

Polskie Towarzystwo Chorób Płuc



Wytyczne postępowania klinicznego w diagnostyce gruźlicy w Polsce

Adaptacja wytycznych postępowania Światowej Organizacji Zdrowia (WHO)

Opracował panel specjalistów w dziedzinie chorób płuc i mikrobiologów powołany przez Polskie Towarzystwo Chorób Płuc (Grupa Robocza Opracowująca Wytyczne) w składzie*: Dr n. med. Małgorzata Czajkowska-Malinowska - Przewodnicząca Grupy Roboczej, Dr hab. n. med. Maria Korzeniewska, Prof. dr hab. n. med. Ewa Augustynowicz-Kopeć, , Dr hab. n. med. Tadeusz Zielonka, mgr Dorota Krawiecka, lek. Włodzimierz Litwiniuk, Dr hab. n. med. Adam Nowiński, lek. Anna Halicka, , lek. Jacek Jagodziński, Dr n. med. Grzegorz Zioto, lek. Joanna Niestrój-Ostrowska, Dr n. med. Magdalena Władysiuk.

Warszawa 2026

Opracowane przez: PTChP - Polskie Towarzystwo Chorób Płuc

Prezes: dr n. med. Małgorzata Malinowska-Czajkowska

Biuro Zarządu Głównego

ul. Wronia 45 lok. 132

00-870 Warszawa

Telefon: +48 692 399 149

Adres do korespondencji: m.cz.malinowska@interia.pl

Finansowanie: Prace zostały sfinansowane z środków własnych i WHO

Wersja: 1.0 (w opracowaniu wersja 2.0 po ocenie recenzentów)

Oświadczenia o konflikcie interesów GR: Wszyscy członkowie Grupy Roboczej nie wykazano konfliktu interesów wpływających na opracowanie wytycznych.

Opracowanie redakcyjne:

Dr. n. med. Magdalena Władysiuk

Spis treści

Skróty i akronimy	5
Definicje	8
Podsumowanie rekomendacji	10
1. Wprowadzenie	17
1.1. Dostęp do diagnostyki w Polsce	18
1.2. Organizacja diagnostyki w Polsce	21
1.3. Klasy testów i produkty	22
2. Cel i metodologia wytycznych	23
2.1. Cel wytycznych postępowania klinicznego	23
2.2. Grupy zawodowe lub grupy chorych, których dotyczą wytyczne	23
2.3. Odbiorcy wytycznych (w tym typy jednostek ochrony zdrowia)	23
2.4. Zakres interwencji uwzględnione w wytycznych	23
2.5. Metodologia	24
2.6. Klasyfikacja siły rekomendacji	26
2.6.1. Wskazówki dotyczące korzystania z wytycznych	27
2.6.2. Implementacja i aktualizacja wytycznych	27
3. Rekomendacje	29
3.1. Podsumowanie diagnostyki w przypadku lekooporności	29
3.2. Wstępne badania diagnostyczne w kierunku gruźlicy z wykrywaniem lekooporności	35
3.2.1. LC-aNAAT do wykrywania gruźlicy i oporności na ryfampicynę	35
3.2.2. Automatyczne testy NAAT o umiarkowanym stopniu złożoności do wykrywania gruźlicy i oporności na ryfampicynę i izoniazyd.	43
3.3. Wstępne testy diagnostyczne do rozpoznania gruźlicy bez wykrywania lekooporności	51
3.3.1. Manualne testy NAAT o niskiej złożoności do wykrywania gruźlicy Opis klasy diagnostycznej	51
3.4. Równoczesne stosowanie wstępnych testów diagnostycznych do diagnozowania gruźlicy u osób żyjących z HIV i dzieci	58
3.4.1. Jednoczesne stosowanie testów u osób żyjących z HIV	59
3.4.2. Jednoczesne stosowanie testów u dzieci bez zakażenia wirusem HIV lub o nieznanym statusie serologicznym	65
3.4.3. Jednoczesne stosowanie testów u dzieci zakażonych wirusem HIV	69
3.5. Dalsze badania diagnostyczne w celu wykrycia dodatkowej oporności na leki po potwierdzeniu gruźlicy	73
3.5.1. Automatyczne testy NAAT o niskiej złożoności do wykrywania oporności na izoniazyd i leki przeciwgruźlicze drugiej linii	73
3.5.2. LPA pierwszej linii	82
3.5.3. Testy NAAT o wysokiej złożoności oparte na odwrotnej hybrydyzacji do wykrywania oporności na pyrazynamid	89
3.5.4. Ukierunkowane sekwencjonowanie nowej generacji	94
3.6. Rekomendacje dotyczące diagnostyki zakażenia gruźlicą	105
3.6.1. Testy skórne oparte na antygenie Mycobacterium tuberculosis w diagnostyce zakażenia gruźlicą ...	105
3.6.2. Testy skórne na gruźlicę i testy uwalniania interferonu gamma do diagnostyki zakażenia gruźlicą .	114

3.6.3. Testy skór ne na gruźlicę i testy uwalnia nia interferonu gamma w diagnostyce gruźlicy	117
Referencje	121

Skróty i akronimy

Skrót	Znaczenie
aDSM	aktywne monitorowanie bezpieczeństwa stosowania leków przeciwgruźliczych i zarządzanie nimi
AFB	kwasooporne prątki
AIDS	zespół nabytego niedoboru odporności
aIPD	dane indywidualne dorosłych pacjentów
AlereLAM	Alere Determine TB LAM Ag
aNAAT	automatyczny test amplifikacji kwasu nukleinowego
aOR	skorygowany iloraz szans
aRR	skorygowany współczynnik ryzyka
ART	terapia antyretrowirusowa
BAL	ptukanie oskrzelowo-pęcherzykowe
BCG	bakteria Calmette–Guérin
BMI	wskaźnik masy ciała
cfu	jednostki tworzące kolonie
CI	przedział ufności
CL	przedział wiarygodności
CRS	kompozytowy standard referencyjny
CSF	płyn mózgowo-rdzeniowy
DALY	lata życia skorygowane niepełnosprawnością
DIAMA	Diagnostyka gruźlicy wielolekoopornej w Afryce
DNA	kwas dezoksyrybonukleinowy
DR-TB	gruźlica oporna na leki
DSD	zróżnicowane świadczenie usług
DST	badanie wrażliwości na leki
DS-TB	gruźlica wrażliwa na leki
EDRWeb	Elektroniczny rejestr gruźlicy lekoopornej (RPA)
EKG	elektrokardiogram
FDC	kombinacja leków o stałej dawce
FIND	Fundacja na rzecz Innowacyjnych Metod Diagnostycznych
FL-LPA	test sond liniowych pierwszej linii
GDF	Globalny Fundusz Lekowy
GR	Grupa Robocza ds. opracowania wytycznych
GTB	Globalny program dotyczący gruźlicy i zdrowia płuc
HIV	wirus ludzkiego niedoboru odporności
HR	izoniazyd–ryfampicyna
HREZ	izoniazyd–ryfampicyna–etambutol–pyrazynamid

Skrót	Znaczenie
Hr-TB	gruźlica wrażliwa na ryfampicynę, oporna na izoniazyd
iCCM	zintegrowane zarządzanie przypadkami w społeczności
IGRA	test uwalniania interferonu gamma
IMCI	zintegrowane zarządzanie chorobami dziecięcymi
IPD	indywidualne dane pacjenta (lub zbiór danych)
IQR	rozstęp międzykwartyłowy
IVD	diagnostyka in vitro
LAM	lipoarabinomannan
LAMP	amplifikacja izotermiczna z pętlą
LC-aNAAT	automatyczny test amplifikacji o niskiej złożoności
LC-mNAAT	ręczny test amplifikacji o niskiej złożoności
LF-LAM	test bocznego przepływu LAM w moczu
LPA	test sond liniowej
LSHTM	Londyńska Szkoła Higieny i Medycyny Tropikalnej
LTFU	utrata danych podczas obserwacji
M. tuberculosis	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>
MC-aNAAT	automatyczny test amplifikacji o średniej złożoności
MDR	wielolekowa oporność
MDR/RR-TB	gruźlica wielolekooporna lub oporna na ryfampicynę
MDR-TB	gruźlica wielolekooporna
MIC	minimalne stężenie hamujące
MRS	mikrobiologiczny standard referencyjny
Mtb	prątki gruźlicy
MTBC	kompleks <i>Mycobacterium tuberculosis</i>
mWRD	molekularny szybki test diagnostyczny WHO
NAAT	test amplifikacji kwasu nukleinowego
NGS	sekwencjonowanie nowej generacji
NTP	Krajowy program zwalczania gruźlicy
GRADE	Klasyfikacja zaleceń, ocena, rozwój i ewaluacja
ONZ	Organizacja Narodów Zjednoczonych
OUN	ośrodkowy układ nerwowy
PCR	reakcja łańcuchowa polimerazy
POZ	podstawowa opieka zdrowotna
PICO	populacja, interwencja, komparator i wyniki
PLHIV	osoby żyjące z HIV
PQ	prekwalifikacja
przed XDR-TB	gruźlica przed rozległą opornością na leki
PZA	pyrazynamid
QTcF	skorygowany odstęp QT według Fredericia

Skrót	Znaczenie
QUADAS	ocena jakości badań diagnostycznych
RCT	randomizowane badanie kontrolowane
RD	różnica ryzyka
REZ	ryfampicyna–etambutol–pyrazynamid
RIF	ryfampicyna
RNA	kwasy rybonukleinowe
RR	ryzyka względne
RR-TB	gruźlica oporna na ryfampicynę
SAT	terapia samodzielna (oznacza również leczenie bez nadzoru)
SRL	TB ponadnarodowe laboratorium referencyjne
SSM	mikroskopia płowociny
STARD	standardy raportowania badań diagnostycznych
TB	gruźlica
TPT	profilaktyczne leczenie gruźlicy
TST	test tuberkulinowy
Unia	Międzynarodowa Unia przeciwko Gruźlicy i Chorobom Płuc
USA	Stany Zjednoczone Ameryki
USAID	Agencja ds. Rozwoju Międzynarodowego
UV	promieniowanie ultrafioletowe
WGS	sekwencjonowanie całego genomu
WHO	Światowa Organizacja Zdrowia
WHO/MTB	Globalny program Światowej Organizacji Zdrowia dotyczący gruźlicy i zdrowia płuc
XDR-TB	gruźlica o rozległej oporności na leki

Definicje

Pojęcie	Definicja
Badanie wrażliwości na leki (DST)	Badanie in vitro z wykorzystaniem technik molekularnych lub genotypowych w celu wykrycia mutacji powodujących oporność lub metod fenotypowych w celu określenia wrażliwości na lek.
Ciężka postać gruźlicy pozapłucnej	Gruźlica rozsiana, zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych, gruźlica kości i stawów lub osierdzia. U dzieci poniżej 15 roku życia każda postać pozapłucna inna niż gruźlica węzłów chłonnych obwodowych lub izolowana limfadenopatia śródpiersia bez ucisku jest uważana za ciężką.
Grupy wiekowe	W niniejszych wytycznych stosuje się następujące definicje dotyczące osób dorosłych i dzieci w celu wdrożenia zaleceń (kraje mogą stosować inne definicje zgodnie z przepisami krajowymi): <ul style="list-style-type: none"> osoba dorosła to osoba w wieku 10 lat i starsza; dziecko to osoba w wieku poniżej 10 lat.
Gruźlica	Choroba wywołana przez prątki tworzące <i>Mycobacterium tuberculosis</i> complex, do którego należy osiem odrębnych, ale blisko spokrewnionych gatunków (np. <i>M. tuberculosis</i> , <i>M. bovis</i> , <i>M. africanum</i>). Najczęstszą przyczyną gruźlicy u ludzi jest <i>M. tuberculosis</i> .
Gruźlica o rozszerzonej lekooporności (XDR-TB)	Gruźlica wywołana przez szczep prątków <i>M. tuberculosis</i> complex oporny na ryfampicynę (może być jednocześnie oporny na izoniazyd) oraz na co najmniej jeden fluorochinolon (lewofloksacynę lub moksyfloksacynę) i co najmniej jeden inny lek z grupy "A" (bedakilina lub linezolid).
Gruźlica oporna na izoniazyd	Gruźlica wywołana przez szczep prątków <i>M. tuberculosis</i> complex oporny na izoniazyd, ale wrażliwy na ryfampicynę.
Gruźlica oporna na leki	Gruźlica wywołana przez szczep prątków należący do <i>Mycobacterium tuberculosis</i> complex, który jest oporny na jakikolwiek lek przeciwprątkowy.
Gruźlica oporna na ryfampicynę (RR-TB)	Gruźlica wywołana przez szczep prątków <i>M. tuberculosis</i> complex oporny na ryfampicynę. Te szczepy mogą być wrażliwe lub odporne na izoniazyd (MDR-TB) lub inne leki przeciwprątkowe.
Gruźlica o rozszerzonej lekooporności (pre-XDR-TB)	Gruźlica wywołana przez szczep prątków <i>M. tuberculosis</i> complex oporny na ryfampicynę (może być oporny na izoniazyd) oraz na co najmniej jeden fluorochinolon (lewofloksacynę lub moksyfloksacynę).
Gruźlica pozapłucna (EPTB)	Odnosi się do każdego potwierdzonego bakteriologicznie lub zdiagnozowanego klinicznie przypadku gruźlicy obejmującego narządy inne niż płuca (np. opłucna, węzły chłonne, brzuch, drogi moczowo-płciowe, skóra, stawy i kości, opony mózgowie).
Gruźlica rozpoznana klinicznie	Gruźlica nie spełniająca kryteriów potwierdzenia bakteriologicznego, rozpoznana u osoby, u której lekarz zdecydował o podaniu pełnego leczenia przeciwprątkowego.
Gruźlica wielolekooporna (MDR-TB)	Gruźlica wywołana przez szczep prątków <i>M. tuberculosis</i> complex oporny na ryfampicynę i izoniazyd.
Gruźlica wrażliwa na leki (DS-TB)	Gruźlica potwierdzona bakteriologicznie lub zdiagnozowana klinicznie przypadek gruźlicy bez dowodów zakażenia szczepami opornymi na ryfampicynę i izoniazyd.
MDR/RR-TB	Gruźlica wielolekooporna (MDR-TB) oraz gruźlica oporna na ryfampicynę (RR-TB).
Molekularny test wrażliwości prątków na leki	Test in vitro wykorzystujący techniki molekularne do wykrywania mutacji powodujących oporność

Pojęcie	Definicja
Nowy przypadek gruźlicy	Osoba chora na gruźlicę, która nigdy wcześniej nie była leczona z tego powodu lub przyjmowała leki przeciwpłatkowe krócej niż 1 miesiąc.
Opieka zdrowotna ambulatoryjna	placówka opieki zdrowotnej, w której pacjenci przechodzą diagnostykę i otrzymują leczenie oraz opiekę, ale nie są przyjmowani na nocny pobyt (np. przychodnia ambulatoryjna lub punkt medyczny)
Opieka zdrowotna w warunkach szpitalnych	Placówka opieki zdrowotnej, w której pacjenci są przyjmowani i przydzielani do łóżek na czas diagnozy, leczenia i opieki, przynajmniej na jedną noc.
Pacjent chory na gruźlicę	Osoba będąca pod opieką medyczną z powodu gruźlicy.
Potwierdzenie bakteriologiczne gruźlicy	Dodatni wynik posiewu próbki biologicznej w kierunku <i>Mycobacterium tuberculosis</i> complex lub jednocześnie dodatnie wyniki badania mikroskopowego rozmazu próbki i szybkiego testu molekularnego na gruźlicę, zalecanego przez Światową Organizację Zdrowia.
Poważna choroba związana z HIV	Poważna choroba związana z HIV jest definiowana na podstawie któregośkolwiek z następujących objawów: częstość oddechów ≥ 30 /minutę, temperatura ≥ 39 °C, częstość akcji serca ≥ 120 /minutę lub niemożność samodzielnego chodzenia.
Przypadek gruźlicy	Wystąpienie gruźlicy u konkretnej osoby.
Przypadek leczony wcześniej na gruźlicę	Pacjent leczony wcześniej przez ≥ 1 mies.
Przypadek wznowy gruźlicy	Pacjent, który w przeszłości przebył leczenie przeciwpłatkowe i został zakwalifikowany do kategorii „wyleczony” lub „zakończone leczenie”; do tej kategorii należą zarówno pacjenci z faktyczną wznową gruźlicy, jak i z nawrotem choroby w wyniku ponownego zakażenia.
Rozległa (lub zaawansowana) gruźlica płuc	Obecność obustronnej choroby jamistej lub rozległego uszkodzenia mięszu w badaniu radiologicznym klatki piersiowej. U dzieci w wieku poniżej 15 lat zaawansowaną chorobę definiuje się zazwyczaj na podstawie obecności jam lub obustronnej choroby w badaniu radiologicznym klatki piersiowej.
Wsparcie w leczeniu	Terminologia użyta w niniejszym dokumencie służy do opisanego podejścia do wspierania pacjentów przyjmujących przepisane dawki leków przeciwigruźliczych w celu zapewnienia przestrzegania zaleceń terapeutycznych i maksymalizacji skuteczności leczenia. Wsparcie w leczeniu należy zapewnić w kontekście opieki skoncentrowanej na pacjencie i powinno ono opierać się na indywidualnych potrzebach, akceptacji i preferencjach pacjenta. Obejmuje ono aspekty wsparcia, motywacji i zrozumienia pacjentów bez stosowania przymusu. Historycznie rzecz biorąc, ta grupa interwencji była określana jako „leczenie pod bezpośrednią obserwacją” lub DOT.
Zaawansowana choroba HIV	W przypadku dorosłych, młodzieży i dzieci w wieku 5 lat lub starszych „zaawansowana choroba HIV” jest definiowana jako liczba komórek CD4 poniżej 200 komórek/mm ³ lub stan kliniczny 3 lub 4 według klasyfikacji WHO w momencie zgłoszenia się do placówki opieki zdrowotnej. Wszystkie dzieci w wieku poniżej 5 lat żyjące z HIV należy uznać za osoby z zaawansowaną chorobą w momencie zgłoszenia się do placówki opieki zdrowotnej.

Podsumowanie rekomendacji

Szacuje się, że około jedna czwarta światowej populacji jest zakażona prątkiem gruźlicy (*Mycobacterium tuberculosis*) – bakterią będącym czynnikiem etiologicznym wywołującą gruźlicę (TB). Badania w kierunku zakażenia gruźlicą pozwalają zidentyfikować osoby, które mogą odnieść największe korzyści z profilaktycznego leczenia gruźlicy (TPT). Pomimo dostępności skutecznych metod profilaktyki i terapii gruźlica nadal pozostaje główną przyczyną zgonów spowodowanych przez pojedynczy czynnik zakaźny [1]. Po okresie pandemii COVID-19 ponownie stała się najważniejszą przyczyną zgonów w tej kategorii na świecie [1].

Zgodnie z strategią Światowej Organizacji Zdrowia (WHO) „End TB Strategy”, kluczowe znaczenie ma aktywne wykrywanie osób zakażonych, u których ryzyko rozwoju aktywnej choroby jest największe, oraz objęcie ich leczeniem profilaktycznym. Równocześnie strategia podkreśla konieczność wczesnej i dokładnej diagnostyki gruźlicy, w tym gruźlicy lekoopornej (DR-TB), poprzez szerokie stosowanie badań lekowrażliwości (DST). Globalne zobowiązania w tym zakresie wskazują na fundamentalną rolę diagnostyki w szybkim i wiarygodnym wykrywaniu zakażenia, choroby oraz oporności prątków [2].

W celu wsparcia państw w ich wysiłkach na rzecz wzmocnienia wykrywania zakażeń gruźlicą, chorób i lekooporności, Światowy Program Walki z Gruźlicą WHO opracowuje i regularnie aktualizuje oparte na dowodach naukowych wytyczne dotyczące strategii i technologii badań w kierunku gruźlicy. r. Najnowsze skonsolidowane wytyczne w zakresie diagnostyki gruźlicy zostały opublikowane w 2025 roku³ i stanowią punkt odniesienia dla dalszych rekomendacji.

- pojawiły się nowe dowody dotyczące stosowania zalecanych przez WHO szybkich testów diagnostycznych (WRD) do wstępnego wykrywania gruźlicy i oporności na ryfampicynę wśród populacji o podwyższonym ryzyku zachorowalności i śmiertelności związanej z gruźlicą (np. osoby żyjące z HIV i dzieci);
- przeprowadzono systematyczną ocenę dowodów dotyczących molekularnych testów WRD (mWRD), które wcześniej były zalecane jako produkty indywidualne, w celu określenia miejsca mWRD w istniejących lub nowych klasach technologii diagnostycznych gruźlicy.

Niniejszy dokument jest opracowany na podstawie czwartej edycji skonsolidowanych wytycznych WHO dotyczących diagnostyki gruźlicy, w tym dotyczącej diagnostyki zakażenia gruźlicą, aktywnej gruźlicy i lekooporności. W polskiej adaptacji uwzględniono zestaw 21 (nowych i istniejących z wytycznych WHO) rekomendacji, które szerzej zostały opisane w czwartym wydaniu podręcznika operacyjnego WHO dotyczącego gruźlicy (Moduł 3: diagnostyka). Podręcznik operacyjny zawiera dalsze szczegóły dotyczące rekomendowanych testów, diagnostycznych, zasad ich wyboru, wdrażania i stosowania w praktyce, a także zaktualizowane algorytmy diagnostyczne odzwierciedlające zmiany wprowadzone w niniejszych wytycznych.

1. Wstępne testy diagnostyczne gruźlicy z wykrywaniem lekooporności

Automatyczne testy amplifikacji kwasu nukleinowego (NAAT) o niskim poziomie złożoności do wykrywania gruźlicy i oporności na ryfampicynę

Automatyczne testy amplifikacji kwasu nukleinowego (LC-aNAAT) o niskim poziomie złożoności obejmują takie narzędzia, jak Xpert® MTB/RIF Ultra (Cepheid) oraz Truenat® MTB Plus z MTB-RIF Dx (Molbio). Wykonywane są w Polsce. Testy te stanowią w dużej mierze zautomatyzowane rozwiązania odpowiednie dla laboratoriów działających poza ośrodkami referencyjnymi i są obecnie najczęściej stosowanymi testami do wstępnego wykrywania gruźlicy i oporności na ryfampicynę. Urządzenia testowe wykorzystują oprogramowanie i sprzęt (komputery) do raportowania wyników i wymagają dobrze zorganizowanych sieci laboratoriów oraz przeszkolonego personelu.

Automatyczne testy NAAT o średniej złożoności do wykrywania gruźlicy i oporności na ryfampicynę i izoniazyd

Automatyczne testy NAAT o średniej złożoności (MC-aNAAT) są szybsze i mniej skomplikowane w wykonaniu niż fenotypowe testy DST oparte na hodowli i testy LPA (line probe assays) i są w dużej mierze zautomatyzowane po etapie przygotowania próbki. Wykonywane są także w Polsce. Mogą być stosowane jako test wstępny do jednoczesnego wykrywania gruźlicy i oporności na ryfampicynę i izoniazyd. Ten rodzaj testów NAAT oferuje możliwość szybkiego uzyskania dokładnych wyników i sprawdzania skuteczności w sytuacjach, gdy codziennie wymagane jest wykonanie dużej liczby testów. Dlatego też nadają się one do stosowania w obszarach o dużej gęstości zaludnienia i szybkich systemach przekazywania próbek.

2. Wstępne testy do diagnozy gruźlicy bez wykrywania lekooporności

Manualne testy NAAT o niskim poziomie złożoności

Manualne testy NAAT o niskiej złożoności (LC-mNAAT), amplifikacja izotermiczna z pętlą (LAMP), opierają się na amplifikacji DNA w jednym zakresie temperatur; kontrastuje to z reakcją łańcuchową polimerazy (PCR), która wymaga termocyklera. Wykrywanie amplifikowanego produktu odbywa się wizualnie, przy użyciu lampy ultrafioletowej (UV), bezpośrednio w probówkach reakcyjnych. Metoda ta wymaga jedynie podstawowego wyposażenia i może być stosowana na najniższych poziomach sieci laboratoriów. Jednak wykrywanie mutacji w genach związanych z opornością nie jest możliwe przy użyciu obecnie zalecanej technologii.

