	94%	88%	77%	97%
	Negatywny	5	36				

PPV pozytywna wartość predykcijna, NPV negatywna wartość predykcijna

Wśród 22 materiałów z dodatnim wynikiem badania genetycznego STANDARD M10 MDR-TB oporność na rifampicynę stwierdzono w 2 przypadkach, a w 15 wrażliwość na ten lek. Dla materiałów z określoną opornością na rifampicynę czułość, specyficzność oraz PPV i NPV testu STANDARD M10 MDR-TB określono na poziomie 100%. W 5 przypadkach nie udało się z zastosowaniem testu MDR/MTB Test Kit określić genotypu oporności na rifampicynę (tab. 2).

**Tabela 2.** Czułość, specyficzność, PPV i NPV testu genetycznego STANDARD M10 MDR-TB w wykrywaniu oporności na rifampicynę w odniesieniu do testów genetycznych rekomendowanych przez WHO.

Test genetyczny rekomendowany przez WHO	STANDARD M10 MDR-TB			Czułość	Specyficzność	PPV	NPV
	R <sup>R</sup>	R <sup>S</sup>	Nieokreślony				
R <sup>R</sup>	2	0	0	100%	100%	100%	100%
R <sup>S</sup>	0	15	5				
Nieokreślony	0	0	0				

R<sup>R</sup> stwierdzono oporność na rifampicynę, R<sup>S</sup> nie stwierdzono oporności na rifampicynę, PPV pozytywna wartość predykcijna, NPV negatywna wartość predykcijna

Podobną zależność stwierdzono w przypadku wykrywania oporności na izoniazyd. Oporność na izoniazyd w teście STANDARD M10 MDR-TB stwierdzono w 2 przypadkach, a

wrażliwość na ten lek w 15 przypadkach. Wyniki były w 100% zbieżne z wynikami uzyskanymi w testach rekomendowanych przez WHO (BD Max MDR-TB, Xpert MTB/RIF i Xpert MTB/XDR). Dla materiałów z określoną opornością na izoniazyd czułość, specyficzność oraz PPV i NPV testu STANDARD M10 MDR-TB określono na poziomie 100%. W 5 przypadkach nie udało się określić genotypu oporności na izoniazyd z zastosowaniem testu MDR/MTB Test Kit (tab. 3).

**Tabela 3.** Czułość, specyficzność, PPV i NPV testu genetycznego STANDARD M10 MDR-TB w wykrywaniu oporności na izoniazyd w odniesieniu do testów genetycznych rekomendowanych przez WHO.

Test genetyczny rekomendowany przez WHO	STANDARD M10 MDR-TB			Czułość	Specyficzność	PPV	NPV
	I <sup>R</sup>	I <sup>S</sup>	Nieokreślony				
I <sup>R</sup>	2	0	0				
I <sup>S</sup>	0	15	5	100%	100%	100%	100%
Nieokreślony	0	0	0				

I<sup>R</sup> stwierdzono oporność na izoniazyd, I<sup>S</sup> nie stwierdzono oporności na izoniazyd, PPV pozytywna wartość predykcyjna, NPV negatywna wartość predykcyjna

Na podstawie analizy porównawczej wyników badania genetycznego STANDARD M10 MDR-TB oraz wyników hodowli, w 49 (83%) przypadkach stwierdzono zgodność uzyskanych wyników. Dla 22 materiałów z dodatnim wynikiem badania genetycznego, potwierdzenie w hodowli uzyskano w 17 (77%) przypadkach, z czego 15 stanowiły materiały z dodatnią bakterioskopią. Ujemny wynik testu STANDARD M10 MDR-TB uzyskano dla 37 materiałów, w 32 (89%) przypadkach korelował on z ujemnym wynikiem hodowli. W pozostałych 5 (13%) przypadkach z materiałów otrzymano hodowlę prątków należących do: *M.tuberculosis* complex (2 hodowle ) i do grupy MOTT (3 hodowle).

Wyniki rozbieżne w obu metodach uzyskano w 6 (10%) przypadkach, 4 dodatnie wyniki badania genetycznego STANDARD M10 MDR-TB nie zostały potwierdzone w hodowli *Mycobacterium tuberculosis* complex; jak również w 2 przypadkach przy ujemnym wyniku testu molekularnego uzyskano hodowlę M.tbc (tab 4).



**Tabela 4.** Porównanie wyników badań w kierunku gruźlicy uzyskanych za pomocą testu genetycznego STANDARD M10 MDR-TB MDR/MTB Test Kit oraz hodowli z uwzględnieniem wyników bakterioskopii.

HODOWLA	STANDARD M10 MDR-TB		
	POZYTYWNY	NEGATYWNY	ŁĄCZNIE
MTBC	17	2	19
AFB (+)	15	1	16
AFB (-)	2	1	3
MOTT	1	3	4
AFB (+)	0	1	1
AFB (-)	1	2	3
UJEMNA	4	32	36
AFB (+)		1	1
AFB (-)	4	31	35
ŁĄCZNIE	22	37	59

MTBC *Mycobacterium tuberculosis* complex, AFB (ang. *Acid Fast Bacilli*) bakterioskopia, MOTT (ang. *Mycobacterium Other Than Tuberculosis*)

Wyniki przeprowadzonego badania wykazały wysoką zgodność testu STANDARD M10 MDR-TB z metodami genetycznymi rekomendowanymi przez WHO (BD Max MDR, Xpert MTB/RIF Ultra, Xpert MTB/XDR) oraz metodami konwencjonalnymi (bakterioskopia i hodowla). Na podstawie analizy porównawczej stwierdzono, że test STANDARD M10 MDR-TB wykazuje zgodność z wynikami testów genetycznych na poziomie 89,8%. Wynik ten jest zgodny z literaturą, gdzie testy molekularne cechują się wysoką czułością i specyficznością w diagnostyce gruźlicy.