Wykrywanie antygenów w testach immunochromatograficznych (lateral flow, opartych na biomarkerach)

Obecnie dostępny test wykrywający lipoarabinomannan w moczu (LF-LAM) charakteryzuje się ograniczoną czułością i swoistością, dlatego nie nadaje się jako test diagnostyczny gruźlicy we wszystkich populacjach. Jednak w przeciwieństwie do tradycyjnych metod diagnostycznych, test LF-LAM w moczu wykazuje wyższą czułość w rozpoznawaniu gruźlicy u osób zakażonych jednocześnie wirusem HIV. Wykonywane są także w Polsce.

3. Testy do szybkiego wykrywania lekooporności MTBC

Automatyczne testy NAAT o niskim poziomie złożoności do wykrywania oporności na izoniazyd i leki przeciwgruźlicze drugiej linii

Automatyczne testy NAAT o niskim poziomie złożoności (LC-aNAAT) mogą być stosowane jako badania wykonywane automatycznie w próbkach dodatnich w kierunku kompleksu *Mycobacterium tuberculosis* (MTBC).

Wykonywane są także w Polsce. Testy te umożliwiają szybkie wykonanie testu wrażliwości na leki w laboratoriach pośrednich i peryferyjnych. Pierwszy produkt tej klasy wykrywa jednocześnie oporność na izoniazyd, fluorochinolony, etonamid i amikacynę. Wyniki są dostępne w ciągu 90 minut co stanowi istotne skrócenie czasu w porównaniu z obecnym standardem diagnostycznym.; obejmującym testy LPA i fenotypowe testy DST oparte na hodowli., Należy jednak podkreślić, że badania te dostarczają informacji wstępnej i nie zastępują pełnej oceny lekowrażliwości metodami fenotypowymi.

Testy sond liniowych (LPA)

Testy LPA stanowią grupę metod molekularnych opartych na hybrydyzacji produktów amplifikacji DNA z immobilizowanymi sondami oligonukleotydowymi. Umożliwiają one wykrycie DNA kompleksu *Mycobacterium tuberculosis* (MTBC) oraz identyfikację mutacji związanych z opornością na leki przeciwprątkowe. Mechanizm działania opiera się na analizie wzoru wiązania ampliconów do sond specyficznych dla najczęstszych mutacji warunkujących lekooporność lub odpowiadających im sekwencji typu dzikiego. Wykonywane są także w Polsce.

Testy LPA są technicznie bardziej złożone niż test Xpert MTB/RIF, jednak umożliwiają wykrycie oporności na szerszy zakres leków pierwszego i drugiego rzutu i dostarczają informacji o konkretnych mutacjach genetycznych. Z tego względu znajdują zastosowanie przede wszystkim w laboratoriach referencyjnych, szczególnie w krajach o wysokim obciążeniu gruźlicą. Z tego względu znajdują zastosowanie przede wszystkim w laboratoriach referencyjnych, szczególnie w krajach o wysokim obciążeniu gruźlicą. Wyniki można uzyskać w ciągu 5 godzin.

Ukierunkowane testy sekwencjonowania nowej generacji (tzw. targeted NGS)

Testy oparte na ukierunkowanym sekwencjonowaniu nowej generacji (NGS) są stosowane do wykrywania oporności na szeroki zakres leków przeciwprątkowych po wstępnym rozpoznaniu gruźlicy lub wykryciu oporności na ryfampicynę. Wykonywane są także w Polsce.

Technologia ta łączy amplifikację wybranych genów z sekwencjonowaniem NGS, co umożliwia jednoczesne badanie wielu leków w ramach jednego testu. Ponieważ ukierunkowane NGS pozwala analizować całe geny w celu identyfikacji konkretnych mutacji związanych z opornością, jego dokładność może przewyższać istniejące szybkie testy diagnostycznych (WRD) zalecanych przez WHO. Ponadto nowe testy oparte na ukierunkowanym NGS mogą wykrywać oporność na nowe i ponownie stosowane l, które nie są obecnie uwzględnione w żadnych innych testach molekularnych. W związku z tym ta klasa testów oferuje ogromny potencjał w zakresie kompleksowego wykrywania oporności dostosowanego do nowoczesnych schematów leczenia.

4. Testy wykrywające latentne zakażenie gruźlicą

Testy skórne oparte na antygenach Mtb

Testy skórne oparte na antygenach Mtb (TBST) są stosowane do pośredniego wykrywania zakażenia gruźlicą. TBST polegają na śródskórnym wstrzyknięciu antygenów specyficznych dla Mtb; antygeny wywołują u zakażonych osób miejscową reakcję skórną, którą wykrywa się poprzez pomiar miejscowego stwardnienia 48–72 godziny po podaniu. Chociaż testy te nadal wymagają wykonania wstrzyknięcia pacjentowi i ponownej wizyty w celu interpretacji wyników, są one bardziej specyficzne testy skórne tuberkulinowe (TST).

Testy uwalniania interferonu gamma (IGRA)

Testy uwalniania interferonu gamma (IGRA) to badania *in vitro* oparte na krwi, które służą do pośredniego wykrywania zakażenia *Mycobacterium tuberculosis*. Polegają one na pomiarze ilości interferonu gamma uwalnianego przez limfocyty w krwi pełnej po ekspozycji na antygeny specyficzne dla Mtb. Alternatywnie, niektóre testy oceniają liczbę limfocytów T produkujących interferon gamma w odpowiedzi na te antygeny. Przeprowadzenie testu IGRA zajmuje kilka dni ze względu na etapy inkubacji krwi. Może być trudne do wykonania u pacjentów, u których pobranie krwi jest problematyczne (np. dzieci). Jest to jedyny rodzaj testu na zakażenie MTBC, na którego wyniki nie ma wpływu wcześniejsze szczepienie przeciwko gruźlicy szczepionką BCG (bacille Calmette–Guérin). W środowiskach o wysokim wskaźniku szczepień BCG testy IGRA stanowią zatem najbardziej wiarygodną i obiecującą metodę wykrywania zakażenia gruźlicą. Wykonywane w Polsce.

Testy skórne tuberkulinowe

Testy TST były pierwszą klasą testów zalecanych do wykrywania zakażenia gruźlicą. Polegają one na śródskórnym wstrzyknięciu mieszanki antygenów Mtb, prątków niegruźliczych i preparatu szczepionki BCG, a następnie wykryciu miejscowej reakcji skórnej w postaci stwardnienia po 48–72 godzinach. Podobnie jak w przypadku TBST, testy te mogą ułatwić badanie zakażenia gruźlicą u dzieci i innych pacjentów, u których pobranie krwi jest trudne, ale mogą również dawać fałszywie dodatnie wyniki u osób zakażonych prątkami innymi niż gruźlicze oraz u osób zaszczepionych BCG. W Europie, w tym w Polsce tradycyjna tuberkulina nie jest stosowana klinicznie, dlatego porównanie testów TBST z TST w praktyce klinicznej nie ma zastosowania. W tym kontekście interpretacja odczynu skórniego (OT) opiera się wyłącznie na reakcji na specyficzne antygeny *M. tuberculosis*, co zapewnia większą swoistość i znaczenie diagnostyczne w populacjach nieszczepionych lub o niskim ryzyku gruźlicy.

Rekomendacje dotyczące diagnostyki w Polsce¹

- 1. W przypadku osób dorosłych i młodzieży z objawami gruźlicy lub z wynikiem pozytywnym¹ w badaniach przesiewowych w kierunku gruźlicy płucnej, jako wstępne badania diagnostyczne w kierunku gruźlicy należy stosować automatyczne testy NAAT² o niskim stopniu złożoności z próbek z dróg oddechowych. (Silna rekomendacja, wysoka pewność dowodów)**
- 2. W przypadku osób z potwierdzoną bakteriologicznie gruźlicą³, jako wstępne badania w kierunku wykrycia oporności na ryfampicynę należy stosować automatyczne testy NAAT o niskim stopniu złożoności przeprowadzane z próbek z dróg oddechowych. (Silna rekomendacja, wysoka pewność dowodów)**
- 3. W przypadku osób z objawami gruźliczego zapalenia opon mózgowych do wstępnej diagnozy należy stosować automatyczne testy NAAT o niskim stopniu złożoności na płynie mózgowo-rdzeniowym. (Silna rekomendacja, umiarkowana pewność dowodów)**
- 4. W przypadku osób z objawami pozapłucnej gruźlicy do wstępnej diagnozy gruźlicy należy stosować automatyczne testy NAAT o niskim stopniu złożoności z próbek pobranych z tkanki węzłów chłonnych, tkanki opłucnej, płynu opłucnowego, mazi stawowej, płynu otrzewnowego lub płynu osierdziowego. (Silna rekomendacja, niska pewność dowodów w przypadku płynu maziowego i osierdziowego oraz bardzo niska pewność dowodów w przypadku aspiracji tkanki węzłów chłonnych, tkanki opłucnej, płynu opłucnowego i płynu otrzewnowego).**
- 5. W przypadku osób z objawami gruźlicy płuc można zastosować automatyczne testy NAAT o średniej złożoności z próbek z dróg oddechowych w celu wykrycia gruźlicy płuc oraz oporności na ryfampicynę i izoniazyd. (Rekomendacja warunkowa, umiarkowana pewność dowodów)**
- 6. W przypadku osób dorosłych i młodzieży z objawami lub wynikami badań przesiewowych wskazującymi na gruźlicę płuc, jako wstępne badania diagnostyczne w kierunku gruźlicy należy stosować manualne testy NAAT o niskim poziomie złożoności z próbek z dróg oddechowych. (Silna rekomendacja, wysoka pewność dowodów)**
- 7. W przypadku dorosłych i młodzieży zakażonych wirusem HIV, u których występują objawy gruźlicy, należy wykonać badania przesiewowe dodatni wynik testu na gruźlicę, są poważnie chorzy lub mają zaawansowaną chorobę AIDS, jako wstępną strategię diagnostyczną w kierunku gruźlicy należy zastosować jednoczesne badanie z wykorzystaniem automatycznych testów NAAT o niskiej złożoności w próbkach z dróg oddechowych oraz testu LF-LAM⁴ w moczu, a nie tylko automatycznych testów NAAT o niskiej złożoności z próbek z dróg oddechowych. (Silna rekomendacja, niska pewność dowodów)**

¹ DNA: kwas dezoksyrybonukleinowy; DST: badanie wrażliwości na leki; HIV: ludzki wirus niedoboru odporności; LF-LAM: test bocznego przepływu lipoarabinomannanu w moczu; LPA: test sondy liniowej; Mtb: Mycobacterium tuberculosis; MTBC: kompleks Mycobacterium tuberculosis; NAAT: test amplifikacji kwasu nukleinowego; NGS: sekwencjonowanie nowej generacji; SLID: lek drugiej linii do wstrzykiwań; TB: gruźlica.

² NAAT: test amplifikacji kwasu nukleinowego

³ Bakteriologicznie potwierdzony przypadek gruźlicy to taki, w którym próbka biologiczna daje wynik pozytywny w badaniu mikroskopowym rozmazu, hodowli lub mWRD (np. Xpert MTB/RIF). Wszystkie takie przypadki powinny być zgłaszane, niezależnie od tego, czy rozpoczęto leczenie gruźlicy czy nie.

⁴ LF-LAM: test bocznego przepływu lipoarabinomannanu w moczu

8. U dzieci HIV-ujemnych lub o nieznanym statusie HIV, u których występują objawy gruźlicy płuc lub dodatkowo wyniki badań przesiewowych, należy zastosować równoczesną diagnostykę z wykorzystaniem próbek z dróg oddechowych oraz kału. Kompleksowe, automatyczne testy NAAT wykonywane na tych próbkach powinny być stosowane jako wstępna strategia diagnostyczna w kierunku gruźlicy. Nie należy ograniczać diagnostyki wyłącznie do prostszych testów NAAT o niskim stopniu złożoności wykonywanych tylko na jednym rodzaju materiału (np. wyłącznie z dróg oddechowych albo tylko z kału). *(Silna rekomendacja, niska pewność dowodów)*
9. W przypadku dzieci z HIV, które mają objawy lub wyniki badań przesiewowych wskazujące na gruźlicę płuc, jako wstępną strategię diagnostyczną w kierunku gruźlicy można zastosować równoczesne badania z wykorzystaniem automatycznych testów NAAT o niskim stopniu złożoności z próbek z dróg oddechowych i kału oraz testu LF-LAM na moczu, zamiast automatycznych testów NAAT o niskim stopniu złożoności wyłącznie z próbek z dróg oddechowych lub kału. *(Rekomendacja warunkowa, niska pewność dowodów)*
10. W przypadku osób z potwierdzoną bakteriologicznie gruźlicą płuc można zastosować automatyczne testy NAAT o niskiej złożoności z płwociny w celu wstępnego wykrycia oporności na izoniazyd i fluorochinolony. *(Rekomendacja warunkowa, umiarkowana pewność dowodów)*
11. W przypadku osób z potwierdzoną bakteriologicznie gruźlicą płuc i opornością na ryfampicynę, do wstępnego wykrywania oporności na etionamid można zastosować automatyczne testy NAAT o niskim stopniu złożoności z płwociny, przed wykonaniem sekwencjonowania DNA promotora inhA. *(Rekomendacja warunkowa, bardzo niski poziom pewności dowodów)*
12. W przypadku osób z potwierdzoną bakteriologicznie gruźlicą płuc i opornością na ryfampicynę, do wstępnego wykrywania oporności na amikacynę można zastosować automatyczne testy NAAT o niskiej złożoności z płwociny, przed wykonaniem fenotypowego DST opartego na hodowli. *(Rekomendacja warunkowa, niska pewność dowodów)*
13. W przypadku osób z dodatnim wynikiem badania rozmazu płwociny lub izolatem MTBC z hodowli, do wstępnego wykrywania oporności na ryfampicynę i izoniazyd można stosować komercyjne molekularne testy LPA, przed wykonaniem fenotypowego testu wrażliwości opartego na hodowli. *(Rekomendacja warunkowa, umiarkowana pewność dowodów)*
14. W przypadku osób z potwierdzonym MDR/RR-TB⁵, SL-LPA⁶ może być stosowany jako test wstępny przed wykonaniem fenotypowego testu wrażliwości opartego na hodowli w celu wykrycia oporności na fluorochinolony. *(Rekomendacja warunkowa, umiarkowana pewność dowodów)*
15. W przypadku osób z potwierdzonym MDR/RR-TB, SL-LPA może być stosowane jako test wstępny przed wykonaniem fenotypowego testu wrażliwości opartego na hodowli, w celu wykrycia oporności na SLID. *(Rekomendacja warunkowa, niska pewność dowodów)*

⁵ MDR/RR-TB: gruźlica wielolekooporna lub oporna na ryfampicynę

⁶ SL-LPA: test sondy liniowej drugiej linii

- 16. W przypadku osób z potwierdzoną bakteriologicznie gruźlicą można zastosować wysoce złożone testy NAAT oparte na odwrotnej hybrydyzacji na izolatach hodowlanych Mtb w celu wykrycia oporności na pyrazynamid zamiast fenotypowego testu DST opartego na hodowli. (Rekomendacja warunkowa, bardzo niski poziom pewności dowodów)**
- 17. W przypadku osób z bakteriologicznie potwierdzoną gruźlicą płuc można zastosować ukierunkowane technologie sekwencjonowania nowej generacji w odniesieniu do próbek z dróg oddechowych w celu zdiagnozowania oporności na ryfampicynę, izoniazyd, fluorochinolony, pyrazynamid i etambutol przed wykonaniem fenotypowego DST opartego na hodowli. (Rekomendacja warunkowa, pewność dowodów umiarkowana [izoniazyd i pyrazynamid] i niska [ryfampicyna, fluorochinolony i etambutol])**
- 18. W przypadku osób z potwierdzoną bakteriologicznie gruźlicą płuc oporną na ryfampicynę można zastosować ukierunkowane technologie sekwencjonowania nowej generacji (NGS) w odniesieniu do próbek z dróg oddechowych w celu zdiagnozowania oporności na izoniazyd, fluorochinolony, bedakilinę, linezolid, kłofazyminę, pyrazynamid, etambutol, amikacynę i streptomycynę, przed wykonaniem fenotypowego DST opartego na hodowli. (Rekomendacja warunkowa, pewność dowodów wysoka [izoniazyd, fluorochinolony i pyrazynamid], umiarkowana [etambutol], niska [bedakilina, linezolid, kłofazymina i streptomycyna] i bardzo niska [amikacyna]).**
- 19. Do wykrywania zakażenia gruźlicą można stosować testy skórne oparte na antygenach *Mycobacterium tuberculosis*. (Rekomendacja warunkowa, bardzo niski poziom pewności dowodów)**
- 20. Do wykrywania zakażenia gruźlicą można zastosować test skórną tuberkulinowy lub test uwalniania interferonu gamma. (Silna rekomendacja, bardzo niski poziom pewności dowodów)**
- 21. Testy uwalniania interferonu gamma (IGRA) oraz testy skórne tuberkulinowe (TST) nie powinny być stosowane do diagnozowania aktywnej gruźlicy płucnej ani pozapłucnej u dorosłych, w tym osób żyjących z HIV. (Silna rekomendacja)**

1. Wprowadzenie

Szacuje się, że około jedna czwarta światowej populacji jest zakażona *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb) – bakterią wywołującą gruźlicę (TB). Badania w kierunku zakażenia TB pozwalają zidentyfikować osoby, które odniosłyby największe korzyści z profilaktycznego leczenia TB (TPT). Szacuje się, że bez TPT około 5–10% zakażonych osób zachoruje na gruźlicę w ciągu swojego życia, zazwyczaj w ciągu 5 lat od pierwotnego zakażenia [1].

Pomimo dostępności środków zapobiegawczych i leczenia choroby, gruźlica pozostaje główną przyczyną zgonów spowodowanych przez pojedynczy czynnik zakaźny i prawdopodobnie po raz pierwszy od początku globalnej pandemii zastąpiła koronawirusa (COVID-19) jako główną przyczynę zgonów na całym świecie [1]. Szacuje się, że w 2023 r. gruźlicą zachorowało 10,8 mln osób, ale zdiagnozowano ją tylko u 8,2 mln zostało zdiagnozowanych. Ponadto oporność na antybiotyki stosowane w leczeniu gruźlicy pozostaje wyzwaniem, a szacuje się, że 400 000 osób (95% przedział niepewności [UI]: 370 000–450 000) rozwinęła gruźlicę oporną na ryfampicynę (RR-TB) lub gruźlicę oporną zarówno na ryfampicynę, jak i izoniazyd, definiowaną jako gruźlica wielolekooporna (MDR-TB) [1].

Polska pozostaje krajem, w którym gruźlica stanowi istotne wyzwanie, szczególnie w kontekście populacji o niskiej odporności i narastającej lekooporności prątków. Liczba zgłoszonych przypadków w 2020 roku spadła do poziomu 3 388, co stanowiło redukcję o 36,7% w porównaniu z rokiem 2019. Kolejne lata, 2021–2023, przyniosły zjawisko splatecia długu zdrowotnego oraz nowe zjawiska związane z imigracją (także z powodu wojny w Ukrainie), charakteryzujące się stopniowym wzrostem liczby wykrywanych zachorowań. Obecnie współczynniki zapadalności oscylują wokół 11–12 przypadków na 100 000 ludności. Dane za 2024 rok, wskazujące na zarejestrowanie 4 236 przypadków, sugerują wygasanie trendu wzrostowego związanego z okresem postpandemicznym i powrót do długofalowej tendencji spadkowej. Polska osiąga bardzo wysokie wskaźniki potwierdzenia bakteriologicznego, co świadczy o wysokiej jakości pracy laboratoriów prątków. W 2023 roku aż 80,1% wszystkich przypadków zostało potwierdzonych metodami mikrobiologicznymi. W 2024 roku gruźlica została potwierdzona bakteriologicznie u 3 484 chorych (czyli ok. 82%), w tym u 3 391 osób z gruźlicą płuc. [4, 5

W 2018 r. Organizacja Narodów Zjednoczonych (ONZ) zorganizowała pierwsze na świecie spotkanie wysokiego szczebla poświęcone gruźlicy. Deklaracja polityczna przyjęta podczas tego spotkania zawierała zobowiązania państw członkowskich do osiągnięcia czterech nowych celów globalnych (2). Zobowiązania te zostały następnie odnowione podczas drugiego spotkania wysokiego szczebla ONZ w 2023 r. Obejmowały one zapewnienie TPT co najmniej 45 milionom osób w latach 2024–2027 oraz objęcie 90% szacowanej liczby osób, u których rozwinie się gruźlica, diagnostyką i leczeniem o gwarantowanej jakości w latach 2023–2027 (3). Ponadto strategia Światowej Organizacji Zdrowia (WHO) na rzecz zwalczania gruźlicy wzywa do wykrywania osób zakażonych gruźlicą, które są bardziej narażone na rozwój aktywnej postaci choroby, aby mogły one otrzymać TPT, a także do wczesnej diagnostyki gruźlicy i powszechnego badania wrażliwości na leki (DST). Te globalne zobowiązania i plany podkreślają kluczową rolę badań w kierunku gruźlicy w szybkim i dokładnym wykrywaniu zakażeń gruźlicą, choroby i lekooporności.

W ostatnich latach Światowy Program Walki z Gruźlicą WHO (WHO/MTB) wydał oparte na dowodach naukowych wytyczne dotyczące badań diagnostycznych, aby wesprzeć kraje w ich wysiłkach na rzecz wykrywania zakażeń

gruźlicą, choroby i lekooporności. W miarę opracowywania nowych narzędzi diagnostycznych i pojawiania się dowodów dotyczących ich stosowania i wpływu, WHO/GTB zleca przeprowadzenie systematycznych przeglądów i zwołuje grupy ds. opracowywania wytycznych (GDG) w celu aktualizacji wytycznych. Od 2021 r. aktualizacje te są publikowane w postaci skonsolidowanych wytycznych opartych na modułach. Do 2024 r. rekomendacje dotyczące polityki w zakresie badań przesiewowych w kierunku zakażenia gruźlicą, gruźlicy i lekooporności były przedstawiane oddzielnie (odpowiednio w skonsolidowanych wytycznych dotyczących profilaktyki i diagnostyki).

Niniejszy dokument stanowi czwarte wydanie wytycznych WHO dotyczących diagnostyki gruźlicy. W porównaniu z trzecim wydaniem, opublikowanym w 2024 r., niniejszy dokument:

- jest pierwszym dokumentem, który łączy wytyczne dotyczące diagnostyki zakażenia gruźlicą, choroby gruźliczej i lekooporności w jednym dokumencie referencyjnym;
- ustanawia dwie nowe klasy technologii diagnostycznych gruźlicy (do wstępnego wykrywania gruźlicy i oporności na ryfampicynę), które obejmują testy wcześniej zalecane do stosowania jako produkty indywidualne; oraz
- zawiera nowe rekomendacje dotyczące równoczesnego badania próbek z dróg oddechowych i innych narządów u dorosłych i młodzieży zakażonych wirusem HIV, dzieci zakażonych wirusem HIV oraz dzieci niezakażonych wirusem HIV lub o nieznanym statusie serologicznym.

1.1. Dostęp do diagnostyki w Polsce

Skuteczne leczenie gruźlicy opiera się na szybkim rozpoznaniu gruźlicy, szybkim wykryciu lekooporności oraz niezwłocznym wdrożeniu skutecznego schematu leczenia. Szybka i wiarygodna diagnostyka stanowi kluczowy element opieki nad osobą chorą na gruźlicę jest. Takie badania można wykonać za pomocą szybkich testów molekularnych, fenotypowych testów wrażliwości lub w laboratoriach referencyjnych - sekwencjonowania genetycznego.

Zakres diagnostyki w gruźlicy zgodnie z rekomendacjami WHO [5]

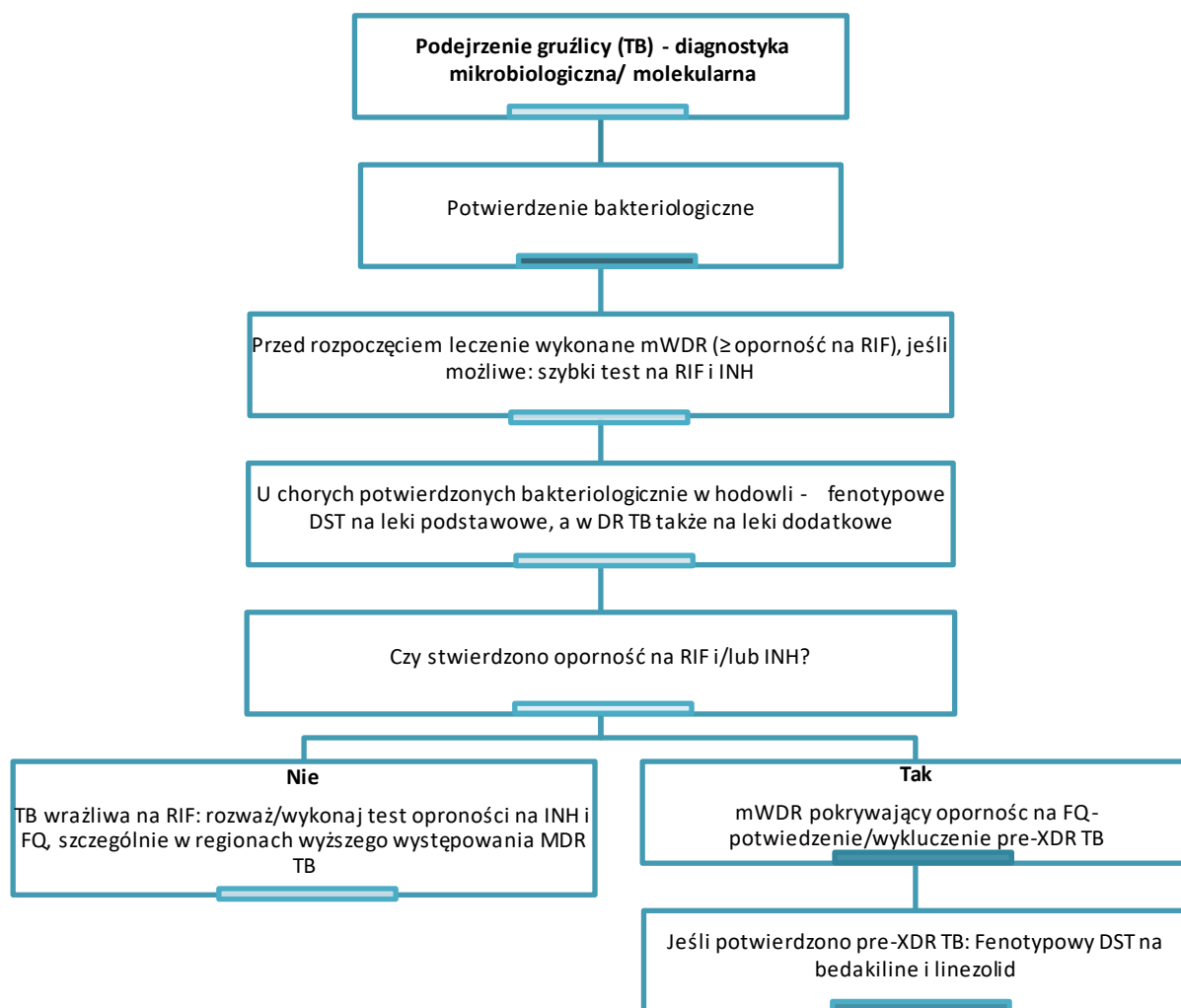
1. Każdy chory z podejrzeniem TB, powinien mieć wykonany molekularny szybki test diagnostyczny rekomendowany przez WHO (mWRD), wykrywający gruźlicę.
2. Każdy chory z potwierdzoną bakteriologicznie TB przed rozpoczęciem leczenia, powinien mieć wykonany mWDR wykrywający, co najmniej oporność na rifampicynę, a jeśli istnieje możliwość powinien mieć wykonany molekularny szybki test diagnostyczny wykrywający jednocześnie oporność na rifampicynę (RIF) i izoniazyd (INH), co ułatwia wykrywanie monooporności na każdy z tych kluczowych leków, jak również potwierdza gruźlicę wielolekooporną typu MDR.
3. Każdy chory z potwierdzoną bakteriologicznie TB oporną na rifampicynę i/lub izoniazyd, powinien mieć wykonany mWDR wykrywający oporność na fluorochinolony (FQ) w celu potwierdzenia lub wykluczenia gruźlicy typu pre-XDR.
4. W przypadku chorych z TB wrażliwą na rifampicynę, istnieje potrzeba przeprowadzania badań w kierunku oporności na izoniazyd i fluorochinolony, szczególnie w regionach, gdzie wzrasta częstość występowania MDR-TB.

5. Każdy chory z potwierdzoną bakteriologicznie TB powinien mieć wykonany test lekooporności metodami fenotypowymi na leki podstawowe a w przypadku gruźlicy lekoopornej również na leki dodatkowe.
6. Każdy chory z pre-XDR-TB powinien mieć wykonany test lekooporności metodami fenotypowymi na bedakilinę i linezolid.

Przypadek TB uznaje się za potwierdzony bakteriologicznie, jeżeli rozpoznanie postawiono na podstawie dodatniego wyniku szybkiego testu molekularnych zalecanego przez WHO [6] i dodatnim wyniku rozmazu AFB lub dodatnim wyniku posiewu. Mikrobiologiczne potwierdzenie TB ma kluczowe znaczenie, ponieważ umożliwia wczesne wdrożenie właściwego schematu leczenia. Przypadki rozpoznane bez potwierdzenia bakteriologicznego, klasyfikuje się jako przypadki TB rozpoznana klinicznie.

Zgodnie z aktualnymi wytycznymi WHO [7] u każdego chorego z podejrzeniem TB, należy wykonać molekularny szybki test diagnostyczny rekomendowany (mWRD – ang. molecular WHO-recommended rapid diagnostics), w celu potwierdzenia gruźlicy, gdyż charakteryzują się wysoką swoistością i czułością. Testy te zasadniczo zmieniły diagnostykę TB, która wcześniej opierała się głównie na metodach konwencjonalnych, takich jak mikroskopia AFB (ang. Acid Fast Bacilli) i posiew. Potwierdzenie bakteriologiczne TB jest również niezbędne do przeprowadzenia badań w kierunku oporności na leki przeciwgruźlicze (ang. drug susceptibility testing, DST). Każdy chory z bakteriologicznie potwierdzoną TB przed rozpoczęciem leczenia, powinien mieć wykonany mWRD wykrywający co najmniej oporność na rifampicynę, a jeśli istnieje możliwość jednocześnie oporność na rifampicynę i izoniazyd (INH), co ułatwia wykrywanie monooporności na każdy z tych kluczowych leków oraz wczesne potwierdzenie gruźlicy wielolekoopornej (MDR-TB). W drugim kroku po wykonaniu oporności na rifampicynę i/lub izoniazyd, powinien mieć wykonany mWRD wykrywający oporność na fluorochinolony (FQ) w celu potwierdzenia lub wykluczenia gruźlicy typu pre-XDR. Każdy chory z pre-XDR-TB powinien mieć wykonany test lekooporności metodami fenotypowymi na bedakilinę i linezolid.

Rysunek 1. Schemat diagnostyki gruźlicy z wykorzystaniem testów mWDR []



Wprowadzenie nowych leków do leczenia gruźlicy oraz aktualizacja definicji gruźlicy *pre-XDR* i *XDR* wymaga pilnych zmian w schematach diagnostycznych obowiązujących w laboratoriach prątko, a w szczególności w zakresie zwiększenia skali wykrywania oporności na fluorochinolony w tym lewofloksacynę i moksyflokscynę, jak również bedakilinę i linezolid. W przypadku stosowania krótkiego 6-miesięczny schematu leczenia z zastosowaniem bedakiliny, pretomanidu, lewofloksacyny/moksyflokscacyny (schemat BPaLM lub BPaL), badanie oporności na fluorochinolony oraz na bedakilinę i linezolid jest priorytetem. W schemacie BPaL i BPaLM stosowany jest pretomanid, dla którego obecnie nie ma rekomendacji, co do wykonywania testów lekooporności.

1.2. Organizacja diagnostyki w Polsce

Badania mikrobiologiczne są wykonywane w specjalistycznych laboratoriach prętka nadzorowanych przez Krajowe Referencyjne Laboratorium Prętka (KRLP), powołane decyzją Ministra Zdrowia, które działa w obrębie Zakładu Mikrobiologii IGiChP w Warszawie. Zadaniem KRLP jest monitorowanie lekooporności *Mycobacterium tuberculosis* complex oraz nadzór nad siecią laboratoriów prętka w Polsce. W ramach swoich zadań, KRLP prowadzi kontrolę jakości i kontrolę zewnątrzlaboratoryjną, zapewniając zgodność z wymaganiami Europejskiego Centrum do Spraw Zapobiegania i Kontroli Chorób (ECDC) oraz Światowej Organizacji Zdrowia (WHO). KRLP sprawuje nadzór nad jakością badań mikrobiologicznych.

Kontrola zewnątrzlaboratoryjna obejmuje wszystkie etapy diagnostyki mikrobiologicznej gruźlicy: monitorowanie prawidłowości wykonywania testów molekularnych, bakterioskopii (identyfikacji chorych prętkujących), posiewów (umożliwiających identyfikację gatunkową prętków gruźlicy i molekularne dochodzenia epidemiologiczne), testów lekooporności (pozwalających na właściwe dobieranie terapii). Celem jest zapewnienie, że procedury laboratoryjne są przeprowadzane poprawnie i zgodnie z ustalonymi standardami.

W Polsce gruźlica jest chorobą podlegającą zgłoszeniu na mocy Obwieszczenie Ministra Zdrowia z dnia 4 maja 2023 r. w sprawie ogłoszenia jednolitego tekstu rozporządzenia Ministra Zdrowia w sprawie zgłaszania podejrzeń i rozpoznania zakażeń, chorób zakaźnych oraz zgonów z ich powodu [8]. Lekarz, który podejrzewa lub rozpoznaje gruźlicę ma obowiązek zgłoszenia tego faktu do właściwego Państwowego Powiatowego Inspektora Sanitarnego w ciągu 24 godzin na druku ZLK-2 „Zgłoszenie rozpoznania gruźlicy”. Zgłoszenie jest przekazywane w postaci elektronicznej lub papierowej. Analogicznie w przypadku zgonu z powodu gruźlicy istnieje obowiązek zgłoszenia tego faktu na druku ZLK-5. „Krajowy Rejestr Zachorowań na Gruźlicę” jest prowadzony przez Instytut Gruźlicy i Chorób Płuc w Warszawie, który został wskazany przez Główny Inspektorat Sanitarny jako krajowa, specjalistyczna jednostka właściwa w zakresie gruźlicy.

Zgłoszeniu podlegają również dodatkowo wyniki badań mikrobiologicznych w kierunku gruźlicy (na mocy rozporządzenia Ministra Zdrowia z dnia 24 czerwca 2020 roku w sprawie zgłaszania wyników badań w kierunku biologicznych czynników chorobotwórczych u ludzi, Dz.U. 2020 poz. 1118). [9] Diagnosta laboratoryjny lub inna osoba uprawniona do samodzielnego wykonywania czynności medycyny laboratoryjnej, w przypadku wykonania badania w kierunku biologicznego czynnika chorobotwórczego, są obowiązani do zgłoszenia wyniku tego badania właściwemu państwowemu inspektorowi sanitarnemu. Zgłoszenia dokonuje się niezwłocznie, nie później jednak niż w ciągu 24 godzin od momentu uzyskania wyniku w postaci elektronicznej lub papierowej. Zgłoszenia dokonuje się na druku ZLB-2 - Zgłoszenie wyniku badania w kierunku gruźlicy. Zgodnie z rozporządzeniem⁷, zgłoszeniu podlega *Mycobacterium tuberculosis* complex w następujących sytuacjach:

- wykrycie prętków kwasoopornych w płwocinie lub innym materiale klinicznym pobranym z dróg oddechowych chorego i wykazanie badaniem molekularnym przynależności prętków do kompleksu *Mycobacterium tuberculosis* (gruźlica w okresie prętkowania),
- izolacja z materiału klinicznego prętków należących do kompleksu *Mycobacterium tuberculosis*,

⁷ z załącznikiem do rozporządzenia, cz. 2, poz 22

- wykrycie wielolekooporności typu MDR prątków należących do kompleksu *Mycobacterium tuberculosis*.

1.3. Klasy testów i produkty

Jak podkreślono powyżej, wszystkie technologie objęte rekomendacjami WHO/GTB powinny zostać poddane ocenie wstępnej, o ile jest ona dostępna. Aby utrzymać rekomendacja WHO/GTB, konieczne jest pomyślne przejście oceny. Aktualny zestaw klas testów diagnostycznych w kierunku gruźlicy i zawarte w nich produkty wymieniono w Tabeli 1, a dwie nowe klasy omówiono poniżej.

Tabela 1. Klasy i produkty testów TB służących do wykrywania gruźlicy, gruźlicy lekoopornej i zakażenia gruźlicą uwzględnione w aktualnych wytycznych

Klasy testów	Produkty
Wstępne testy diagnostyczne gruźlicy z wykrywaniem lekooporności	
O niskim poziomie złożoności testy amplifikacji kwasu nukleinowego (NAAT) do wykrywania gruźlicy i oporności na ryfampicynę (NOWOŚĆ)	Xpert® MTB/RIF i Xpert MTB/RIF Ultra (Cepheid) Truenat® MTB Plus i Truenat MTB-RIF Dx (Molbio)
Automatyczne testy NAAT o średniej złożoności do wykrywania gruźlicy i oporności na ryfampicynę i izoniazyd	Abbott RealTime® MTB i Abbott RealTime MTB RIF/INH (Abbott) BD MAX™ MDR-TB (Becton Dickinson) cobas® MTB i cobas MTB-RIF/INH (Roche) FluoroType® MTB i FluoroType MTBDR (Hain Lifescience/Bruker)
Wstępne testy diagnostyczne gruźlicy bez wykrywania lekooporności	
O niskim stopniu złożoności manualne testy NAAT do wykrywania gruźlicy (NOWOŚĆ)	Zestaw do wykrywania MTBC Loopamp™ (TB LAMP) (Eiken Chemical)
Wykrywanie antygenów w formacie przepływu bocznego (wykrywanie oparte na biomarkerach) (LF-LAM) do wykrywania gruźlicy	Determine™ TB LAM Ag (Alere/Abbott)
Testy uzupełniające do wykrywania lekooporności gruźlicy	
Automatyczne testy NAAT o niskiej złożoności do wykrywania oporności na izoniazyd i leki przeciwgruźlicze drugiej linii	Xpert® MTB/XDR (Cepheid)
Testy z sondą liniową (LPA) do wykrywania lekooporności gruźlicy	GenoType® MTBDRplus v1 i v2; oraz GenoType MTBDRsl (Hain Lifescience/Bruker) Genoscholar™ NTM+MDRTB II i Genoscholar PZA-TB II (Nipro)
Ukierunkowane testy sekwencjonowania nowej generacji (NGS) do wykrywania lekooporności prątków gruźlicy	Deeplex® Myc-TB (GenoScreen/Illumina) AmPORE-TB® (Oxford Nanopore Technologies) TBseq® (Shengting Medical Technology Company)
Testy na obecność zakażenia gruźlicą	
<i>Mycobacterium tuberculosis</i> Testy skórne oparte na antygenach (TBST)	Diaskintest® (Generium) Siiltibcy™ (Serum Institute of India) C-TST (Anhui Zhifei Longcom)
Testy uwalniania interferonu gamma (IGRA)	T-SPOT.TB (T-Spot) (Revity) TB-IGRA (Wantai BioPharm) QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) (QIAGEN) STANDARD E TB-Feron ELISA (SD BIOSENSOR)3 LIAISON QFT-Plus CLIA (Diasorin)3
Testy skórne tuberkulinowe	Produkty zawierające oczyszczoną pochodną białkową tuberkuliny (PPD)

NAAT: test amplifikacji kwasu nukleinowego; TB: gruźlica.

2. Cel i metodologia wytycznych

2.1. Cel wytycznych postępowania klinicznego

Celem wytycznych jest przedstawienie właściwego postępowania w diagnostyce w przypadku podejrzenia gruźlicy w Polsce i przedstawia rekomendację dotyczące nowych narzędzi diagnostycznych służących do wykrywania MTBC, obecności lub braku mutacji w genach docelowych, które, jak wykazano, są związane z lekoopornością prątków gruźlicy, oraz zakażenia gruźlicą.

Jest to pierwsza adaptacja wytycznych w kierunku diagnostyki gruźlicy i przedstawia pełen zakres możliwej diagnostyki gruźlicy, w tym kluczowe aspekty możliwości w Polsce dla lekarzy pulmonologów, mikrobiologów, diagnostów laboratoryjnych i dla innych lekarzy specjalistów.

2.2. Grupy zawodowe lub grupy chorych, których dotyczą wytyczne

Wytyczne dotyczą zasad postępowania kadry medycznej oraz innych pracowników placówek opieki zdrowotnej, w zakresie diagnostyki w kierunku gruźlicy w tym gruźlicy lekoopornej (DR TB), w tym kierownicy laboratoriów, lekarze i inny personel medyczny, kierownicy programów dotyczących HIV i gruźlicy, decydenci, instytucje publiczne i partnerzy realizujący programy wspierające stosowanie testów diagnostycznych w kierunku gruźlicy.

W ramach wytycznych wykluczono działania dotyczące profilaktyki, leczenia w kierunku gruźlicy w ogóle i gruźlicy lekoopornej, wsparcia i organizacji opieki, kwestie dotyczące prewencji gruźlicy czy leczenia chorób współtowarzyszących oraz dzieci.

2.3. Odbiorcy wytycznych (w tym typy jednostek ochrony zdrowia)

Docelowymi odbiorcami wytycznych są specjaliści pulmonolodzy oraz inni lekarze zajmujący się chorymi na gruźlicę, kierownicy placówek opieki zdrowotnej oraz decydenci, w tym Ministerstwo Zdrowia, NFZ oraz AOTMIT.

2.4. Zakres interwencji uwzględnione w wytycznych

W ramach wytycznych uwzględniono przede wszystkim kwestie dotyczące leczenia osób chorych na gruźlicę wrażliwą na leki (DSTB), w tym monitorowania terapii oraz wsparcie organizacji świadczeń zdrowotnych. Rozdział dotyczący zaleceń obejmuje następujące aspekty leczenia tej grupy chorych:

1. Wstępne badania diagnostyczne w kierunku gruźlicy z wykrywaniem lekooporności:
 - LC-aNAAT do wykrywania gruźlicy i oporności na ryfampicynę
 - Automatyczne testy NAAT o umiarkowanym stopniu złożoności do wykrywania gruźlicy i oporności na ryfampicynę i izoniazyd
2. Wstępne testy diagnostyczne do rozpoznania gruźlicy bez wykrywania lekooporności:

- Manualne testy NAAT o niskiej złożoności do wykrywania gruźlicy,
3. Równoczesne stosowanie wstępnych testów diagnostycznych do diagnozowania gruźlicy u osób żyjących z HIV i dzieci:
 - Jednoczesne stosowanie testów u osób żyjących z HIV,
 - Jednoczesne stosowanie testów u dzieci bez zakażenia wirusem HIV lub o nieznanym statusie serologicznym,
 - Jednoczesne stosowanie testów u dzieci zakażonych wirusem HIV, **Błąd! Nie zdefiniowano zakładki.**
 4. Dalsze badania diagnostyczne w celu wykrycia dodatkowej oporności na leki po potwierdzeniu gruźlicy:
 - Automatyczne testy NAAT o niskiej złożoności do wykrywania oporności na izoniazyd i leki przeciwgruźlicze drugiej linii,
 - LPA pierwszej linii,
 - Testy NAAT o wysokiej złożoności oparte na odwrotnej hybrydyzacji do wykrywania oporności na pyrazynamid,
 - Ukierunkowane sekwencjonowanie nowej generacji,
 5. Zalecenia dotyczące diagnostyki zakażenia gruźlicą. **Błąd! Nie zdefiniowano zakładki.**

Każdy rozdział rozpoczyna się od aktualnych zaleceń dotyczących omawianego zagadnienia, zawiera uzasadnienie ze wskazaniem dowodów naukowych wykorzystanych do sformułowania tych zaleceń oraz informacje na temat aspektów praktycznych, w tym dotyczących wdrażania w polskim systemie opieki zdrowotnej. W osobnych rozdziałach omówiono monitorowanie, w tym działań niepożądanych.

2.5. Metodologia

Rekomendacje dotyczące leczenia gruźlicy wrażliwej przedstawione w tym dokumencie zostały opracowane w 2022/2025 roku w procesie zespołowej pracy Grupy Roboczej (GR) pod kierunkiem metodologa na podstawie dostępnych wówczas wytycznych WHO dotyczących diagnostyki z 2025 roku. [3]

W ramach procesu adaptacji wykorzystano opracowane dowody naukowe zgodnie z metodologią Grading of Recommendations, Assessment, Development and Evaluation (GRADE) [10, 11] opracowaną w oryginalnych wytycznych WHO, które zawierały one ocenę pewności dowodów oraz podsumowanie wyników/efektów dla każdego wyniku/efektu kluczowego i każdego pytania kluczowego. Panel ekspertów wykorzystuje te oceny jako podstawę do dyskusji i formułowania zaleceń w ramach EtD [12] (dla wskazanych rekomendacji przeprowadzoną pełną ocenę EtD, dla pozostałych dokonano oceny przy uwzględnieniu przede wszystkim pytań w zakresie kosztów/opłacalności, równości w zdrowiu, akceptacji oraz wykonalności.

W ramach pracy GR wykorzystano ramy Evidence to Decision (EtD) do wsparcia formułowania zaleceń lub stanowisk. Podstawowe domeny w ramach EtD to równowaga korzyści i szkód oraz jakość dowodów, chociaż inne domeny EtD (wartości/preferencje, akceptowalność, wykonalność, koszty i sprawiedliwość/równość dostępu) również wpłynęły na rekomendacje. Zastosowane podejście EtD w stosunku do rekomendacji opracowanych przez WHO i oceniono je w ramach warunków polskiego systemu opieki zdrowotnej. EtD pracowano w dokumencie Word uwzględnieniem materiałów opracowanych przez WHO, które następnie dostosowywano do polskiego systemu opieki zdrowotnej.

Tabela 2. Ramy opracowania rekomendacji i stanowisk zgodnie z metodyką Evidence to Decision (EtD).

Pytania w języku polskim	Pytania oryginalne
Problem zdrowotny	Problem
Czy oceniany problem zdrowotny jest priorytetowy?	Is the problem a priority?
Pożądane efekty	Desirable effects
Jak duże są przewidywane pożądane efekty?	How substantial are the desirable anticipated effects?
Niepożądane efekty	Undesirable effects
Jak duże są przewidywane niepożądane efekty?	How substantial are the undesirable anticipated effects?
Pewność dowodów	Certainty of the evidence
Jaka jest ogólna pewność dowodów naukowych dotyczących ocenianych efektów zdrowotnych?	What is the overall certainty of the evidence of effects?
Wartości	Values
Czy istnieje istotna niepewność lub zmienność w ocenie wartości głównych punktów końcowych przez interesariuszy?	Is there important uncertainty about or variability in how much people value the main outcomes?
Bilans efektów zdrowotnych	Balance of effects
Czy bilans między pożądanymi a niepożądanymi efektami zdrowotnymi przemawia za interwencją czy za grupą kontrolną?	Does the balance between desirable and undesirable effects favour the intervention or the comparison?
Wymagane zasoby	Resources required
Jak duże są wymagania dotyczące zasobów (koszty) przy stosowaniu danej interwencji?	How large are the resource requirements (costs)?
Pewność dowodów dotyczących wymaganych zasobów	Certainty of evidence of required resources
Jaka jest pewność dowodów dotyczących wymagań zasobowych (kosztów)?	What is the certainty of the evidence of resource requirements (costs)?
Opłacalność	Cost-effectiveness
Czy efektywność kosztowa interwencji przemawia za nią czy za interwencją alternatywną?	Does the cost-effectiveness of the intervention favour the intervention or the comparison?
Równość	Equity
Jaki byłby wpływ na równość w zdrowiu?	What would be the impact on health equity?
Akceptowalność	Acceptability
Czy interwencja jest akceptowalna dla kluczowych interesariuszy?	Is the intervention acceptable to key stakeholders?
Wykonalność	Feasibility
Czy wdrożenie interwencji jest wykonalne?	Is the intervention feasible to implement?