**Czułość i specyficzność** Czułość testu STANDARD M10 MDR-TB w wykrywaniu prątków gruźlicy wynosiła 94%, a specyficzność 88%. Wysoka czułość wskazuje, że test jest bardzo skuteczny w identyfikacji przypadków gruźlicy, co jest kluczowe dla szybkiego rozpoczęcia leczenia. Specyficzność na poziomie 88% sugeruje, że test jest również wiarygodny w wykluczaniu gruźlicy, choć w niektórych przypadkach mogą wystąpić wyniki fałszywie pozytywne.

**Pozytywna i negatywna wartość predykcijna** Pozytywna wartość predykcijna (PPV) testu wynosiła 77%, co oznacza, że 77% wyników pozytywnych faktycznie potwierdza obecność prątków gruźlicy. Negatywna wartość predykcijna (NPV) wynosiła 97%, co świadczy o tym,

że wynik negatywny testu z dużym prawdopodobieństwem wyklucza obecność gruźlicy. Wysokie NPV jest szczególnie ważne w praktyce klinicznej, gdyż pozwala na bezpieczne wykluczenie choroby u większości pacjentów z wynikiem negatywnym.

**Wykrywanie lekooporności na RMP i INH** W odniesieniu do wykrywania oporności na rifampicynę i izoniazyd, test STANDARD M10 MDR-TB wykazał 100% czułość, specyficzną, PPV i NPV. Wyniki te są szczególnie istotne, ponieważ szybkie i dokładne wykrywanie oporności na główne leki przeciwprątkowe umożliwia odpowiednie dostosowanie terapii, co jest kluczowe w leczeniu gruźlicy lekoopornej.

**Rozbieżności wyników** W badaniu odnotowano 6 przypadków rozbieżności wyników między testem STANDARD M10 MDR-TB a testami genetycznymi rekomendowanymi przez WHO. W 5 przypadkach test STANDARD M10 MDR-TB dał wynik pozytywny, podczas gdy test rekomendowany przez WHO dał wynik negatywny, a w 1 przypadku było odwrotnie. Rozbieżności te mogą wynikać z różnych czynników, takich jak różnice w czułości i specyficznosci poszczególnych testów, obecność zanieczyszczeń w próbkach lub różnice w technikach laboratoryjnych.

**Porównanie z hodowlą** Porównanie wyników testu STANDARD M10 MDR-TB z wynikami hodowli wykazało zgodność na poziomie 83%. W przypadku wyników pozytywnych testu genetycznego, 77% było potwierdzonych w hodowli, co potwierdza skuteczność testu w wykrywaniu prątków gruźlicy. Jednak w 23% przypadków pozytywne wyniki testu nie zostały potwierdzone w hodowli, co może sugerować obecność fałszywie pozytywnych wyników testu STANDARD M10 MDR-TB. Z drugiej strony, ujemny wynik testu STANDARD M10 MDR-TB korelował z ujemnym wynikiem hodowli w 89% przypadków, co dodatkowo potwierdza jego wysoką NPV.

**Znaczenie kliniczne** Na podstawie uzyskanych wyników można stwierdzić, że test molekularny STANDARD M10 MDR-TB stanowi wartościowe narzędzie diagnostyczne, które znacząco przyspiesza proces diagnostyki gruźlicy i określania profilu lekooporności. Szybka dostępność wyników (w ciągu kilku godzin) jest kluczowa w kontekście realizacji programów zwalczania gruźlicy, zwłaszcza gruźlicy lekoopornej. Test ten może być szczególnie użyteczny w warunkach, gdzie dostęp do zaawansowanych metod diagnostycznych jest ograniczony, a szybkie rozpoczęcie leczenia jest niezbędne dla poprawy rokowań pacjentów.

## Wnioski

Podsumowując, test STANDARD M10 MDR-TB wykazał wysoką czułość i specyficzną w wykrywaniu *M. tuberculosis complex* oraz oporności na kluczowe leki przeciwprątkowe. Jego zastosowanie może przyczynić się do poprawy efektywności diagnostyki gruźlicy oraz optymalizacji terapii, co jest kluczowe w kontekście globalnej walki z gruźlicą, zwłaszcza w obszarach o wysokim rozpowszechnieniu choroby i ograniczonym dostępie do zaawansowanej diagnostyki.



## **Podsumowanie:**

Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono:

- Test molekularny STANDARD M10 MDR-TB pozwala na znaczne przyspieszenie oraz usprawnienie diagnostyki mikrobiologicznej gruźlicy. Wyniki dostępne są już w ciągu kilku godzin od momentu dostarczenia materiału do laboratorium prątków.
- Test molekularny STANDARD M10 MDR-TB oprócz wykrywania prątków gruźlicy bezpośrednio z materiałów klinicznych określa ich profil lekooporności na dwa główne leki przeciwprątkowe: izoniazyd i rifampicynę, co ma szczególne znaczenie w realizacji programów zwalczania gruźlicy lekoopornej .
- Czulość testu STANDARD M10 MDR-TB w wykrywaniu *M.tuberculosis* complex bezpośrednio z materiałów klinicznych wynosiła 94% przy specyficzności 88%; a w wykrywaniu oporności na rifampicynę i izoniazyd 100%.

*Prof. dr hab. n. med.*  
*Ewa Augustynowicz-Kopec*  
KIEROWNIK  
ZAKŁADU MIKROBIOLOGII  
Instytutu Gruźlicy i Chorób Płuc