W opisach przedstawiono kwestie dotyczące znacznej niepewności lub zmienności co do tego, jak bardzo użytkownicy końcowi cenią sobie główne wyniki oraz jaki jest wpływ na równość w dostępie do opieki zdrowotnej przedstawiano w ramach perspektywy interesariuszy.

W przypadku aktualizacji dowodów naukowych dokonano przeglądu systematycznego w celu identyfikacji istniejących przeglądów systematycznych i oceniono ich jakość metodologiczną za pomocą narzędzia AMSTAR2. [13]

Wyniki prac i ich założenia były przedstawiane przez metodologa podczas spotkań GR, których odbyło się łącznie 3 w okresie od 10.2025-03.2026. Oprócz tego oceny domen EtD były oparte na zbiorowej pracy i doświadczeniu

członków panelu. Względy implementacyjne były kluczowymi elementami, które mają ułatwić właściwe stosowanie zaleceń, ale nie są oceniane za pomocą metodologii GRADE.

Tabela 3. Określanie pewności dowodów w systemie Grading of Recommendations, Assessment, Development and Evaluation (GRADE).

Wysoki	Bardzo pewne oszacowanie efektu i zmiana tej pewności po przeprowadzeniu dalszych badań jest mało prawdopodobna
Średni	Umiarkowane zaufanie do oszacowanego efektu i dalsze badania mogą mieć istotny wpływ na pewność wyników i uzyskane oszacowania efektów
Niski	Niskie zaufanie do szacowanego efektu i jest bardzo prawdopodobne, że dalsze badania będą miały istotny wpływ na wnioskowanie i prawdopodobnie zmienią szacowane efekty
Bardzo niski	Bardzo duża niepewność co do szacowanego efektu

Po określeniu pod kierunkiem metodologa pewności dowodów, Grupa Robocza określa siłę rekomendacji jako silną lub warunkową.

2.6. Klasyfikacja siły rekomendacji

Po określeniu domen EtD pod kierunkiem metodologa, Grupa Robocza określa siłę rekomendacji – silna lub warunkowa. Silne rekomendacje dotyczą interwencji, gdy korzyści wyraźnie przeważają nad szkodami, z co najmniej umiarkowaną pewnością, a inne czynniki przemawiające za silnymi rekomendacjami to niewrażliwość na zmienność preferencji/wartości w odniesieniu do wyników, szeroka wykonalność i akceptowalność, oszczędność kosztów lub efektywność kosztowa oraz prawdopodobny pozytywny wpływ na poprawę dostępności.

Gdy pewność danych jest niska lub bardzo niska, silne rekomendacje wymagają mocnego uzasadnienia potencjalnych korzyści netto pomimo ograniczeń w dowodach oraz silnego wsparcia ze strony innych domen EtD. W takich sytuacjach można rozważyć stanowisko, jeśli pewność korzyści jest wysoka w oparciu o dowody pośrednie. W niektórych przypadkach, po stwierdzeniu, że korzyści z interwencji nie przeważają nad szkodami i uwzględnieniu domen EtD, członkowie Grupy Roboczej mogli wydać rekomendacja przeciwko zastosowaniu interwencji.

Tabela 4. Przyjęta perspektywa oraz opis siły rekomendacji

Perspektywa	Silna rekomendacja (Strong Recommendation)	Rekomendacja warunkowa (Conditional Recommendation)
Z perspektywy pacjentów	Większość osób w tej sytuacji chciałaby zastosować zalecane postępowanie, a tylko niewielki odsetek by tego nie chciał. Zwykle nie ma potrzeby stosowania formalnych narzędzi wspomagania decyzji, aby pomóc osobom podejmować wybory zgodne z ich wartościami i preferencjami.	Większość osób w tej sytuacji chciałaby zastosować sugerowane postępowanie, ale wiele osób by tego nie chciało.
Z perspektywy klinicystów	Większość osób powinna otrzymać daną interwencję. Przestrzeganie tej rekomendacji zgodnie z wytycznymi może być wykorzystywane jako kryterium jakości lub wskaźnik efektywności.	Należy uznać, że u poszczególnych pacjentów odpowiednie mogą być różne wybory, a pacjentom trzeba pomóc dojść do decyzji dotyczącej postępowania zgodnej z ich wartościami i preferencjami. Narzędzia wspomagania decyzji mogą być użyteczne w

		pomaganiu osobom podejmować decyzje spójne z ich wartościami i preferencjami.
Z perspektywy decydentów/polityków	Rekomendacja może zostać przyjęta jako polityka/postępowanie standardowe w większości sytuacji.	Tworzenie polityki będzie wymagało szerokiej debaty oraz zaangażowania różnych interesariuszy.

Stanowisko (stanowiska dobrej praktyki, ang. good practice statement) dotyczące interwencji było wprowadzane, gdy bilans pomiędzy zyskami a stratami był duży, a szkody bardzo małe albo pewność korzyści i szkód była duża, wartości i preferencje były jasne oraz była ona wyraźne akceptowalna (promuje sprawiedliwość społeczną albo równość dostępu i preferencje są jasne), a sama interwencja jest wykonalna. Stanowiska są zazwyczaj wydawane z różnych przyczyn, w tym z powodu przepisów, priorytetów, harmonogramu, zasobów lub charakteru ocenianych dowodów, ale są zakorzenione w fakcie, że odpowiedzi są oczywiste. Stanowiska nie są tworzone w oparciu o metodykę GRADE. Stanowiska formułowane typowo w sytuacjach, w których duży i przekonujący zbiór dowodów pośrednich, składający się z powiązanych dowodów obejmujących porównania pośrednie, silnie wspierał korzyści netto z zalecanego działania.

2.6.1. Wskazówki dotyczące korzystania z wytycznych

Autorzy wytycznych zachęcają do propagowania i wdrażania niniejszych zaleceń w opiece nad dorosłymi chorymi na gruźlicę wrażliwą. Zaleceń nie należy jednak traktować jako ustanowionego prawnie standardu opieki nad wszystkimi chorymi, gdyż opracowany dokument zawiera jedynie wskazówki określające sposób postępowania klinicznego, a zawarte w nim rekomendacje powinny pomagać lekarzom w podejmowaniu optymalnych decyzji w codziennej praktyce. Właściwa opieka nad danym chorym zależy od występujących u niego indywidualnych uwarunkowań, dostępnych i możliwych do zastosowania sposobów leczenia (także w ramach finansowanych ze środków publicznych) oraz wielu innych czynników, a decyzje dotyczące wdrażanego postępowania powinien każdorazowo podejmować lekarz lub zespół lekarzy po konsultacji z chorym lub – w razie potrzeby – z jego opiekunem.

2.6.2. Implementacja i aktualizacja wytycznych

Przeglądy systematyczne będą cyklicznie przeprowadzane przez PTChP i będą oparte na pracy własnej Towarzystwa i innych organizacji naukowych w tym WHO, w celu stałej aktualizacji istniejących wytycznych postępowania klinicznego oraz monitorowania pojawiających się dowodów dotyczących wdrażania określonych interwencji. Nowe dowody odkryte w tych przeglądach mogą stanowić podstawę dla poprawiania lub stworzenia nowych zaleceń prowadząc do ponownego rozważenia dowodów naukowych, co prowadzi do ciągłej aktualizacji istniejących wytycznych, które będą dostępne na stronach PTChP w ramach tzw. żyjących wytycznych (living guidelines). Planowana jest aktualizacja na bieżąco wytycznych w zależności od dostępnych dowodów naukowych oraz pojawiających się innych wytycznych na świecie.

Opracowana strategia implementacji niniejszych wytycznych obejmuje działania naukowo-edukacyjne:

- szkolenia skierowane do lekarzy pulmonologów, lekarzy POZ, mikrobiologów, diagnostów laboratoryjnych oraz współpracę z środowiskiem samorządów lokalnych, w tym edukacji opieki społecznej, w celu rozpowszechnienia wiedzy o opracowanych rekomendacjach,

- publikację wytycznych w czasopismach naukowych, ich prezentację na konferencjach naukowych
- rozpowszechnienie wersji elektronicznej dla członków PTChP.

3. Rekomendacje

3.1. Podsumowanie diagnostyki w przypadku lekooporności

Skuteczne leczenie gruźlicy opiera się na szybkim rozpoznaniu gruźlicy, szybkim wykryciu lekooporności i szybkim rozpoczęciu skutecznego schematu leczenia. Obecnie istnieje szereg molekularnych testów genetycznych rekomendowanych przez WHO [3, 14], które wykrywających gruźlicę, czy zakażenie wraz z opornością na ww. leki. Do testów tych można zaliczyć m. in.:

- Test Xpert MTB/RIF Ultra and Xpert MTB/RIF (Cepheid) – wykrywający TB wraz z opornością na rifampicynę,
- Test Xpert MTB/XDR (Cepheid) – wykrywający oporność na izoniazyd, fluorochinolony,
- Test BD MAX MDR-TB (Becton Dickinson) - wykrywający TB wraz z opornością na rifampicynę i izoniazyd,
- Test FluoroType MTBDR (Bruker/Hain Lifescience) – wykrywający TB wraz z opornością na rifampicynę i izoniazyd,
- Test GenoTypeMTBDR*plus* ver. 2.0 (Bruker/Hain Lifescience) – wykrywający oporność na rifampicynę i izoniazyd,
- Test GenoTypeMTBDR*s* ver. 2.0 (Bruker/Hain Lifescience) – wykrywający oporność na fluorochinolony.

Rekomendacje wykonywania szybkiej diagnostyki za pomocą mWDR nie eliminują potrzeby wykonywania fenotypowych testów lekooporności, które nadal stanowią złoty standard w diagnostyce mikrobiologicznej gruźlicy. Fenotypowe metody określania lekooporności są niezbędne do potwierdzenia oporności na leki wykrytej w teście genetycznym oraz do wykrycia oporności na leki, dla których nie ma komercyjnych szybkich testów molekularnych.

Ponadto fenotypowe testy lekooporności służą do weryfikacji wyników uzyskanych za pomocą molekularnych testów lekooporności. Testy komercyjne wykrywają mutacje występujące najczęściej wśród szczepów lekoopornych, dlatego mogą nie wykryć mutacji znajdujących się w innym regionie genu niż ten analizowany w teście. Jak również mogą wykrywać mutacje synonimiczne, które nie mają wpływu na fenotyp oporności. Dlatego fenotypowe testy lekooporności pozostają standardem odniesienia dla większości leków przeciwpłatkowych; jednakże, testy te wymagają specjalistycznej infrastruktury oraz wysoko wykwalifikowanego personelu.

Wprowadzenie nowych leków do leczenia gruźlicy oraz aktualizacja definicji gruźlicy pre-XDR i XDR wymaga pilnych zmian w schematach diagnostycznych obowiązujących w laboratoriach prątko, a w szczególności w zakresie zwiększenia skali wykrywania oporności na fluorochinolony w tym lewofloksacynę i moksyflokscynę, jak również bedakilinę i linezolid. W przypadku stosowania krótkiego 6-miesięczny schematu leczenia z zastosowaniem bedakiliny, pretomanidu, lewofloksacyny moksyflokscacyny (schemat BPaLM lub BPaL), badanie oporności na fluorochinolony oraz na bedakilinę i linezolid jest priorytetem. W schemacie BPaL i BPaLM stosowany jest pretomanid, dla którego obecnie nie ma rekomendacji, co do wykonywania testów lekooporności.

W przypadku fenotypowych testów lekooporności na leki dodatkowe WHO [15] rekomenduje system Bactec MGIT jako złoty standard do wykrywania oporności na te leki. Dla większości leków zostały wyznaczone stężenia krytyczne. Obecnie prowadzone są badania nad wyznaczeniem stężeń krytycznych dla cykloseryny oraz

pretomanidu stosowanego w schemacie leczenia BPaL i BPaLM. Wartości stężeń krytycznych dla leków podstawowych i dodatkowych zostały przedstawione w Tabeli poniżej.

Tabela 5. Stężenia krytyczne i kliniczne leków stosowanych w fenotypowych testach lekooporności dla prątków gruźlicy [16]

Grupa leków	Lek	Stężenia krytyczne leków (mg/L)			
		LJ	7H10	7H11	MGIT
Leki podstawowe	Izoniazyd	0,2	0,2	0,2	0,1
	Rifampicyna	40	0,5	1,0	0,5
	Rifabutyna	-	-	-	-
	Rifapentyna	-	-	-	-
	Etambutol	2,0	5,0	7,5	5
	Pyrazynamid	-	-	-	100
Leki stosowane w leczeniu gruźlicy lekoopornej w tym MDR/RR-TB					
Grupa A	Fluorochinolony:				
	Levofloksacyna (CC)	2	1	-	1
	Moksyfloksacyna (CC)	1	0,5	0,5	0,25
	Moksyfloksacyna (CB)*	-	2	-	1
	Bedakilina	-	-	0,25	1
	Linezolid	-	1	1	1
Grupa B	Klofazymina	-	-	-	1
	Cykloseryna	-	-	-	-
Grupa C	Etambutol	2	5	7,5	5
	Delamanid	-	-	0,016	0,06
	Pyrazynamid	-	-	-	100
	Imipenen-Cylastatyna/ Meropenen	-	-	-	-
	Amikacyna	30	2	-	1
	Streptomycyna	4	2	2	1
	Etionamid	40	5	10	5
	Protionamid	40	-	-	2,5
	Kwas p-aminosalicylowy	-	-	-	-

LJ: Löwenstein-Jensen, MGIT: Mycobacterial Growth Indicator Tube, CC: stężenie krytyczne, CB: stężenie kliniczne

* CB dla pożywek 7H10 i MGIT dotyczą podawania moksyfloksacyny w zwiększonych dawkach (800 mg/dzień). Stwierdzenie oporności na moksyfloksacynę przy jej stężeniu klinicznym wyklucza dalsze podawanie leku w zwiększonych dawkach.

Ze względu na wprowadzenie do terapii gruźlicy lekoopornej nowych leków takich jak bedakilina i linezolid, zrezygnowano z podawania leków iniekcyjnych, a obecnie stosowany schemat leczenia oparty jest wyłącznie na terapii lekami doustnymi.

Od 2018 roku, WHO nie zaleca stosowania kanamycyny i kapreomycyny do leczenia gruźlicy wielolekoopornej, ze względu na zwiększone ryzyko niepowodzenia leczenia i nawrotu choroby związane z ich dłuższym stosowaniem. Amikacyna i streptomycyna są obecnie jedynymi lekami drugiego rzutu wśród leków iniekcyjnych zalecanych do stosowania leczenia gruźlicy typu MDR, ale tylko wtedy gdy panel leków jest ograniczony [17]. Streptomycynę można podawać tylko wtedy gdy w leczeniu nie można zastosować amikacyny.

W 2021 roku, WHO wydała zaktualizowane wytyczne dotyczące stężeń krytycznych leków stosowanych w fenotypowych testach lekooporności z wykorzystaniem pożywek stałych (LJ i 7H10 agar) oraz płynnych (7H11 i MGIT) [16]. Na podstawie przeglądu stężeń krytycznych dla rifamycyn i izoniazydu, WHO obniżyła wartości stężeń krytycznych dla rifampicyny w systemie MGIT i na pożywce stałej 7H10 z 1,0 mg/L do 0,5 mg/L. Oczekuje się, że te zmiany zmniejszą rozbieżności pomiędzy genotypowymi i fenotypowymi wynikami testów lekooporności, a laboratoriom zaleca się natychmiastowe wdrożenie tych zmian.

Interpretacja wyników lekooporności uzyskanych za pomocą komercyjnych testów genetycznych GenoType MTBDR_{plus} i GenoType MTBDR_{sl}

W 2022 roku WHO wydała podręcznik [13], w którym zawarła interpretacje wyników lekooporności uzyskanych za pomocą komercyjnych testów genetycznych GenoType MTBDR_{plus} ver. 2.0 i GenoType MTBDR_{sl} ver. 2.0 oraz sposób ich raportowania. Test GenoType MTBDR_{plus} wykrywa mutacje w genie *rpoB* warunkujące oporność na rifampicynę oraz mutacje w genie *katG* w regionie promotorowym genu *inhA* warunkujące oporność na izoniazyd. W teście GenoType MTBDR_{sl} identyfikowane są mutacje w genach *gyrA* i *gyrB* odpowiedzialne za oporność na fluorochinolony oraz w genach *rrs* i *eis* warunkujące oporność na leki podawane iniekcyjnie.

Według najnowszych zaleceń WHO wyniki powinny być raportowane w następujący sposób:

- **Nie wykryto oporności** – gdy w teście nie wykryto konkretnej mutacji w analizowanym genie lub zmiany w analizowanym obszarze genu.
- **Wykryto oporność** – gdy w teście wykryto konkretną mutację warunkującą oporność na dany lek np. w genie *rpoB* zmiana D516V, która skutkuje opornością na rifampicynę.
- **Oporność wnioskowana** [m4] [m5] – gdy w teście wykryto zmianę w jednym z obszarów analizowanego genu, a nie wykryto konkretnej mutacji, np. wykryto zmianę w obszarze od kodonu 510 do kodonu 513 genu *rpoB*, a nie konkretną mutację. W takich przypadkach powinno wykonać się sekwencjonowanie w celu identyfikacji mutacji w genie warunkującym oporność na dany lek.

Dodatkowo w przypadku **izoniazydu i moksyflokscyny**, WHO podzieliła mutacje warunkujące oporność na te leki, na mutacje związane z **niskim i wysokim poziomem oporności**. Podział ten ma istotne znaczenie do włączenia leczenia u chorych z gruźlicą oporną na izoniazyd lub moksyflokscynę na niskim poziomie, ponieważ w takim przypadku podanie zwiększonej dawki leku może skutkować sukcesem terapeutycznym.

W przypadku **izoniazydu**, wykrycie specyficznych mutacji w regionie promotorowym genu *inhA* (np. C-15T; A-16G; T-8C), które związane są z niskim poziomem oporności, podanie zwiększonej dawki leku może być skuteczne. Należy rozważyć podawanie izoniazydu w maksymalnej dawce 15 mg/kg dziennie.

W przypadku wykrycia specyficznych mutacji w genie *katG* (np. S315T), które częściej związane są z wysokim poziomem oporności, podanie izoniazydu w większej dawce ma mniejsze szanse na skuteczność leczenia. Występowanie jednocześnie mutacji w promotorze genu *inhA* oraz w genie *katG* skutkuje wysokim poziomem oporności, który prawdopodobnie nie zostanie zrekompensowany poprzez zwiększenie dawki leku.

W przypadku **moksyflokscyny**, jeśli wykryto mutacje związane z MIC powyżej stężenia krytycznego (0,25 µg/ml), ale poniżej stężenia klinicznego (1 µg/ml), czyli mutacje z niskim poziomem oporności (np. *gyrA* A90V; S91P; D94A;

gyrB N538D; E540V), to wysoka dawka moksyflokscyny (do 800 mg dziennie dla osób dorosłych) może być skuteczna. Podawanie moksyflokscyny w zwiększonej dawce powinno być zweryfikowane po uzyskaniu wyniku fenotypowego testu lekooporności przy stężeniu klinicznym leku 1 µg/ml. Jeśli szczep jest oporny przy stężeniu klinicznym, lek nie może być uznany za skuteczny w sensie klinicznym.

W przypadku wykrycia specyficznych mutacji w genie *gyrA* (np. D94N; D94Y; D94G; D94H), które związane są z wysokim poziomem oporności, podanie moksyflokscyny w większej dawce ma mniejsze szanse na skuteczność leczenia. W związku z wyłączeniem kanamycyny i kapreomycyny ze schematów leczenia gruźlicy lekoopornej, interpretacja wyników testu GenoTypeMTBDRsl dotyczy tylko amikacyny.

W tabeli 6 i 7 szczegółowo przedstawiono interpretacje wyników uzyskanych w testach GenoTypeMTBDRplus oraz GenoTypeMTBDRsl.

Tabela 6. Test genotype MTBDRPLUS – wyniki dla szczepów lekoopornych, ich interpretacja i implikacje kliniczne.

Analizowany gen	Wynik uzyskany w teście GenoTypeMTBDR plus	Interpretacja	Implikacje kliniczne
RIFAMPICYNA			
<i>rpoB</i>	Wykryto mutacje w kodonach 505-509, 510-513, 510-517	Wnioskowana oporność na rifampicynę	Rifampicyna nieskuteczna
	D516V	Wykryto oporność	Rifampicyna nieskuteczna
	Wykryto mutacje w kodonach 513-519, 516-522, 518-525	Wnioskowana oporność na rifampicynę	Rifampicyna nieskuteczna
	H526Y	Wykryto oporność	Rifampicyna nieskuteczna
	H526D	Wykryto oporność	Rifampicyna nieskuteczna
	Wykryto mutacje w kodonach 526-529	Wnioskowana oporność na rifampicynę	Rifampicyna nieskuteczna
	H526D	Wykryto oporność	Rifampicyna nieskuteczna
IZONIAZYD			
<i>katG</i>	S315T1/S315T2	Wykryto mutację warunkującą wysoki poziom oporności	Izoniazyd nieskuteczny
	Wykryto mutacje w kodonie 315	Wnioskowana mutacja warunkującą wysoki poziom oporności	Izoniazyd nieskuteczny
<i>inhA</i>	C-15T	Wykryto mutację warunkującą niski poziom oporności. Wykryto oporność na etionamid i protionamid	Izoniazyd podawany w wyższych dawkach może być skuteczny Etionamid i protionamid nieskuteczny
	A-16G	Wykryto mutację warunkującą niski poziom oporności. Wykryto oporność na etionamid i protionamid	Izoniazyd podawany w wyższych dawkach może być skuteczny Etionamid i protionamid nieskuteczny
	Wykryto mutacje w regionie -15	Wnioskowana mutacja warunkującą niski poziom oporności Wnioskowana oporność na etionamid i protionamid	Izoniazyd podawany w wyższych dawkach może być skuteczny Etionamid i protionamid nieskuteczny

	T-8C	Wnioskowana mutacja warunkującą niski poziom oporności	Izoniazyd podawany w wyższych dawkach może być skuteczny Etionamid i protionamid nieskuteczny
		Wnioskowana oporność na etionamid i protionamid	

Tabela 7. Test genotype MTBDRSL – wyniki dla szczepów lekoopornych, ich interpretacja i implikacje kliniczne

Analizowany gen	Wynik uzyskany w teście GenoTypeMTBDRSL	Interpretacja	Implikacje kliniczne
FLUOROCHINOLONY			
<i>gyrA</i>	Wykryto mutacje w kodonach 83-89	Wnioskowana oporność na levofloksacynę Wnioskowana mutacja warunkującą niski poziom oporności na moksyfloksacynę	Levofloksacyna nieskuteczna Moksyfloksacyna podawana w wyższych dawkach może być skuteczna. Podawanie leków powinno być zweryfikowane po uzyskaniu wyniku fenotypowego testu lekooporności przy stężeniu klinicznym 1 µg/ml
	A90V	Wykryto oporność na levofloksacynę Wykryto mutację warunkującą niski poziom oporności na moksyfloksacynę	Levofloksacyna nieskuteczna Moksyfloksacyna podawana w wyższych dawkach może być skuteczna. Podawanie leków powinno być zweryfikowane po uzyskaniu wyniku fenotypowego testu lekooporności przy stężeniu klinicznym 1 µg/ml
	S91P	Wykryto oporność na levofloksacynę Wykryto mutację warunkującą niski poziom oporności na moksyfloksacynę	Levofloksacyna nieskuteczna Moksyfloksacyna podawana w wyższych dawkach może być skuteczna. Podawanie leków powinno być zweryfikowane po uzyskaniu wyniku fenotypowego testu lekooporności przy stężeniu klinicznym 1 µg/ml
	Wykryto mutacje w kodonach 89-93	Wnioskowana oporność na levofloksacynę Wnioskowana mutacja warunkującą niski poziom oporności na moksyfloksacynę	Levofloksacyna nieskuteczna Moksyfloksacyna podawana w wyższych dawkach może być skuteczna. Podawanie leków powinno być zweryfikowane po uzyskaniu wyniku fenotypowego testu lekooporności przy stężeniu klinicznym 1 µg/ml
	D94A	Wykryto oporność na levofloksacynę Wykryto mutację warunkującą niski poziom oporności na moksyfloksacynę	Levofloksacyna nieskuteczna Moksyfloksacyna podawana w wyższych dawkach może być skuteczna. Podawanie leków powinno być zweryfikowane po uzyskaniu wyniku fenotypowego testu lekooporności przy stężeniu klinicznym 1 µg/ml
	D94N lub D94Y	Wykryto oporność na levofloksacynę Wykryto mutację warunkującą wysoki poziom oporności na moksyfloksacynę	Levofloksacyna nieskuteczna Moksyfloksacyna nieskuteczna

	D94G	Wykryto oporność na lewofloksacyne	Levofloksacyna nieskuteczna Moksyfloksacyna nieskuteczna
	D94H	Wykryto mutację warunkującą wysoki poziom oporności na moksyfloksacyne	Levofloksacyna nieskuteczna Moksyfloksacyna nieskuteczna
	Wykryto mutacje w kodonach 92-96	Wnioskowana oporność na lewofloksacyne Wnioskowana mutacja warunkującą niski poziom oporności na moksyfloksacyne	Levofloksacyna nieskuteczna Moksyfloksacyna podawana w wyższych dawkach może być skuteczna. Podawanie leków powinno być zweryfikowane po uzyskaniu wyniku fenotypowego testu lekooporności przy stężeniu klinicznym 1 µg/ml
gyrB	N538D	Wykryto oporność na lewofloksacyne Wykryto mutację warunkującą niski poziom oporności na moksyfloksacyne	Levofloksacyna nieskuteczna Moksyfloksacyna podawana w wyższych dawkach może być skuteczna. Podawanie leków powinno być zweryfikowane po uzyskaniu wyniku fenotypowego testu lekooporności przy stężeniu klinicznym 1 µg/ml
	E540V	Wykryto oporność na lewofloksacyne Wykryto mutację warunkującą niski poziom oporności na moksyfloksacyne	Levofloksacyna nieskuteczna Moksyfloksacyna podawana w wyższych dawkach może być skuteczna. Podawanie leków powinno być zweryfikowane po uzyskaniu wyniku fenotypowego testu lekooporności przy stężeniu klinicznym 1 µg/ml
	Wykryto mutacje w kodonach 536-541	Wnioskowana oporność na lewofloksacyne Wnioskowana mutacja warunkującą niski poziom oporności na moksyfloksacyne	Levofloksacyna nieskuteczna Moksyfloksacyna podawana w wyższych dawkach może być skuteczna. Podawanie leków powinno być zweryfikowane po uzyskaniu wyniku fenotypowego testu lekooporności przy stężeniu klinicznym 1 µg/ml
AMIKACYNA			
rrs	A1401G	Wykryto oporność na amikacyne	Amikacyna nieskuteczna
	Wykryto mutacje w kodonie 1400	Wnioskowana oporność na amikacyne	Amikacyna może być nieskuteczna
	G1484T	Wykryto oporność na amikacyne	Amikacyna nieskuteczna
	Wykryto mutacje w kodonie 1484	Wnioskowana oporność na amikacyne	Amikacyna może być nieskuteczna
eis	Wykryto mutacje w regionie - 37	Nie wykryto oporności na amikacyne	Amikacyna może być skuteczna

C-14T	Wykryto oporność na amikacynę	Amikacyna nieskuteczna
Wykryto mutacje w regionie od -10 do-14	Nie wykryto oporności na amikacynę	Amikacyna może być skuteczna
Wykryto mutacje w regionie -2	Nie wykryto oporności na amikacynę	Amikacyna może być skuteczna

W przypadkach trudnych do zdiagnozowania, kiedy u chorego podejrzewa się gruźlicę lekooporną, a za pomocą komercyjnych testów genetycznych ta oporność nie jest wykrywana, należy wykonać sekwencjonowanie genów warunkujących lekooporność lub sekwencjonowanie genomowe. Również w przypadku wykrycia tzw. wnioskowanych oporności na dany lek w molekularnym teście genetycznym, WHO zaleca wykonać sekwencjonowanie w celu identyfikacji mutacji w genie warunkującym oporność na dany lek.

Większość chorych z gruźlicą oporną na rifampicynę można wykryć analizując fragment 81 par zasad genu *rpoB*. Jednak w przypadku pozostałych leków przeciwprątkowych wykrycie genotypu oporności nie jest tak łatwe, ze względu na niedostateczną wiedzę na temat związku oporności fenotypowej z mutacjami występującymi w genomie *Mycobacterium tuberculosis*.

W odpowiedzi na ten problem WHO opracowała katalog mutacji *M. tuberculosis* i ich związku z fenotypową opornością na leki [18]. Katalog stanowi standard odniesienia dla interpretacji mutacji powodujących oporność na wszystkie leki podstawowe oraz większość leków dodatkowych. W katalogu zawarto analizę wyników z sekwencjonowania genomowego oraz z fenotypowych testów wrażliwości na leki. Analizę przeprowadzono dla 13 leków przeciwgruźliczych na ponad 38 000 szczepów zebranych z ponad 40 krajów. Katalog zawiera listę ponad 17 000 mutacji, ich częstotliwość występowania oraz związek z opornością lub nie. Laboratoria gruźlicy na całym świecie mogą wykorzystywać katalog jako pomoc w interpretacji wyników sekwencjonowania genomu lub wybranych genów.

3.2. Wstępne badania diagnostyczne w kierunku gruźlicy z wykrywaniem lekooporności

3.2.1. LC-aNAAT do wykrywania gruźlicy i oporności na ryfampicynę

Szybkie wykrywanie gruźlicy i oporności na ryfampicynę jest kluczowym priorytetem globalnym. Ponad dziesięć lat temu pierwsze rekomendacje dotyczące badań molekularnych w diagnostyce gruźlicy i wykrywaniu oporności znacząco zmieniły krajobraz diagnostyki gruźlicy. Technologie te okazały się bardzo dokładne w porównaniu z mikroskopią i umożliwiają szybkie wykrywanie oporności na ryfampicynę. Nie wymagają one wysoko wykwalifikowanego personelu ani specjalistycznej infrastruktury laboratoryjnej do przeprowadzenia badań. Ponadto po załadowaniu próbki są one w dużej mierze zautomatyzowane, aż do momentu wygenerowania końcowego raportu. Cechy te sprawiają, że ta klasa automatycznych testów o niskiej złożoności jest atrakcyjna do stosowania w krajach o niskim i średnim dochodzie (ang. *low- and middle-income countries*, LMIC).

Wdrażanie tych technologii zostało spowolnione przez przeszkody związane z kosztami, łańcuchem dostaw, konserwacją sprzętu i wsparciem technicznym. Brak zdrowego środowiska konkurencyjnego również miał na to wpływ. Program WHO dotyczący wstępnej kwalifikacji (ang. *Prequalification*, PQ) diagnostyki *in vitro* (ang. *In vitro diagnosis*, IVD) gruźlicy otworzył drogę do wprowadzenia na rynek większej liczby produktów i zapewnienia ich jakości. Obecne wytyczne ułatwiły ten proces dzięki wprowadzeniu zaleceń opartych na klasach dla testów NAAT o niskiej złożoności. Postępy w ocenie PQ WHO dla wszystkich testów NAAT o niskiej złożoności są przedstawiane na stronie internetowej WHO PQ.[8]

Opis klas diagnostycznych

Cechy przedstawione w tabeli poniżej definiują klasę LC-aNAAT.

Tabela 8. Kryteria klasyfikacji LC-aNAAT

Cel		Wykrywanie gruźlicy i oporności na ryfampicynę
Zasada działania		Test amplifikacji kwasu nukleinowego
Odczynniki		Większość odczynników znajduje się w jednorazowym, szczelnym pojemniku, do którego dodaje się próbkę kliniczną. Jednorazowy, szczelny pojemnik nie wymaga specjalnych warunków przechowywania.
Umiejętności		Podstawowe umiejętności techniczne (np. podstawowe pipetowanie, precyzja nie jest krytyczna).
Pipetowanie		W procesie nie ma etapu pipetowania lub jest tylko jeden etap pipetowania.
Procedura testowa		<ul style="list-style-type: none"> • Może wymagać wstępnego ręcznego przygotowania próbki przed przeniesieniem jej do jednorazowego, szczelnego do automatycznego przetwarzania • Automatyczna ekstrakcja DNA • Automatyczna PCR w czasie rzeczywistym • Generowanie wyników
Rodzaj raportowania wyników testów		Automatyczny
Ustawienia użytkowania		Podstawowe laboratorium (nie wymaga specjalnej infrastruktury)

Produkty, dla których kwalifikujące się dane spełniały kryteria wydajności oparte na klasie dla LC-aNAAT, to:

- Xpert MTB/RIF Ultra (Cepheid, Sunnyvale, Stany Zjednoczone Ameryki [USA]) – w przypadku gruźlicy płucnej, gruźlicy pozapłucnej i oporności na ryfampicynę; oraz
- Truenat MTB Plus i Truenat MTB-RIF Dx (Molbio, Goa, Indie) – w przypadku gruźlicy płucnej i oporności na ryfampicynę.

Dane dotyczące Truenat MTB Plus i MTB-RIF Dx były bardziej ograniczone niż dane dotyczące Xpert Ultra. Przed wdrożeniem tych testów diagnostycznych wymagane jest uzyskanie zgody krajowych organów regulacyjnych lub innych właściwych organów. Nie można dokonywać ekstrapolacji na testy innych marek, a wszelkie nowe

⁸ IVD - Diagnostyka *in vitro*, WHO – Prekwalifikacja produktów medycznych (IVD, leki, szczepionki i urządzenia do szczepień, kontrola wektorów)
DNA: kwas dezoksyrybonukleinowy; LC-aNAAT: automatyczny test amplifikacji kwasu nukleinowego o niskiej złożoności; PCR: reakcja łańcuchowa polimerazy; TB: gruźlica.

technologie w tej klasie lub nowe wskazania dla technologii obecnie objętych tą klasą będą musiały zostać ocenione odpowiednio przez WHO PQ i WHO/GTB.

Rekomendacja 1

W przypadku osób dorosłych i młodzieży z objawami gruźlicy lub z wynikiem pozytywnym w badaniach przesiewowych w kierunku gruźlicy płucnej, jako wstępne testy diagnostyczne w kierunku gruźlicy należy stosować automatyczne testy NAAT o niskim stopniu złożoności z próbek z dróg oddechowych. *(Silna rekomendacja, wysoka pewność dowodów)*

- W przypadku osób dorosłych próbki z dróg oddechowych obejmują płwocinę (odkrztuszoną lub pobraną), aspirat z tchawicy lub popłuczyny oskrzelowo-pęcherzykowe (BAL).
- Termin „osoba z wynikiem pozytywnym” odnosi się do osoby, u której badanie przesiewowe dało wynik pozytywny.⁵
- Kwestia dzieci, a w szczególności dzieci żyjących z HIV, została omówiona w sekcji poświęconej jednoczesnemu stosowaniu wstępnych testów diagnostycznych w kierunku gruźlicy u dzieci.
- Osoby dorosłe i młodzież żyjące z HIV zostały omówione w sekcji poświęconej jednoczesnemu stosowaniu wstępnych testów diagnostycznych w kierunku gruźlicy u osób żyjących z HIV.
- Produkty, dla których kwalifikujące się dane spełniały kryteria wydajności oparte na klasie dla LC-aNAAT w niniejszym zaleceniu, to Xpert MTB/RIF Ultra (Cepheid, Sunnyvale, Stany Zjednoczone Ameryki [USA]) i Truenat MTB Plus (Molbio, Goa, Indie). Dane dotyczące Truenat MTB Plus i MTB-RIF Dx były bardziej ograniczone niż dane dotyczące Xpert Ultra.

W Polsce, w diagnostyce gruźlicy u dorosłych i młodzieży z objawami choroby lub dodatnim wynikiem w badaniach przesiewowych, w praktyce stosuje się:

- genetyczne testy molekularne (NAAT),
- bakterioskopię płwociny,
- posiewy prątków w kierunku *M. tuberculosis*.

W diagnostyce gruźlicy należy stosować metody molekularne, w tym testy NAAT, które umożliwiają szybkie wykrycie materiału genetycznego prątków i wczesne rozpoczęcie leczenia. Jednocześnie należy pamiętać, że złotym standardem potwierdzenia czynnika etiologicznego choroby pozostaje uzyskanie hodowli prątków, która umożliwia ostateczną identyfikację patogenu oraz ocenę jego lekowrażliwości.

Rekomendacja 2

W przypadku osób z bakteriologicznie potwierdzoną gruźlicą, jako wstępne badania w kierunku wykrycia oporności na ryfampicynę należy stosować automatyczne testy NAAT o niskim stopniu złożoności z próbek z dróg oddechowych. *(Silna rekomendacja, wysoka pewność dowodów)*

- To rekomendacja dotyczy osób żyjących z HIV.
- Rekomendacja została ekstrapolowana na dzieci na podstawie uogólnienia danych dotyczących dorosłych i ograniczonych danych dotyczących dzieci. W przypadku dzieci próbki z dróg oddechowych obejmują

plwocinę, płyn z płukania oskrzelowo-pęcherzykowego (BAL), plwocinę indukowaną, aspirat z nosogardła i aspirat żołądkowy.

- Rekomendacja została ekstrapolowana na osoby z pozapłucną gruźlicą na podstawie uogólnienia danych dotyczących dorosłych z gruźlicą płucną.
- Produktami, dla których kwalifikujące się dane spełniały kryteria wydajności oparte na klasie dla LC-aNAAT w odniesieniu do tego rekomendacji są Xpert MTB/RIF Ultra (Cepheid, Sunnyvale, Stany Zjednoczone Ameryki [USA]) i Truenat MTB-RIF Dx (Molbio, Goa, Indie). Dane dotyczące MTB-RIF Dx były bardziej ograniczone niż dane dotyczące Xpert Ultra.

W praktyce klinicznej w Polsce testy molekularne (NAAT) wykrywające oporność na ryfampicynę są używane jako szybki wstępny surogat oporności MDR-TB. Należy jednak podkreślić ich ograniczenia: komercyjne testy molekularne wykrywają tylko najczęściej występujące mutacje w genie rpoB, nie identyfikując wszystkich możliwych wariantów oporności. Tymczasem pełną charakterystykę oporności i potwierdzenie fenotypowe zapewnia dopiero DST oparte na hodowli prątków, które może wykazać oporność nieujawnioną w testach molekularnych. Molekularne testy NAAT służą jako szybki screening, ale nie mogą całkowicie zastąpić klasycznej diagnostyki lekowrażliwości w wykrywaniu MDR-TB.

Rekomendacja 3

W przypadku osób z objawami gruźliczego zapalenia opon mózgowych do wstępnej diagnozy należy stosować automatyczne testy NAAT o niskim stopniu złożoności na płynie mózgowo-rdzeniowym. *(Silna rekomendacja, wysoka pewność dowodów)*

Rekomendacja to dotyczy wszystkich osób z objawami gruźliczego zapalenia opon mózgowych, w tym osób żyjących z HIV i dzieci.

W miarę możliwości, oprócz automatycznych testów NAAT ~~można przeprowadzić~~ należy wykonać hodowlę, aby zmaksymalizować szanse na rozpoznanie i wykrycie DR-TB.

Produktem, którego dane spełniały kryteria wydajności oparte na klasie dla LC-aNAAT w niniejszym zaleceniu, był Xpert MTB/RIF Ultra (Cepheid, Sunnyvale, Stany Zjednoczone Ameryki [USA]). Dane dotyczące Truenat MTB Plus i MTB-RIF Dx były ograniczone i zmienne, a zatem niewystarczające do oceny.

Rekomendacja 4

W przypadku osób z objawami pozapłucnej gruźlicy do wstępnej diagnozy gruźlicy należy stosować automatyczne testy NAAT o niskim stopniu złożoności z próbek pobranych z tkanki węzłów chłonnych, tkanki opłucnej, płynu opłucnowego, mazi stawowej, płynu otrzewnowego lub płynu osierdziowego. *(Silna rekomendacja, niska pewność dowodów w przypadku płynu maziowego i osierdziowego oraz bardzo niska pewność dowodów w przypadku aspiracji tkanki węzłów chłonnych, tkanki opłucnej, płynu opłucnowego i płynu otrzewnowego)*

Rekomendacja to dotyczy wszystkich osób z objawami odpowiedniej postaci pozapłucnej gruźlicy, w tym osób żyjących z HIV i dzieci.

Dane dotyczące skuteczności testów LC-aNAAT w przypadku próbek moczu i krwi były ograniczone lub niespójne. W miarę możliwości, oprócz automatycznych testów NAAT można wykonać hodowlę, aby zmaksymalizować szanse na rozpoznanie i wykrycie gruźlicy lekoopornej.

Produktem, którego dane spełniały kryteria skuteczności oparte na klasie dla LC-aNAAT w niniejszym zaleceniu, był Xpert MTB/RIF Ultra (Cepheid, Sunnyvale, Stany Zjednoczone Ameryki [USA]). Dane dotyczące Truenat MTB Plus i MTB-RIF Dx były ograniczone i zróżnicowane, a zatem niewystarczające do oceny.

Uzasadnienie rekomendacji

Ocen skuteczności. W ramach wytycznych WHO dotyczących diagnostyki [3] przeprowadzono przegląd systematyczny dotyczący skuteczności testów LC-aNAAT (testy Xpert Ultra, Truenat MTB Plus i Truenat MTB-RIF Dx) w diagnostyce gruźlicy i oporności na ryfampicynę u osób z objawami gruźlicy lub u osób, u których wyniki badań przesiewowych wykazały gruźlicę. Dane dotyczące skuteczności samych testów LC-aNAAT w tych populacjach porównano z badaniem mikroskopowym rozmazu i hodowlą. Rekomendacje dotyczące równoczesnego badania dzieci i osób żyjących z HIV zastępują stosowanie samych testów LC-aNAAT w tych populacjach.

1. Wykrywanie gruźlicy płucnej - czy LC-aNAAT z próbek z dróg oddechowych powinny być stosowane do diagnozowania gruźlicy płuc u dorosłych i młodzieży z objawami lub u których wyniki badań przesiewowych wykazały gruźlicę płuc, w porównaniu z mikrobiologicznym standardem referencyjnym?

W trzydziestu pięciu badaniach (14 845 uczestników) oceniano dokładność diagnostyczną na podstawie próbek płwociny i porównując je z mikrobiologicznym standardem referencyjnym (MRS). Czulość oszacowano na podstawie 34 badaniach (14 840 uczestników) i czulość wyniosła 90,4% (95% przedział ufności [CI]: 88,0–92,4), a swoistość wyniosła 94,9% (95% CI: 93,0–96,3). Pewność dowodów dotyczących czulości i swoistości została oceniona jako wysoka.

2. Wykrywanie oporności na ryfampicynę - czy LC-aNAAT w próbkach z dróg oddechowych powinny być stosowane do diagnozowania oporności na ryfampicynę u dorosłych i młodzieży z objawami lub z wynikiem pozytywnym w badaniach przesiewowych w kierunku gruźlicy płuc, w porównaniu z MRS?

Odnaleziono 13 badaniach (2553 uczestników), w których oceniano próbki płwociny, lecz w 2 z nich czulość wykrywania oporności na ryfampicynę nie była możliwa do oszacowania. Czulość w pozostałych 11 badaniach (2540 uczestników) wynosiła od 53% do 100%, a swoistość od 97% do 100%. Czulość oszacowana w ramach metaanalizy wyniosła 95,1% (95% CI: 83,1–98,7), a swoistość 98,1% (95% CI: 97,0–98,7). Tylko dwa z 11 uwzględnionych badań oceniały test Truenat MTB-RIF Dx; w jednym z nich, przeprowadzonym w jednym kraju, czulość wykraczała poza granice przedziału ufności (53%). Niemniej jednak ogólnie pewność dowodów zarówno dla czulości, jak i swoistości uznano za wysoką.

3. Wykrywanie gruźliczego zapalenia opon mózgowych - czy LC-aNAAT na płynie mózgowo-rdzeniowym (CSF) powinny być stosowane do diagnozowania gruźliczego zapalenia opon mózgowych u dorosłych z objawami gruźliczego zapalenia opon mózgowych, w porównaniu z MRS?

Czulość i swoistość LC-aNAAT wyniosły odpowiednio 88,2% (95% CI: 83,7–91,6) i 96,0% (95% CI: 86,8–98,9) na podstawie 16 badań Xpert Ultra (1684 uczestników); pewność dowodów była wysoka w przypadku czulości i umiarkowana w przypadku swoistości. W ocenie uwzględniono wyłącznie dane dotyczące testu Xpert Ultra.

Należy zauważyć, że wyniki uzyskane za pomocą testu Xpert Ultra uznano za pozytywne i stanowiły one znaczną część wyników pozytywnych (16–63%). Dane dotyczące Truenat były ograniczone i zmienne, dlatego nie zostały uwzględnione.

4. Wykrywanie pozapłucnej gruźlicy:

- a. Czy testy LC-aNAAT na płynie z węzłów chłonnych powinny być stosowane do diagnozowania gruźlicy węzłów chłonnych u dorosłych i młodzieży z objawami gruźlicy węzłów chłonnych, w porównaniu z MRS?**

Czułości i swoistości LC-aNAAT na podstawie dziewięciu badań Xpert Ultra (445 uczestników) w diagnostyce gruźlicy węzłów chłonnych na podstawie płynów z węzłów chłonnych u dorosłych i młodzieży, wyniosły odpowiednio 85,3% (95% CI: 73,4–92,4) i 74,1% (95% CI: 63,5–82,5). Pewność dowodów była niska w przypadku czułości i bardzo niska w przypadku swoistości. W ocenie uwzględniono wyłącznie dane dotyczące testu Xpert Ultra. Rozważano również dokładność diagnostyczną LC-aNAAT w porównaniu ze złożonym standardem referencyjnym (CRS), który obejmował MRS oraz pacjentów, u których postawiono diagnozę gruźlicy, lecz bez potwierdzenia bakteriologicznego. Zastosowanie CRS znacznie zwiększyło swoistość do 97,4% (95% CI: 82,2–99,7), ale zmniejszyło czułość do 71,3% (95% CI: 64,3–77,4), co podkreśla wyzwania związane z potwierdzaniem gruźlicy na podstawie hodowli w przypadku tego typu próbek. Dane dotyczące Truenat były ograniczone i dlatego nie zostały uwzględnione.

- b. Czy LC-aNAAT na tkance opłucnej powinny być stosowane do diagnozowania gruźlicy opłucnej u dorosłych i młodzieży z objawami gruźlicy opłucnej, w porównaniu z MRS?**

W dwóch badaniach dotyczących testu Xpert Ultra (105 uczestników) czułość LC-aNAAT wyniosła 80% i 100%, a swoistość 75% i 86%, pewność dowodów była niska w przypadku czułości i bardzo niska w przypadku swoistości. Uwzględniono wyłącznie dane dotyczące testu Xpert Ultra, ponieważ dane dotyczące testu Truenat nie były dostępne. Biorąc pod uwagę znane trudności związane z potwierdzaniem gruźlicy na podstawie hodowli przy użyciu tej próbki, uwzględniono również dane uzyskane przy użyciu CRS. Zastosowanie CRS zwiększyło swoistość LC-aNAAT w tkance opłucnej do 94–97%, ale zmniejszyło czułość do 54–81% .

- c. Czy LC-aNAAT płynu opłucnowego powinno się stosować do diagnozowania gruźlicy opłucnej u dorosłych i nastolatków z objawami gruźlicy opłucnej, w porównaniu z MRS?**

Czułość i swoistość LC-aNAAT wyniosły odpowiednio 74,0% (95% CI: 60,8–83,9) i 88,1% (95% CI: 78,8–93,6), na podstawie 13 badań Xpert Ultra (1041 uczestników). Pewność dowodów była niska w przypadku czułości i bardzo niska w przypadku swoistości. Tylko jedno badanie (Jose 2024) dostarczyło wyników Truenat MTB Plus (88 uczestników) dotyczącej dokładności oceny płynu opłucnowego, z czułością 100% (95% CI: 0,03–100) i swoistością 100% (95% CI: 0,95–100). Podobnie jak w przypadku płynu z węzłów chłonnych i opłucnej, dane uzyskane przy użyciu CRS zostały również uwzględnione. Zastosowanie CRS zwiększyło swoistość LC-aNAAT dla oceny z płynu opłucnowego do 99,2% (95% CI: 95,2%–99,9%), ale zmniejszyło czułość do 71,3% (95% CI: 64,3%–77,4%). Uwzględniono wyłącznie dane dotyczące testu Xpert Ultra, a dane dotyczące testu Truenat były ograniczone.

- d. Czy LC-aNAAT w płynie maziowym powinno być stosowane do diagnozowania gruźlicy kości lub stawów u dorosłych i młodzieży z objawami gruźlicy kości lub stawów, w przeciwieństwie do MRS?**

Czułość i swoistość LC-aNAAT wyniosły odpowiednio 96,6% (95% CI: 87,2–99,1) i 91,1% (95% CI: 80,8–96,2 na podstawie trzech badań Xpert Ultra (126 uczestników), zaś pewność dowodów była niska. Podobnie jak w przypadku innych rodzajów próbek dotyczącej gruźlicy pozapłucnej, uwzględniono również dane uzyskane przy użyciu CRS. Zastosowanie CRS zwiększyło swoistość LC-aNAAT w płynie maziowym do 97,0% (95% CI: 85,0–100,0), natomiast wpływ na czułość był minimalny (96%) i polegał głównie na zawężeniu przedziału ufności (95% CI: 91–99%). Uwzględniono wyłącznie dane dotyczące testu Xpert Ultra, a dane dotyczące testu Truenat były ograniczone.

e. Czy testy LC-aNAAT na płynie otrzewnowym powinny być stosowane do diagnozowania gruźlicy otrzewnej u dorosłych i młodzieży z objawami gruźlicy otrzewnej, w porównaniu z MRS?

Czułość testów LC-aNAAT wynosiła od 33% do 67%, a swoistość od 94% do 100% w trzech badaniach dotyczących testu Xpert Ultra (69 uczestników), a pewność dowodów była bardzo niska w przypadku czułości i niska w przypadku swoistości. Uwzględniono wyłącznie dane dotyczące testu Xpert Ultra, a dane dotyczące testu Truenat były ograniczone.

f. Czy LC-aNAAT w płynie osierdziowym powinno być stosowane do diagnozowania gruźlicy osierdzia u dorosłych i młodzieży z objawami gruźlicy osierdzia, w przeciwieństwie do MRS?

Czułość i swoistość LC-aNAAT wyniosły odpowiednio 84,0% (95% CI: 73,9–90,7) i 86,6% (95% CI: 79,5–91,5) na podstawie wyników trzech badań Xpert Ultra (202 uczestników), a pewność dowodów była niska zarówno w przypadku czułości, jak i swoistości.

Podsumowanie czułości i swoistości LC-aNAAT wyniosło odpowiednio 100,0% (95% CI: 93,4–100,0) i 99,4% (95% CI: 92,1–100,0) w 13 badaniach Xpert Ultra (446 uczestników) w diagnostyce diagnozowania oporności na ryfampicynę u dorosłych i młodzieży z podejrzeniem pozapłucnej gruźlicy, pewność dowodów była wysoka zarówno w przypadku czułości, jak i swoistości.

Ocena kosztów i opłacalności. W ramach przeglądu systematycznego analiz kosztów i analiz ekonomicznych opracowanego w wytycznych WHO [3] oceniono koszty i opłacalność stosowania LC-aNAAT w porównaniu z innymi metodami diagnostycznymi (badanie rozmazu i posiewu). Większość badań obejmowała ocenę plwociny. Oceniano głównie test Xpert ze względu na podobieństwo z testem Ultra, lecz i na ograniczenia danych dla tego testu. Badania uwzględnione w przeglądzie były zróżnicowane, przeprowadzono je w różnych warunkach. Tak szerokie spektrum badań zapewniło kompleksowy obraz dowodów ekonomicznych dotyczących LC-aNAAT, ze szczególnym uwzględnieniem osób dorosłych. Tylko trzy analizy opłacalności obejmowały dzieci.

Sześć z dziesięciu analiz kosztów i skuteczności dotyczących testu Xpert MTB/RIF przedstawiało wyniki w jednostkach naturalnych (dodatkowe osoby z wykrytą gruźlicą), a pozostałe cztery przedstawiały wyniki dotyczące użyteczności (QALY albo DALY). Wyniki analizy opłacalności wykazały, że test Xpert MTB/RIF był ogólnie opłacalny we wszystkich uwzględnionych badaniach w porównaniu z badaniem rozmazem lub posiewem (z wyjątkiem jednego badania przeprowadzonego w Tajlandii, gdzie dominującą strategią był test TB LAMP). Nie odnaleziono wyników analizy ekonomicznej dla warunków polskich.

Chociaż standardowy test Xpert MTB/RIF został zastąpiony przez test Xpert Ultra i inne szybkie testy NAAT, jakościowe dowody dotyczące tych ostatnich testów NAAT są ograniczone. Podczas gdy testy LC-NAAT są ogólnie

cenione za swoją dokładność, łatwość użycia i potencjał skrócenia czasu diagnozy, najnowsza generacja testów NAAT (jak Xpert Ultra), charakteryzuje się większą dokładnością w przypadku pacjentów trudnych do zdiagnozowania i jest łatwiejsza do wdrożenia na istniejących platformach GeneXpert (także z powodu łatwości integracji z szybkimi testami na inne choroby). Wyzwania ograniczające realizację tych wartości w przypadku nowszych testów NAAT są podobne do tych związanych z testem Xpert MTB/RIF, czyli zależą od odpowiedniego dostępu do infrastruktury diagnostycznej, dużego obciążenia pracą oraz ograniczona dostępność testów NAAT.

Perspektywa interesariuszy. Grupa robocza na podstawie wyników badań dotyczących preferencji Xpert MTB/RIF wskazała, że kadra medyczna uznaje przydatność tego testu w diagnozowaniu lekooporności u osób żyjących z HIV, jego dokładność i wynikającą z niej pewność, krótki czas oczekiwania na wynik, niskie koszty badań diagnostycznych dla pacjentów. Dla personelu medycznego istotna jest różnorodność rodzajów próbek, które można analizować za pomocą tego testu oraz łatwość jego stosowania, co zwiększa poziom satysfakcji w porównaniu z badaniem mikroskopowym płwociny. Dla chorych istotne jest możliwość uzyskania dokładnej diagnozy oraz uniknięcie opóźnień diagnostycznych.

Akceptowalność i wykonalność. Istotna jest zdolność testu Xpert Ultra do poprawy wykrywalności przypadków gruźlicy wśród pacjentów trudnych do zdiagnozowania (z gruźlicą pozapłucną, gruźlicą dziecięcą lub współzakażeniem HIV) oraz wykrywania większej liczby osób chorych na gruźlicę. W porównaniu z Xpert MTB/RIF Xpert Ultra charakteryzuje się łatwością wdrożenia i integracji z testami na inne choroby (co było możliwe dzięki oparciu go na istniejących platformach Xpert). Akceptowalność Xpert Ultra wśród kadry medycznej jest wysoka, ale istnieje niepewność co do jego dokładności, co mogło prowadzić do zmniejszenia zaufania i ryzyka błędnej diagnozy. Podobnie jak w przypadku Xpert MTB/RIF, wdrożenie Xpert Ultra może być utrudnione przez problemy infrastrukturalne, jak niedobór personelu, problemy z transportem próbek płwociny oraz ograniczona dostępność platform testowych Xpert w ośrodkach opieki zdrowotnej.

Monitorowanie

- Monitorowanie liczby i odsetek niepowodzeń/nieokreślonych wyników badań dla obecnie zalecanych produktów i nowych produktów, które mają zostać wprowadzone w tej klasie.
- Monitorowanie odsetka wyników śladowych z próbek o niewielkiej zawartości bakterii (np. płyn mózgowo-rdzeniowy), w tym tych, które są dodatnie lub ujemne w hodowli.
- Prowadzenie nadzoru w celu monitorowania częstotliwości mutacji (np. mutacji I491F) poza regionem determinującym oporność na ryfampicynę (RRDR) rpoB w czasie.
- Monitorowanie odsetka osób z bakteriologicznie potwierdzoną gruźlicą bez wyników oporności na ryfampicynę lub dalszych zalecanych badań reaktywności na leki w czasie.

3.2.2. Automatyczne testy NAAT o umiarkowanym stopniu złożoności do wykrywania gruźlicy i oporności na ryfampicynę i izoniazyd.

Szybkie wykrywanie gruźlicy i oporności na ryfampicynę jest dostępne w Polsce dzięki systematycznemu wdrażaniu nowych technologii. Jednocześnie rośnie liczba chorych na gruźlicą oporną na izoniazyd, wrażliwą na ryfampicynę, która często pozostaje nierozpoznana. Szacuje się, że na całym świecie gruźlica oporna na izoniazyd, wrażliwa na ryfampicynę występuje w 13,1% (95% CI: 9,9–16,9%) nowych przypadków i 17,4% (95% CI: 0,5–54,0%) przypadków wcześniej leczonych [3].

Pojawiła się nowa klasa technologii, które mogą wypełnić tę lukę. Kilku producentów opracowało automatyczne testy NAAT o umiarkowanej złożoności do wykrywania gruźlicy oraz oporności na ryfampicynę i izoniazyd na platformach o wysokiej wydajności do użytku w laboratoriach. Testy należące do tej klasy są szybsze i mniej skomplikowane w wykonaniu niż fenotypowe testy wrażliwości na leki (DST) oparte na hodowli i testach liniowych (LPA). Ich zaletą jest to, że po przygotowaniu próbki są w dużej mierze zautomatyzowane. Automatyczne testy NAAT o średniej złożoności mogą być stosowane jako wstępne testy do wykrywania gruźlicy i oporności na leki pierwszego rzutu (ryfampicynę i izoniazyd). Oferują one możliwość szybkiego uzyskania dokładnych wyników (co jest ważne dla pacjentów) oraz wydajnego przeprowadzania testów w przypadku konieczności wykonywania dużej liczby testów dziennie. Dlatego technologie te są odpowiednie dla obszarów o dużej gęstości zaludnienia i szybkich systemach przekazywania próbek.

Tabela 9. Kryteria klasyfikacji dla MC-aNAAT

Cel		Wykrywanie gruźlicy i oporności na ryfampicynę i izoniazyd
Zasada działania		Test amplifikacji kwasu nukleinowego
Odczynniki		Odczynniki są dostępne w postaci standardowych zestawów i mogą wymagać określonych warunków temperaturowych podczas przechowywania. Próbka jest dodawana automatycznie lub ręcznie do jednorazowego, szczelnego pojemnika w celu przeprowadzenia badania.
Umiejętności		Umiarkowane umiejętności techniczne (tj. wiele etapów obsługi próbek lub odczynników, może być wymagane precyzyjne pipetowanie, mogą być wymagane procedury molekularne)
Pipetowanie		Jedna lub więcej czynności związanych z nieprecyzyjnym lub precyzyjnym pipetowaniem wymaganych przez procedurę.
Procedura testowa		Może wymagać wielu etapów obróbki próbek przed przeniesieniem ich do zamkniętego pojemnika testowego w celu automatycznego przetworzenia. Automatyczna lub ręczna ekstrakcja DNA Automatyczna PCR w czasie rzeczywistym Generowanie wyników
Rodzaj raportowania wyników testu		Automatyczne
Miejsce stosowania		Laboratorium (może być wymagana specjalna infrastruktura)

Rekomendacja 5

U osób z objawami gruźlicy płuc można zastosować automatyczne testy NAAT o średnim stopniu złożoności do badania próbek z dróg oddechowych w celu wykrycia gruźlicy płuc oraz oporności na ryfampicynę i izoniazyd. (Rekomendacja warunkowe, umiarkowana pewność dowodów dotyczących dokładności diagnostycznej)

W przypadku tego rekomendacji należy wziąć pod uwagę kilka podgrup:

- rekomendacja opiera się na dowodach dotyczących dokładności diagnostycznej próbek z dróg oddechowych dorosłych osób z objawami gruźlicy płuc.
- rekomendacja dotyczy osób żyjących z HIV (badania obejmowały różną liczbę takich osób); przeanalizowano wyniki badań próbek z ujemnym wynikiem rozmazu, ale były one dostępne tylko dla wykrywania gruźlicy, a nie dla oporności na ryfampicynę i izoniazyd, a dane podzielone według statusu HIV nie były dostępne.
- rekomendacja dotyczy młodzieży i dzieci w oparciu o uogólnienie danych dotyczących osób dorosłych; u dzieci z gruźlicą o niewielkiej liczbie bakterii może występować zwiększona częstość wyników nieokreślonych.
- w przeglądzie nie uwzględniono ekstrapolacji wyników na osoby z pozapłucną gruźlicą oraz badania próbek innych niż płwocina, ponieważ dane dotyczące dokładności diagnostycznej technologii tej klasy w przypadku próbek innych niż płwocina były ograniczone.

Uzasadnienie rekomendacji

Ocena skuteczności. W ramach opracowania wytycznych przez WHO [3] przeprowadzono systematyczny przegląd dotyczący stosowania automatycznych testów NAAT o umiarkowanej złożoności do wykrywania gruźlicy oraz oporności na ryfampicynę i izoniazyd u osób z objawami gruźlicy.

Opracowano trzy pytania kliniczne PICO, które stanowiły podstawę do wyszukiwania, gromadzenia i analizy dowodów:

- Czy automatyczne testy NAAT o średniej złożoności powinny być stosowane do badania próbek z dróg oddechowych u osób z objawami gruźlicy płuc w celu wykrycia gruźlicy płuc, w porównaniu z hodowlą?
- Czy należy stosować automatyczne testy NAAT o średniej złożoności do badania próbek z dróg oddechowych u osób z objawami gruźlicy płuc w celu wykrycia oporności na ryfampicynę, w porównaniu z fenotypowym DST opartym na hodowli?
- Czy należy stosować automatyczne testy NAAT o umiarkowanej złożoności do badania próbek z dróg oddechowych u osób z objawami gruźlicy płuc w celu wykrycia oporności na izoniazyd, w porównaniu z fenotypowym DST opartym na hodowli?

Przeprowadzono kompleksowe wyszukiwanie odpowiednich cytatów w następujących bazach danych (PubMed, Embase, BIOSIS, Web of Science, LILACS i Cochrane). Wyszukiwanie ograniczono do okresu od stycznia 2009 r. do lipca 2020 r. Przeszukano również listy referencyjne z uwzględnionych badań. Nie zastosowano żadnych ograniczeń językowych. Ponieważ było niewiele badań dotyczących wybranych testów indeksowych,

skontaktowano się z firmami diagnostycznymi w celu uzyskania raportów dotyczących ich wewnętrznych danych walidacyjnych. Uwzględniono również badania pochodzące z publicznego zaproszenia WHO do składania danych. Jako standard referencyjny do oceny wykrywania *Mtb* wykorzystano hodowlę prątków. Wykrywanie oporności porównano ze standardem referencyjnym fenotypowego DST oraz złożonym standardem referencyjnym (łączącym wyniki fenotypowego i genotypowego DST) w badaniach, w których przeprowadzono oba rodzaje testów. W przypadku metaanalizy badania zostały najpierw poddane metaanalizie oddzielnie dla każdego testu. Następnie wykorzystano badania ze wszystkich testów, aby uzyskać zbiorcze oszacowanie dla wszystkich technologii. Dane zostały również ocenione i zwizualizowane przy użyciu bezpośrednich porównań testów z Xpert® MTB/RIF lub innym testem zalecanym przez WHO.

1. Czy w przypadku osób z objawami gruźlicy płuc należy stosować automatyczne testy NAAT o średniej złożoności do wykrywania gruźlicy płuc w próbkach z dróg oddechowych, w porównaniu z hodowlą?

Łącznie 29 badań obejmujących 13 852 próbki dostarczyło danych do oceny wykrywalności gruźlicy za pomocą pięciu testów indeksowych. Spośród tych 29 badań 12 przeprowadzono przy użyciu testu Abbott RealTime MTB, sześć przy użyciu FluoroType MTB, cztery przy użyciu FluoroType MTBDR, pięć przy użyciu BD MAX i dwa przy użyciu testu cobas MTB. Standardem odniesienia dla każdego z tych badań w zakresie wykrywania gruźlicy była hodowla prątków. Pewność dowodów była umiarkowana w przypadku czułości i wysoka w przypadku swoistości. Ogólna czułość w tych 29 badaniach wynosiła od 79% do 100%, a swoistość od 60% do 100%.

Wyniki metaanaliz wykazały, że czułość wyniosła 93,0% (95% CI: 90,9–94,7%), a swoistość 97,7% (95% CI: 95,6–98,8%).

2. Czy w przypadku osób z objawami gruźlicy płuc należy stosować automatyczne testy NAAT o umiarkowanej złożoności do badania próbek z dróg oddechowych w celu wykrycia oporności na ryfampicynę, w porównaniu z fenotypowymi testami DST opartymi na hodowli?

Łącznie 18 badań obejmujących 2 874 próbki dostarczyło danych dotyczących badania oporności na ryfampicynę przy użyciu automatycznych testów NAAT o umiarkowanej złożoności. Spośród tych 18 badań dziewięć przeprowadzono przy użyciu testu Abbott RealTime RIF/INH, trzy przy użyciu testu FluoroType MTBDR, cztery przy użyciu testu BD MAX, a dwa przy użyciu testu cobas RIF/INH. Standardem odniesienia dla każdego z tych badań w zakresie wykrywania oporności był fenotypowy DST, przy użyciu złożonego standardu referencyjnego obejmującego zarówno fenotypowy DST, jak i wyniki sekwencjonowania. Osiem (44%) z 18 badań charakteryzowało się wysokim lub niejasnym ryzykiem błędu systematycznego, ponieważ nie podano w nich informacji na temat wyboru uczestników ani badanych próbek przed włączeniem do badania. Wyniki badań dla czułości w zakresie oporności na ryfampicynę wynosiły od 88% do 100%, a swoistość od 98% do 100%.

Wyniki metaanaliz wyniosły dla czułości 96,7% (95% CI: 93,1–98,4%), a dla swoistości wyniosła 98,9% (95% CI: 97,5–99,5%). W celu określenia oporności na ryfampicynę uzyskano wyniki sekwencjonowania genetycznego (genotypowe DST) tam, gdzie było to możliwe, i opracowano złożony standard odniesienia, który łączył wyniki fenotypowego i genotypowego DST. W przypadku wykrywania oporności na ryfampicynę

dokładność testów diagnostycznych o umiarkowanej złożoności zautomatyzowanych NAAT była podobna dla fenotypowego DST i złożonego standardu odniesienia.

3. Czy w przypadku osób z objawami gruźlicy płuc należy stosować automatyczne testy NAAT o umiarkowanej złożoności do badania próbek z dróg oddechowych w celu wykrycia oporności na izoniazyd, w porównaniu z fenotypowymi testami DST opartymi na hodowli?

Łącznie 18 badań obejmujących 1 758 próbek dostarczyło danych dotyczących badania oporności na izoniazyd przy użyciu automatycznych testów NAAT o średniej złożoności [3]. Spośród tych 18 badań dziewięć przeprowadzono przy użyciu testu Abbott RealTime RIF/INH, trzy przy użyciu FluoroType MTBDR, cztery przy użyciu BD MAX, a dwa przy użyciu testu cobas MTB-RIF/INH. Standardem odniesienia dla każdego z tych badań w zakresie wykrywania oporności był fenotypowy DST oraz złożony standard odniesienia obejmujący zarówno fenotypowy DST, jak i wyniki sekwencjonowania. Osiem (44%) z 18 badań charakteryzowało się wysokim lub niejasnym ryzykiem błędu systematycznego, ponieważ nie podano informacji na temat doboru uczestników lub przeprowadzono wcześniejsze badania na uwzględnionych próbkach. Ogólna czułość wykrywania oporności na izoniazyd w tych 18 badaniach wynosiła od 58% do 100%, a swoistość od 94% do 100%.

Wyniki metaanaliz wykazały, że czułość wyniosła 86,4% (95% CI: 82,1–89,8%), a swoistość 99,8% (95% CI: 98,3–99,8%) [3]. W celu określenia oporności na izoniazyd uzyskano wyniki sekwencjonowania genetycznego (genotypowe DST) tam, gdzie było to możliwe, i opracowano złożony standard odniesienia, który łączył wyniki fenotypowego i genotypowego DST. W przypadku wykrywania oporności na izoniazyd dokładność testu diagnostycznego fenotypowego DST była podobna do dokładności złożonego standardu odniesienia.

Ocena kosztów i opłacalności. W ramach wytycznych WHO [3] przeprowadzono systematyczny przegląd, koncentrując się na ocenach ekonomicznych automatycznych testów NAAT o umiarkowanej złożoności. Przeszukano cztery internetowe bazy danych (Embase, Medline, Web of Science i Scopus) w poszukiwaniu nowych badań opublikowanych w okresie od 1 stycznia 2010 r. do 17 września 2020 r. Celem przeglądu było podsumowanie aktualnych dowodów ekonomicznych oraz lepsze zrozumienie kosztów, opłacalności i przystępności cenowej automatycznych testów NAAT o średniej złożoności.

Kilka dostępnych na rynku testów zostało uwzględnionych jako kwalifikujące się testy w kategorii automatycznych testów NAAT o średniej złożoności, nie zidentyfikowano jednak żadnych opublikowanych badań oceniających koszty lub opłacalność któregośkolwiek z tych testów. Zidentyfikowano jedno nieopublikowane badanie porównujące dostępne dane dotyczące dwóch technologii z klasy automatycznych testów NAAT o średniej złożoności, a dane z tego badania opisano poniżej.

Dostępne koszty jednostkowe testów dla dwóch automatycznych testów NAAT o średniej złożoności wynosiły od 18,52 USD (13,79–40,70 USD) do 15,37 USD (9,61–37,40 USD), przy czym w jednym badaniu odnotowano niższe koszty zestawów testowych i wyższe koszty operacyjne związane z czasem przetwarzania w laboratorium. Koszty sprzętu były istotnym czynnikiem wpływającym na zróżnicowanie kosztów i będą się różnić w zależności od sieci laboratoriów i sposobu ich funkcjonowania. Jeśli sprzęt można optymalnie rozmieścić lub zmultipleksować w celu zapewnienia dużej liczby testów, koszt jednego testu można zminimalizować. Nie zidentyfikowano żadnych badań oceniających opłacalność żadnej z

automatycznych metod NAAT o średniej złożoności, a ekstrapolacja nie była właściwa ze względu na różnice w standardach opieki, kaskadach opieki i związanych z nimi kosztach, warunkach operacyjnych, liczbie wykonywanych testów i dokładności diagnostycznej w Polsce. Czynniki związane z wdrożeniem (np. lokalizacja testów, sieć laboratoriów i zdolność programu do szybkiego rozpoczęcia leczenia) mogą mieć wpływ na jednostkowy koszt testu i opłacalność.

Perspektywa interesariuszy. W tej sekcji udzielono odpowiedzi na następujące pytania dotyczące opinii i perspektyw kluczowych interesariuszy na temat stosowania automatycznych testów NAAT o umiarkowanej złożoności. Zidentyfikowano łącznie 27 badań spełniających kryteria włączenia, z których 21 zostało wybranych do analizy. Wszystkie wybrane badania zostały opublikowane w latach 2012–2020. Spośród 21 uwzględnionych badań 18 dotyczyło krajów o wysokim obciążeniu gruźlicą: sześć w Indiach, cztery w RPA, po dwa w Kenii i Ugandzie oraz po jednym w Brazylii, Kambodży, Mjanmie i Wietnamie. Jedno badanie obejmowało projekty w dziewięciu krajach (Bangladesz, Kambodża, Demokratyczna Republika Konga, Kenia, Malawi, Mołdawia, Mozambik, Nepal i Pakistan). Ponadto jedno badanie przeprowadzono w Eswatini, jedno w Mongolii i jedno w Nepalu. Wszystkie badania koncentrowały się na teście Xpert MTB/RIF, z wyjątkiem jednego, które dotyczyło testu Xpert MTB/RIF Ultra (Xpert Ultra).

Pacjenci w środowiskach o wysokim obciążeniu gruźlicą lecz i w Polsce cenią sobie:

- uzyskanie dokładnej diagnozy i zamknięcie diagnostyczne (ostateczne ustalenie „co mi dolega”);
- uniknięcie opóźnień diagnostycznych, ponieważ pogłębiają one istniejące trudności finansowe oraz cierpienie emocjonalne i fizyczne, a także powodują, że pacjenci czują się winni zarażenia innych (zwłaszcza dzieci);
- dostępność placówek; oraz
- zmniejszenie kosztów związanych z diagnozą (np. podróże, nieobecności w pracy) jako istotne wyniki diagnostyki.

Umiarkowanie złożone automatyczne testy NAAT spełniają kilka preferencji i wartości klinicystów i personelu laboratoryjnego, ponieważ:

- są szybsze niż fenotypowe testy DST oparte na hodowli (podobnie jak testy LPA lub testy oparte na kasetach);
- mają tę zaletę, że są zautomatyzowane (w przeciwieństwie do LPA);
- dostarczają dodatkowych informacji klinicznych dotyczących lekooporności, takich jak wysoka lub niska oporność (w przeciwieństwie do obecnego wkładu Xpert MTB/RIF).

Różne czynniki – na przykład długie opóźnienia diagnostyczne, niedostateczne wykorzystanie diagnostyki, brak placówek diagnostycznych zajmujących się gruźlicą na niższych poziomach oraz zbyt wiele ograniczeń dotyczących kwalifikowalności – utrudniają dostęp do szybkich i dokładnych badań oraz leczenia, szczególnie w przypadku grup szczególnie narażonych.

Pracownicy i kierownictwo laboratoriów wyrazili obawy dotyczące trwałości finansowania i utrzymania oraz odpowiednim wykorzystaniu zasobów, co negatywnie wpływa na zapewnienie równego dostępu do diagnostyki opartej na kasetach.

Dostęp do jasnych i zrozumiałych informacji dla pacjentów z gruźlicą na temat dostępnych metod diagnostyki gruźlicy oraz sposobu interpretacji wyników jest istotnym elementem sprawiedliwości, a brak takiego dostępu stanowi poważną przeszkodę dla pacjentów. Zidentyfikowane wyzwania związane ze stosowaniem NAAT do wykrywania gruźlicy i gruźlicy odpornej na leki oraz nagromadzone opóźnienia mogą zagrozić wartości dodanej wskazanej przez użytkowników, co ostatecznie prowadzi do niedostatecznego wykorzystania tych metod. Wyzwania te utrudniają również dostęp do szybkich i dokładnych badań oraz leczenia, szczególnie w przypadku grup szczególnie wrażliwych.

Pacjenci mogą niechętnie poddawać się badaniom w kierunku gruźlicy lub gruźlicy wielolekoopornej z powodu:

- piętno związane z gruźlicą wielolekooporną lub przerwaniem leczenia w przeszłości;
- obaw przed skutkami ubocznymi;
- nie rozpoznania objawów;
- niemożności oddania płwociny;
- kosztów, odległości i problemów związanych z dojazdem do kliniki (w przypadku ponownych wizyt).

Kadra medyczna mogą niechętnie przeprowadzać badania w kierunku gruźlicy lub gruźlicy wielolekoopornej z powodu:

- piętno związane z gruźlicą i konsekwencje dla ich pacjentów;
- obawy przed zarażeniem się gruźlicą;
- obawa przełożonych przed ponowną klasyfikacją pacjentów już poddanych leczeniu gruźlicy, którzy okazali się być błędnie sklasyfikowani;
- obawa przed skutkami ubocznymi leków u dzieci; oraz
- świadomość społeczna dotycząca objawów choroby u dzieci.

Akceptowalność. W odniesieniu do akceptowalności automatycznych testów NAAT o umiarkowanej złożoności:

- automatyzacja tej klasy technologii, która uwzględnia duże obciążenie pracą personelu laboratoryjnego, poprawia ich akceptowalność;
- pod względem fizycznych rozmiarów platformy oraz tego, jak wpisuje się ona w przestrzeń laboratoryjną i przebieg pracy, bardziej akceptowalna może być mniejsza powierzchnia; oraz
- liczba próbek przetwarzanych w systemie jest akceptowalna, pod warunkiem że platforma jest umieszczona w laboratorium, które otrzymuje wystarczającą ilość próbek, aby system mógł działać.

Wykonalność. Wykonalność wszystkich technologii diagnostycznych jest zagrożona, jeśli na każdym etapie procesu dochodzi do opóźnień diagnostycznych lub niedostatecznego wykorzystania (lub obu tych czynników), głównie z powodu czynników związanych z systemem opieki zdrowotnej, takich jak:

- nieprzestrzeganie algorytmów testowania, późne przeprowadzanie testów na gruźlicę lub gruźlicę wielolekooporną, leczenie empiryczne, fałszywie ujemne wyniki spowodowane awarią sprzętu, duże ilości próbek i niedobór personelu, nieodpowiedni lub opóźniony transport próbek i ich jakość, nieodpowiednia lub opóźniona komunikacja wyników, opóźnienia w planowaniu wizyt kontrolnych i ponownym wzywaniu pacjentów oraz niespójne rejestrowanie wyników;

- brak wystarczających zasobów i konserwacji (tj. braki magazynowe; zawodna logistyka; brak funduszy, energii elektrycznej, przestrzeni, klimatyzatorów i pojemników na plwocinę; zapyłone środowisko; opóźnienia lub brak lokalnych możliwości naprawy);
- nieefektywne lub niejasne procedury pracy i przepływ pacjentów (np. nieefektywne procesy organizacyjne, słabe powiązania między dostawcami usług oraz niejasne mechanizmy kontynuacji leczenia lub informacje o tym, gdzie pacjenci powinni się udać); oraz
- brak opartych na danych i integracyjnych krajowych procesów wdrażania.
- Wykonalność automatycznych testów NAAT o umiarkowanej złożoności jest również utrudniona przez:
 - sposób lub możliwość dopasowania platformy do fizycznej przestrzeni laboratorium (biorąc pod uwagę rozmiar stołu i wagę platformy) oraz przepływ próbek;
 - źle działający system transportu próbek, który wpływa na ich jakość; oraz
 - konieczność zapewnienia lekarzom i personelowi laboratoryjnemu czasu na skuteczną komunikację w sprawie wyników diagnostycznych, jeśli platforma jest scentralizowana, przy jednoczesnym zapewnieniu, że lokalizacja laboratorium jest wystarczająco centralna, aby przyjmować odpowiednią liczbę próbek, aby urządzenie było opłacalne.

Wdrożeniu nowych metod diagnostycznych musi towarzyszyć szkolenie lekarzy, aby pomóc im w interpretacji wyników nowych testów molekularnych i zrozumieniu, w jaki sposób informacje te przekładają się na szybkie i właściwe leczenie pacjentów. W przeszłości, wraz z wprowadzeniem Xpert MTB/RIF, stanowiło to wyzwanie. Wprowadzeniu nowych metod diagnostycznych muszą towarzyszyć wytyczne i algorytmy, które pomagają lekarzom i laboratoriom w komunikacji między sobą, tak aby mogli oni omawiać rozbieżne wyniki i interpretować wyniki badań laboratoryjnych w kontekście dostępności leków, historii pacjenta i postępów pacjenta w ramach aktualnego schematu leczenia.

Kwestie związane z wdrożeniem

Czynniki, które należy wziąć pod uwagę przy wdrażaniu automatycznych testów NAAT o umiarkowanej złożoności do wykrywania gruźlicy i oporności na ryfampicynę i izoniazyd, są następujące:

- lokalne dane epidemiologiczne dotyczące częstości występowania oporności powinny stanowić podstawę dla lokalnych algorytmów testowania (w tym prawdopodobieństwo a priori jest ważne dla klinicznej interpretacji wyników testów);
- koszt badania różni się w zależności od takich parametrów, jak liczba próbek w partii i czas pracy personelu, stąd kluczowe jest monitorowanie kosztów;
- testy o niskim, średnim i wysokim stopniu złożoności wymagają coraz większych kompetencji technicznych (kwalifikacji i umiejętności) oraz czasu pracy personelu, co ma wpływ na planowanie i budżetowanie;
- przy wyborze dostawcy należy wziąć pod uwagę dostępność i terminowość lokalnych usług wsparcia i konserwacji;
- akredytacja laboratorium i zgodność z solidnym systemem zarządzania jakością (w tym odpowiednia kontrola jakości) są niezbędne dla utrzymania wysokiej jakości usług i zaufania;
- szkolenie personelu laboratoryjnego i klinicznego jest niezbędne do zapewnienia skuteczności świadczonych usług i ich wpływu klinicznego;

- zachęca się do stosowania rozwiązań łączności elektronicznej do przekazywania wyników, aby poprawić efektywność świadczenia usług i skrócić czas do rozpoczęcia leczenia;
- automatyczne testy NAAT o umiarkowanej złożoności mogą być już stosowane w przypadku innych chorób – na przykład zespołu ostrej niewydolności oddechowej wywołanego koronawirusem 2 (SARS-CoV2), HIV i oporności na środki przeciwdrobnoustrojowe (AMR) – co mogłoby potencjalnie ułatwić wdrożenie testów na gruźlicę na wspólnych platformach;
- wdrożenie automatycznych testów NAAT o umiarkowanej złożoności wymaga laboratoriów posiadających niezbędną infrastrukturę, przestrzeń i wydajne systemy przekazywania próbek;
- chociaż są to testy zautomatyzowane, do konfiguracji testów i spełnienia wymagań konserwacyjnych potrzebny jest dobrze wyszkolony, wykwalifikowany personel; oraz
- wdrożenie tych testów powinno być dostosowane do konkretnego kontekstu; należy zatem wziąć pod uwagę kwestie dostępności, zwłaszcza na obszarach oddalonych, gdzie bardziej odpowiednie mogą być technologie mniej scentralizowane, zalecane przez WHO.

3.3. Wstępne testy diagnostyczne do rozpoznania gruźlicy bez wykrywania lekooporności

Obecnie pojawiła się nowa klasa ręcznych testów NAAT o niskiej złożoności (LC-mNAAT), stanowiących alternatywne rozwiązania molekularne, które charakteryzują się większą dokładnością w porównaniu z badaniem mikroskopowym rozmazu oraz bardzo podstawowymi wymaganiami w zakresie infrastruktury, zasilania i sprzętu (np. blok grzejny). Testy LC-mNAAT można wykonywać na poziomie mikroskopii i są one obecnie tańsze niż inne testy molekularne. Wszystkie te cechy sprawiają, że testy te są przydatne w warunkach ograniczonych możliwości. Jednak podobnie jak w przypadku mikroskopii rozmazów, ta klasa testów nie obejmuje wykrywania oporności na ryfampicynę i dlatego wymaga wykonania testów z uzupełniającym rozwiązaniem w celu określenia oporności na leki. [3]

3.3.1. Manualne testy NAAT o niskiej złożoności do wykrywania gruźlicy Opis klasy diagnostycznej

Tabela 10. Kryteria klasyfikacji LC-mNAAT

Cel	Wykrywanie gruźlicy
Zasada działania	Test amplifikacji kwasu nukleinowego
Odczynniki	Odczynniki są zamknięte w wielu jednorazowych, szczelnych pojemnikach, które nie wymagają specjalnych warunków przechowywania.
Umiejętności	Podstawowe umiejętności techniczne (np. podstawowe pipetowanie, precyzja nie jest krytyczna)
Pipetowanie	Wiele etapów pipetowania (maksymalnie 10) od przetworzonej próbki do uzyskania wyniku.
Procedura testowa	Co najmniej trzy odrębne etapy: <ul style="list-style-type: none"> • Etap obróbki próbki przed przeniesieniem jej do jednorazowego, szczelnego pojemnika • Ekstrakcja DNA • Amplifikacja PCR • Wizualizacja wyników
Rodzaj raportowania wyników testu	Automatyczne lub manualne
Ustawienia użytkownika	Podstawowe laboratorium (nie wymaga specjalnej infrastruktury)

DNA: kwas dezoksyrybonukleinowy; LC-mNAAT: ręczny test amplifikacji kwasu nukleinowego o niskiej złożoności; PCR: reakcja łańcuchowa polimerazy; TB: gruźlica.

Jedynym produktem, którego dane spełniały kryteria wydajności dla LC-mNAAT, jest zestaw Loopamp MTBC Detection Kit (TB LAMP) (Eiken Chemical, Tokio, Japonia) do wykrywania gruźlicy płuc.

Przed wdrożeniem tego testu diagnostycznego wymagane jest uzyskanie zgody krajowych organów regulacyjnych lub innych właściwych organów. Nie można dokonywać ekstrapolacji na testy innych marek, a wszelkie nowe technologie w tej klasie lub nowe wskazania dla technologii obecnie objętej tą klasą będą musiały zostać ocenione odpowiednio przez WHO PQ i WHO/GTB. [3, 14]

Rekomendacja 6

W przypadku osób dorosłych i młodzieży z objawami lub wynikami pozytywnymi w badaniach przesiewowych w kierunku gruźlicy płuc, jako wstępne badania diagnostyczne w kierunku gruźlicy należy stosować manualne testy NAAT o niskim poziomie złożoności z próbek z dróg oddechowych, a nie badanie mikroskopowe lub hodowlę. (Silna rekomendacja, wysoka pewność dowodów)

- Rekomendacja to dotyczy wszystkich osób żyjących z HIV, z zastrzeżeniem niskiej do umiarkowanej pewności dowodów. Jednakże, o ile to możliwe, zaleca się jednoczesne badanie metodą LC-aNAAT i LF-LAM u osób żyjących z HIV.
- Rekomendacja to zostało ekstrapolowane na dzieci w odniesieniu do próbek z dróg oddechowych (w tym indukowanej plwociny i aspiratu żołądkowego) w oparciu o uogólnienie danych dotyczących osób dorosłych i bardzo ograniczonych danych dotyczących dzieci, biorąc pod uwagę trudności związane z pobieraniem próbek plwociny od tej populacji. Jednakże, jeśli to możliwe, zaleca się jednoczesne badanie LC-aNAAT próbek z dróg oddechowych i kału u dzieci.
- Dane dotyczące stosowania testu w przypadku próbek kału pediatrycznego były bardzo ograniczone, a dane dotyczące stosowania aspiracji z nosogardła nie były dostępne. W związku z tym rekomendacja nie została rozszerzona na te rodzaje próbek.
- Ze względu na niewystarczające dane nie sformułowano zaleceń dotyczących stosowania testu w przypadku gruźlicy pozapłucnej.
- Ponieważ LC-mNAAT nie dostarczają wyników dotyczących oporności na ryfampicynę, wszystkie pozytywne wyniki testów diagnostycznych w kierunku gruźlicy wymagają dalszej obserwacji i skierowania na badanie wrażliwości na leki, przynajmniej w odniesieniu do ryfampicyny.

Uzasadnienie rekomendacji

Ocena skuteczności. W ramach prac nad wytycznymi WHO [3] przeprowadzono przegląd systematyczny dotyczący stosowania LC-mNAAT (TB LAMP) w diagnostyce gruźlicy u osób z objawami gruźlicy lub u których wynik badania przesiewowego w kierunku gruźlicy był pozytywny.

- 1. Wykrywanie gruźlicy płuc - czy LC-mNAAT z próbek z dróg oddechowych powinny być stosowane do diagnozowania gruźlicy płuc u dorosłych i młodzieży z objawami lub u których wyniki badań przesiewowych były pozytywne, w porównaniu z MRS?**

W dwudziestu sześciu badaniach (18 297 uczestników) oceniono dokładność diagnostyczną przy użyciu próbek plwociny i porównaniu z MRS. Czulość wynosiła od 55% do 100%, a swoistość od 70% do 100%. Podsumowująca czulość wyniosła 84,1%. (95% CI: 78,3–88,6), a podsumowująca swoistość wyniosła 96,1% (95% CI: 94,2–97,4). Pewność dowodów dotyczących czulości i swoistości była wysoka.

- 2. Wykrywanie gruźlicy u osób żyjących z HIV - czy testy LC-mNAAT z próbek z dróg oddechowych powinny być stosowane do diagnozowania gruźlicy płuc u dorosłych i młodzieży żyjących z HIV, u których występują objawy gruźlicy płuc, w porównaniu z MRS?**

W ośmiu badaniach (2991 uczestników) uwzględnionych w niniejszej metaanalizie czułość wynosiła od 52% do 100%, a swoistość od 27% do 100%. Podsumowując, czułość wyniosła 77,1% (95% CI: 60,8–87,9), a swoistość 95,9% (95% CI: 84,9–99,0). Pewność dowodów była niska w przypadku czułości i umiarkowana w przypadku swoistości.

3. Wykrywanie gruźlicy u dzieci - czy testy LC-mNAAT z próbek z dróg oddechowych powinny być stosowane do diagnozowania gruźlicy płuc u dzieci z objawami gruźlicy płuc w porównaniu z MRS?

W trzech badaniach (62 uczestników, w tym ośmiu z gruźlicą płuc) oceniano dokładność testów LC-mNAAT w wykrywaniu gruźlicy płuc przy użyciu próbek z dróg oddechowych (plwocina, płukanie oskrzelowo-pęcherzykowe i aspirat z tchawicy) oraz MRS. Czułość wynosiła od 60% do 100%, a swoistość od 95% do 100%. Pewność dowodów była bardzo niska w przypadku czułości i niska w przypadku swoistości.

4. Czy testy LC-mNAAT na aspiracie żołądkowym powinny być stosowane do diagnozowania gruźlicy płuc u dzieci z objawami gruźlicy płuc w porównaniu z MRS?

W trzech badaniach (176 uczestników, w tym 14 z gruźlicą płuc) oceniano dokładność testów LC-mNAAT w wykrywaniu gruźlicy płuc przy użyciu aspiratu żołądkowego w porównaniu z MRS. W dwóch badaniach nie można było oszacować czułości, a w trzecim badaniu wyniosła ona 64%. Swoistość wynosiła od 93% do 100%.

5. Czy testy LC-mNAAT na aspiracie z nosogardła powinny być stosowane do diagnozowania gruźlicy płuc u dzieci z objawami gruźlicy płuc w porównaniu z MRS?

W jednym badaniu (144 uczestników, w tym 12 z gruźlicą płuc) oceniano dokładność LC-mNAAT w wykrywaniu gruźlicy płuc przy użyciu aspiratu z nosogardła w porównaniu z MRS. Czułość wyniosła 58%, a swoistość 94%. Ze względu na ograniczoną ilość danych nie sformułowano rekomendacje dotyczące stosowania LC-mNAAT z aspiratem z nosogardła do wykrywania gruźlicy płuc.

6. Czy testy LC-mNAAT na podstawie próbek kału powinny być stosowane do diagnozowania gruźlicy płuc u dzieci z objawami gruźlicy płuc w porównaniu z MRS?

W jednym badaniu (144 uczestników, w tym siedmiu z gruźlicą płuc) oceniano dokładność LC-mNAAT w wykrywaniu gruźlicy płuc na podstawie badania kału w porównaniu z MRS. Czułość wyniosła 100%, a swoistość 92%. Pewność dowodów była bardzo niska w przypadku czułości i umiarkowana w przypadku swoistości. Ze względu na ograniczoną ilość danych nie sformułowano rekomendacje dotyczące stosowania LC-mNAAT z kałem do wykrywania gruźlicy płuc.

7. Wykrywanie gruźliczego zapalenia opon mózgowych - Czy testy LC-mNAAT na płynie mózgowo-rdzeniowym powinny być stosowane do diagnozowania gruźliczego zapalenia opon mózgowych u dorosłych i młodzieży z objawami gruźliczego zapalenia opon mózgowych, w porównaniu z MRS?

W dwóch badaniach (70 uczestników, w tym trzech z gruźliczym zapaleniem opon mózgowych) oceniano dokładność LC-mNAAT w wykrywaniu gruźliczego zapalenia opon mózgowych przy użyciu płynu mózgowo-rdzeniowego i MRS. Szacowana czułość i swoistość wyniosły 100% w jednym badaniu oraz odpowiednio 0% i 97% w drugim. Pewność dowodów była bardzo niska w przypadku czułości i niska w przypadku swoistości. Ze względu na

ograniczoną ilość danych nie sformułowano rekomendacji dotyczącego stosowania LC-mNAAT z płynem mózgowo-rdzeniowym do wykrywania gruźliczego zapalenia opon mózgowych.

8. Wykrywanie pozapłucnej gruźlicy

a. Czy w diagnostyce gruźlicy węzłów chłonnych u dorosłych i młodzieży z objawami gruźlicy węzłów chłonnych należy stosować LC-mNAAT na tkance węzłów chłonnych zamiast MRS?

W trzech badaniach (95 uczestników, w tym 35 osób z gruźlicą) oceniano dokładność LC-mNAAT w wykrywaniu gruźlicy węzłów chłonnych przy użyciu tkanki węzłów chłonnych pobranej podczas biopsji oraz MRS. Szacowana czułość wynosiła od 93% do 100%, a swoistość od 88% do 100%. Podsumowująca czułość wyniosła 94,3% (95% CI: 79,8–98,6), a podsumowująca swoistość 90,0% (95% CI: 79,5–95,4). Pewność dowodów była niska zarówno w przypadku czułości, jak i swoistości. Ze względu na ograniczoną ilość danych nie sformułowano rekomendacji dotyczącej stosowania LC-mNAAT próbek tkanek węzłów chłonnych do wykrywania gruźlicy węzłów chłonnych.

b. Czy testy LC-mNAAT na płynie opłucnowym powinny być stosowane do diagnozowania gruźlicy opłucnej u dorosłych i młodzieży z objawami gruźlicy opłucnej, w przeciwieństwie do MRS?

W dwóch badaniach (292 uczestników, w tym 37 osób z gruźlicą) oceniano dokładność LC-mNAAT w wykrywaniu gruźlicy opłucnej przy użyciu płynu opłucnowego i MRS. Szacowana czułość wyniosła 48% i 75%, a szacowana swoistość 89% i 96%. Ze względu na ograniczoną ilość danych nie sformułowano rekomendacji dotyczącej stosowania LC-mNAAT próbek płynu opłucnowego do wykrywania gruźlicy opłucnej.

c. Czy testy LC-mNAAT na płynie maziowym powinny być stosowane do diagnozowania gruźlicy kości lub stawów u dorosłych i młodzieży z objawami gruźlicy kości lub stawów, w porównaniu z MRS?

W jednym badaniu (pięciu uczestników, w tym jeden przypadek) oceniono dokładność LC-mNAAT w wykrywaniu gruźlicy kości lub stawów przy użyciu płynu maziowego i MRS. Szacowana czułość i swoistość wyniosły 100%. Ze względu na ograniczoną ilość danych nie sformułowano rekomendacji dotyczącej stosowania LC-mNAAT z próbek płynu maziowego do wykrywania gruźlicy kości lub stawów.

d. Czy testy LC-mNAAT moczu powinny być stosowane do diagnozowania gruźlicy układu moczowo-płciowego u dorosłych i młodzieży z objawami gruźlicy układu moczowo-płciowego, w porównaniu z MRS?

W jednym badaniu (32 uczestników, w tym dwie osoby z gruźlicą) oceniono dokładność LC-mNAAT w wykrywaniu gruźlicy układu moczowo-płciowego przy użyciu moczu i MRS. Szacowana czułość i swoistość wyniosły odpowiednio 50% i 100%. Ze względu na ograniczoną ilość danych nie sformułowano rekomendacji dotyczącego stosowania LC-mNAAT moczu do wykrywania gruźlicy układu moczowo-płciowego.

Analiza opłacalności. Systematyczny przegląd przeprowadzony w ramach wytycznych WHO [3] miał na celu zidentyfikowanie, ocenę i podsumowanie wyników dostępnych dowodów ekonomicznych dotyczących LC-mNAAT w porównaniu z innymi technologiami. Systematyczny przegląd obejmował sześć badań. Badania, które nie dotyczyły osób z gruźlicą, wykorzystywały TB LAMP jako interwencję diagnostyczną lub nie zawierały danych dotyczących kosztów, zostały wykluczone. Spośród sześciu uwzględnionych badań, w jednym

przeprowadzono analizę kosztów i użyteczności, a w dwóch analizę kosztów i przystępności cenowej. W trzech pozostałych badaniach oszacowano koszt TB LAMP.

Wszystkie uwzględnione badania zostały przeprowadzone w krajach o niskim i średnim dochodzie. Dwa badania przeprowadzono w Tajlandii, jedno w Malawi, jedno w Malawi i Wietnamie oraz po jednym w Indiach i Kamerunie. Badania przeprowadzono w latach 2014–2021 w różnych warunkach realizacji, takich jak oddziały ambulatoryjne w ośrodkach zdrowia, laboratoria peryferyjne, laboratorium zajmujące się opracowywaniem zmodyfikowanego testu TB LAMP oraz więzienia i wioski, w których przebywali więźniowie i uchodźcy. W jednym badaniu wykorzystano próbki płwociny od osób, u których stwierdzono gruźlicę, a w innym – próbki z węzłów chłonnych pobrane metodą cienkoigłowej aspiracji od pacjentów zakażonych wirusem HIV i gruźlicą węzłów chłonnych. W pozostałych czterech badaniach wykorzystano próbki płwociny od osób z podejrzeniem gruźlicy.

Według trzech badań dotyczących kosztów, koszt jednego testu wynosił od 1 do 19 dolarów amerykańskich (wszystkie wartości podane są w dolarach amerykańskich z 2024 r.) i nie dotyczył dostępnego na rynku testu TB LAMP. W przeanalizowanych badaniach wykazano, że różne scenariusze partii i większa wydajność testów mają wpływ na koszt jednego testu, przy czym w określonych scenariuszach koszt jednego testu maleje. Na koszt mogą również wpływać wielkość serii testów, lokalizacja i parametry operacyjne. Co ważne, analiza kosztów i użyteczności wykazała, że TB LAMP wypada korzystnie pod względem opłacalności w porównaniu z innymi algorytmami diagnostycznymi.

Wyniki analizy kosztów i użyteczności sugerują, że TB LAMP, a następnie DST, są nie tylko skuteczne, ale także oszczędne w porównaniu ze standardowym podejściem diagnostycznym (tj. rozmazem, hodowlą i DST). Wyniki te dostarczają cennych informacji dla kadry medycznej i decydentów w zakresie optymalizacji strategii diagnostycznych gruźlicy przy uwzględnieniu opłacalności.

Analiza opłacalności przeprowadzona w laboratoriach peryferyjnych w Malawi i Wietnamie podkreśliła ekonomiczne aspekty wdrożenia TB LAMP i Xpert MTB/RIF. Badanie wykazało, że koszty jednego testu TB LAMP były niższe niż w przypadku Xpert MTB/RIF. Jednak potencjalne obciążenie finansowe związane z powszechnym wdrożeniem podkreśliło znaczenie oceny opłacalności przy kształtowaniu strategii diagnostycznych.

Przełądane badania miały pewne ograniczenia, takie jak różnice w warunkach, źródłach próbek i komparatorach, które mogą wpływać na możliwość uogólnienia wyników. Ponadto analiza kosztów i przystępności cenowej podkreśla finansowe konsekwencje wdrożenia na skalę krajową, sugerując potrzebę starannego planowania i alokacji budżetu. Co więcej, niedawna obniżka ceny TB LAMP (nowa cena 6 USD) przez Global Drug Facility może mieć wpływ na wyniki ocen ekonomicznych, potencjalnie zwiększając opłacalność i przystępność cenową wdrożenia TB LAMP w różnych warunkach.

Zbiorcze wyniki wskazują, że TB LAMP jest obiecującym, opłacalnym i skutecznym narzędziem diagnostycznym w przypadku gruźlicy, gdy jest zintegrowane z szerszymi algorytmami diagnostycznymi, szczególnie w środowiskach o ograniczonych zasobach.

Perspektywa interesariuszy. Wyniki badań dotyczących LC-aNAAT mają w dużej mierze zastosowanie do LC-mNAAT, z zastrzeżeniem nieco niższej czułości i braku możliwości wykrywania oporności na ryfampicynę. W

systematycznym przeglądzie dowodów jakościowych dotyczących LC-NAAT nie zidentyfikowano żadnych badań dotyczących LC-mNAAT (przynajmniej, że w kilku badaniach nie określono rodzaju NAAT, na którym się skupiano).

Jednak wybrane wyniki badania opartego na wywiadach skupiały się konkretnie na TB-LAMP. W 2018 roku Nigeria zaczęła stosować TB LAMP (razem z GeneXpert i Truenat). W momencie przeprowadzania wywiadu w Nigerii było 199 urzędzeń TB LAMP. Znajdują się one zarówno w miejscach, gdzie dostępny jest GeneXpert, aby zmniejszyć obciążenie pracą, jak i w laboratoriach peryferyjnych, gdzie infrastruktura jest niewystarczająca, aby pomieścić GeneXpert. Pozytywne wyniki TB LAMP są wysyłane do najbliższego miejsca z urządzeniem GeneXpert lub Truenat w celu przeprowadzenia DST.

Wytyczne Filipińskiego Narodowego Programu Walki z Gruźlicą (NTP) zalecają stosowanie TB LAMP jako alternatywnego podstawowego testu diagnostycznego w warunkach, w których dostęp do GeneXpert jest ograniczony i obecnie opiera się na kurierach transportujących plwocinę (STRiders). TB LAMP był testowany w 2019 r. (od kwietnia do września) i 2020 r. (od października do lutego 2021 r.) w wiejskiej placówce służby zdrowia, poliklinice i prywatnym szpitalu, a także w ramach masowych badań przesiewowych w kierunku gruźlicy w wiejskiej placówce służby zdrowia. W ramach pilotażowego wdrożenia testowano jedynie plwocinę za pomocą TB LAMP i nie przeprowadzono badań w kierunku gruźlicy w grupach ryzyka MDR, wśród dzieci ani osób żyjących z HIV. Według kierownika laboratorium na Filipinach znajduje się około sześciu lub siedmiu urzędzeń TB LAMP. Nie są one obecnie używane, ale mogłyby być, gdyby istniało wsparcie na zakup odczynników.

Badanie ankietowe dotyczące TB LAMP przeprowadzone w Nigerii i na Filipinach wykazało następujące opinie personelu laboratoryjnego i pracowników programu. TB LAMP z czasem ułatwia pracę laboratoryjną dzięki łatwości obsługi i możliwości zwolnienia miejsca na stole roboczym oraz w porównaniu z SSM, TB LAMP jest łatwiejszy w użyciu. W bezpośrednim porównaniu z Xpert Ultra, TB LAMP jest bardziej praktyczny i wymaga od użytkownika wykonania większej liczby czynności oraz poświęcenia więcej czasu na przygotowanie i przetwarzanie próbek.

Akceptowalność. Akceptowalność testu wydaje się być nieco ograniczona, ponieważ TB LAMP nie pozwala na badanie oporności na ryfampicynę i nie ma możliwości wielokrotnego testowania.

TB LAMP poprawia dostęp do diagnostyki gruźlicy dla osób, które w przeciwnym razie zostałyby pominięte, ponieważ może być stosowany w laboratoriach o ograniczonej infrastrukturze, charakteryzuje się wysoką wydajnością, jest dokładniejszy niż SSM i zmniejsza obciążenie pracą w placówkach GeneXpert. Umożliwia decentralizację badań, a tym samym może potencjalnie zmniejszyć katastrofalne koszty ponoszone przez pacjentów. Jednak decyzje dotyczące wdrożenia TB LAMP są również podyktowane względami finansowymi i inwestycyjnymi. Ogólnie rzecz biorąc, TB LAMP pozwala personelowi przeprowadzać więcej testów i to szybciej. Jego wysoka wydajność przyczynia się do jego akceptacji i rzeczywistego wykorzystania. Personel laboratoryjny w Nigerii otrzymuje zachęty za liczbę przeprowadzonych testów, co sprawia, że korzystanie z TB LAMP jest jeszcze bardziej atrakcyjne. Zachęty te sprzyjają również szybkiemu działaniu w przypadku konieczności konserwacji lub naprawy urzędzeń.

Wykonalność. Wykonalność programu wydaje się być mniej istotnym problemem niż w przypadku GeneXpert. W porównaniu z wdrożeniem GeneXpert, pracownicy programu uważają TB LAMP za łatwiejszy do wdrożenia ze względu na mniejsze wymagania dotyczące infrastruktury, poziomu umiejętności i konserwacji. Podobnie jak w

przypadku wszystkich testów LC-NAAT, wyzwaniem jest zapewnienie personelu i dostaw odczynników. Wpływ TB LAMP na całkowity czas oczekiwania na diagnozę DR-TB, rozpoczęcie leczenia MDR-TB i utratę pacjentów w placówkach bez testów Xpert Ultra zależy od wydajności i niezawodności systemu transportu próbek lub systemu skierowań.

Kwestie związane z wdrożeniem

- Produkty diagnostyczne należące do klas testów o niskim stopniu złożoności powinny zatwierdzone przez organy regulacyjne przed zastosowaniem klinicznym.
- Producenci testów diagnostycznych, kierownicy laboratoriów i programów oraz decydenci powinni zostać przeszkoleni w zakresie procesu kwalifikacji dla wyrobów medycznych do diagnostyki in vitro gruźlicy.
- Aby uzyskać dokładne wyniki, ważne jest zapewnienie wystarczającej ilości i jakości próbek.
- Aby zminimalizować ryzyko dla środowiska, należy z wyprzedzeniem zaplanować bezpieczne usuwanie zużytych materiałów eksploatacyjnych do badań.
- monitorowanie błędów i odsetka nieprawidłowych wyników testów dla obecnie zalecanych produktów i nowych produktów, które mają zostać wprowadzone w tej klasie.
- Monitorowanie odsetka osób z potwierdzoną bakteriologicznie gruźlicą bez testów refleksyjnych na oporność na ryfampicynę lub dostępu do dalszych testów wrażliwości na leki w miarę upływu czasu.

3.4. Równoczesne stosowanie wstępnych testów diagnostycznych do diagnozowania gruźlicy u osób żyjących z HIV i dzieci

Gruźlica stanowi poważne obciążenie dla osób żyjących z HIV i dzieci, szczególnie w krajach o niskim i średnim dochodzie (LMIC). Osoby żyjące z HIV są znacznie bardziej narażone na zachorowanie na gruźlicę z powodu obniżonej odporności, a gruźlica jest główną przyczyną zgonów w tej populacji. Dzieci, zwłaszcza poniżej piątego roku życia, są narażone na wysokie ryzyko przejścia od zakażenia gruźlicą do choroby gruźliczej oraz szybkiego postępu choroby i często wykazują szerokie objawy oddechowe, które utrudniają diagnozę i zwiększają zachorowalność i śmiertelność, jeśli nie są szybko leczone. Zwalczanie gruźlicy w tych grupach ryzyka wymaga wspólnych wysiłków, które uwzględniają ich specyficzne objawy kliniczne i potrzeby diagnostyczne. [3]

Diagnozowanie gruźlicy u osób żyjących z HIV i dzieci jest trudne, zwłaszcza ze względu na niespecyficzne objawy kliniczne i często niską i zmienną liczbę prątków w próbkach, co obniża czułość istniejących testów diagnostycznych. Ponadto dzieci i osoby żyjące z HIV z zaawansowaną immunosupresją mogą nie być w stanie dostarczyć próbek płwociny i mogą mieć gruźlicę rozsianą, którą trudno jest potwierdzić metodami laboratoryjnymi. Aby częściowo rozwiązać ten problem, WHO zaleca stosowanie próbek kału w celu ułatwienia laboratoryjnego potwierdzenia gruźlicy u dzieci oraz stosowanie próbek moczu w celu ułatwienia potwierdzenia gruźlicy u osób żyjących z HIV. Jednak nawet wysoce czułe testy diagnostyczne gruźlicy, takie jak LC-aNAAT, mogą nie wykryć gruźlicy u tych osób. Istnieje zatem potrzeba udoskonalenia metod diagnostycznych, aby dokładnie potwierdzić gruźlicę w tych grupach populacji o podwyższonym ryzyku i zapewnić wczesne i skuteczne leczenie.

Testy oparte na wykrywaniu antygeny lipoarabinomannanu (LAM) są oparte o biomarkery, które mogą być w moczu i pozwalają na wykrywanie gruźlicy. Obecnie dostępny test LAM w moczu jest szybki (wynik w ciągu mniej niż 1 godziny), ale ma nieoptymalną czułość i dlatego nie nadaje się jako ogólny test diagnostyczny gruźlicy. Jednak w przeciwieństwie do tradycyjnych metod diagnostycznych wykazuje on lepszą czułość w diagnostyce gruźlicy u osób zakażonych jednocześnie wirusem HIV. Szacowana czułość jest jeszcze większa u pacjentów z niską liczbą komórek CD4. Test paskowy LAM w moczu z bocznym przepływem (LF-LAM) – Abbott/Alere Determine TB LAM Ag (USA), zwany dalej LF-LAM – jest obecnie jedynym dostępnym na rynku testem LAM w moczu.

Jednoczesne badania różnych rodzajów próbek stanowi obiecujące podejście, które pozwala na zniesienie barier diagnostycznych dla dorosłych i młodzieży zakażonych wirusem HIV, dzieci (bez i zakażonych wirusem HIV) lub których status serologiczny jest nieznan. Na przykład badanie płwociny i kału podczas tej samej wizyty, jeśli jest to możliwe, przy użyciu LC-aNAAT, co zwiększa prawdopodobieństwo wykrycia gruźlicy u dzieci, które mogą mieć niewielką ilość prątków w samych próbkach z dróg oddechowych. Podobnie w przypadku osób żyjących z HIV badanie płwociny i moczu podczas tej samej wizyty, gdy można uzyskać płwocinę, przy użyciu LC-aNAAT i LF-LAM zwiększa prawdopodobieństwo wykrycia gruźlicy dzięki szybkim wynikom, zapewniając jednocześnie wykrycie oporności na ryfampicynę. To podejście oparte na równoczesnym badaniu opiera się na wcześniejszym zaleceniu dotyczącym stosowania testu LF-LAM u kwalifikujących się osób żyjących z HIV, które podkreślało potrzebę przeprowadzania badań mWRD dostępnych próbek z dróg oddechowych w celu wsparcia powszechnego dostępu pacjentów do badań oporności.

Wdrożenie podejścia diagnostycznego obejmującego równoczesne badanie próbek mogłoby uprościć procesy diagnostyczne, skrócić czas oczekiwania pacjentów oraz poprawić wskaźniki wykrywalności gruźlicy i wyniki

zdrowotne w tych grupach ryzyka. Jednocześnie niemożność pobrania jednej lub więcej próbek podczas pierwszej wizyty lub brak jednego z dwóch rodzajów testów nie powinny opóźnić badania dostępnych próbek i testów, ale zamiast tego powinny skłaniać do jak najszybszego pobrania próbek i przeprowadzenia badań.

Poniżej przedstawiono trzy scenariusze zaleceń:

- LC-aNAAT z próbek z dróg oddechowych i moczu LF-LAM wśród dorosłych i młodzieży żyjących z HIV,
- LC-aNAAT z próbek z dróg oddechowych i kale u dzieci,
- LC-aNAAT z próbek z dróg oddechowych i kale, a także LF-LAM w moczu u dzieci z HIV.

Rekomendacje te powinny być wdrażane w ramach zaleceń dotyczących kompleksowej diagnostyki i postępowania z osobami żyjącymi z HIV oraz dla dzieci.

3.4.1. Jednoczesne stosowanie testów u osób żyjących z HIV

Rekomendacja 7

W przypadku dorosłych i młodzieży zakażonych wirusem HIV, u których występują objawy gruźlicy, wynik badania przesiewowego w kierunku gruźlicy jest dodatni, są oni poważnie chorzy lub cierpią na zaawansowaną chorobę AIDS, jako wstępną strategię diagnostyczną w kierunku gruźlicy należy zastosować równoczesne badanie przy wykorzystaniu automatycznych testów NAAT o niskiej złożoności z próbek z dróg oddechowych oraz testu LF-LAM na moczu, a nie tylko automatycznych testów NAAT o niskiej złożoności z próbek z dróg oddechowych. *(Silna rekomendacja, niska pewność dowodów)*

- Poważną chorobę u osób żyjących z HIV definiuje się na podstawie jednego z następujących objawów: częstość oddechów ≥ 30 oddechów na minutę, temperatura ≥ 39 °C, częstość akcji serca ≥ 120 uderzeń na minutę lub niemożność samodzielnego chodzenia.
- Zaawansowaną chorobę HIV definiuje się u osób żyjących z HIV, które mają liczbę komórek CD4 < 200 komórek/mm³ lub u których występuje AIDS w stadium 3/4 według klasyfikacji WHO.
- Niniejsze rekomendacje dotyczące jednoczesnego wykonywania badań i zastępuje wcześniejsze wytyczne dotyczące stosowania testu LF-LAM u osób żyjących z HIV oraz stosowania pojedynczego testu molekularnego do diagnostyki gruźlicy w tej grupie.
- Rekomendacja to jest silna pomimo niskiego stopnia pewności dowodów, ponieważ wyniki wskazują na duże efekty skuteczności (tj. szybką i dokładną diagnostykę gruźlicy w grupie osób żyjących z HIV – u których diagnozowanie gruźlicy jest często trudne) przeważające nad niewielkimi działaniami niepożądanymi (tj. negatywnymi konsekwencjami tej strategii testowania).
- Produkty LC-aNAAT, dla których kwalifikujące się dane spełniały kryteria skuteczności dla tej klasy to Xpert MTB/RIF Ultra i Truenat MTB Plus. Dane dotyczące skuteczności Truenat MTB Plus i MTB-RIF Dx były dostępne wyłącznie dla badań przeprowadzonych wśród osób żyjących z HIV bez jednoczesnego badania LF-LAM.

Uzasadnienie rekomendacji

W przeglądzie systematycznym Cochrane z 2016 r. dotyczącym dokładności diagnostycznej testu LF-LAM czułość była wyższa o 13% w przypadku połączenia testu LF-LAM i testu Xpert MTB/RIF z płwociną w porównaniu z samym testem Xpert z płwociną, natomiast swoistość spadła o 4%. Wyniki oparto jednak tylko na kilku badaniach, a analizy ograniczono do uczestników zdolnych do odkrztuszania płwociny.

Dodatkowo w 2023 r. WHO w ramach tworzenia wytycznych analizowano serię przeglądów systematycznych [3] w celu oceny inkrementalnej dokładności diagnostycznej równoczesnego stosowania albo dwóch różnych testów – LC-aNAAT z próbek z dróg oddechowych i LF-LAM na moczu wśród osób żyjących z HIV – albo tego samego testu na dwóch próbkach (LC-aNAAT z próbek z dróg oddechowych i kału) u dzieci, lub alternatywnie LC-aNAAT z próbek z dróg oddechowych i kału wraz z LF-LAM na moczu wśród dzieci z HIV. Przyrostowa zmiana dokładności diagnostycznej w przypadku badań równoległych w porównaniu z badaniem pojedynczych próbek.

1. Jaka jest dodatkowa (inkrementalna) dokładność diagnostyczna równoczesnego stosowania testów LC aNAAT z dróg oddechowych i LF-LAM z moczu w diagnostyce gruźlicy u dorosłych i młodzieży z HIV, u których występują objawy sugerujące gruźlicę, w porównaniu z każdym z tych testów stosowanym osobno?

Spośród 31 badań 27 oceniało dokładność diagnostyczną w odniesieniu do MRS, a 23 w odniesieniu do CRS, przy czym w 20 badaniach oceniano dokładność w odniesieniu do obu standardów referencyjnych. W sumie 27 badań (12 651 uczestników, w tym 2368 [18,7%] z gruźlicą) porównało dokładność jednoczesnego stosowania LC-aNAAT na próbce z dróg oddechowych i LF-LAM z każdym z tych testów stosowanym osobno, wykorzystując MRS. Łączne różnice w czułości i swoistości między badaniem równoległym a samym LC-aNAAT wyniosły odpowiednio 6,7% (95% przedział wiarygodności [CrI]: 3,8 do 10,7; 95% przedział prognozy [PI]: 0,6 do 45,9) oraz –6,8% (95% CrI: –9,5 do –4,7; 95% PI: –32,8 do –6,8). Pewność dowodów była niska zarówno w przypadku czułości, jak i swoistości. W sumie 23 badania (11 109 uczestników, w tym 3723 [33,5%] z gruźlicą) porównywały dokładność jednoczesnego stosowania LC-aNAAT i LF-LAM z samą metodą LC-aNAAT przy użyciu skali CRS. Łączne różnice w czułości i swoistości między badaniem równoczesnym a samym LC-aNAAT wyniosły odpowiednio 16,0% (95% CrI: 10,7 do 22,9; 95% PI: 2,3 do 60,3) oraz –3,5% (95% CrI: –6,6 do –1,7; 95% PI: –47,2 do –0,1). Pewność dowodów była niska w przypadku czułości i bardzo niska w przypadku swoistości. [3]

Oprócz dokładności diagnostycznej oceniono dane dotyczące wyników klinicznych w zakresie śmiertelności, czasu do postawienia diagnozy oraz czasu do rozpoczęcia leczenia. Dane dotyczące wyleczenia i utraty kontaktu z pacjentem nie zostały ocenione z powodu braku danych. Dane z trzech badań wskazywały, że interwencja obejmująca LC-aNAAT w próbkach z dróg oddechowych oraz LF-LAM w moczu u dorosłych pacjentów hospitalizowanych z HIV wiązała się z nieznacznie zmniejszoną śmiertelnością w ciągu 8 tygodni (współczynnik ryzyka: 0,93; 95% CI: 0,74–1,17). Skorygowany współczynnik ryzyka czasu do postawienia diagnozy u dorosłych pacjentów hospitalizowanych z HIV wyniósł 1,55 (95% CI: 1,29–1,87). Oznacza to, że uczestnicy z grup interwencyjnych (tj. ci, u których jednocześnie wykonywano badanie LC-aNAAT próbek z dróg oddechowych oraz LF-LAM moczu) mieli 1,55 razy większe prawdopodobieństwo zdiagnozowania gruźlicy w krótszym czasie (względne skrócenie o 2 dni i 1 dzień do zdiagnozowania w tym samym dniu) niż osoby z grupy kontrolnej. Zbiorczy

współczynnik ryzyka dla dorosłych pacjentów hospitalizowanych z HIV, u których zdiagnozowano gruźlicę, wyniósł 1,56 (95% CI: 1,29–1,88), co wskazuje, że w grupie interwencyjnej ryzyko zdiagnozowania gruźlicy (potwierdzonej mikrobiologicznie lub zdiagnozowanej klinicznie) było 1,56 razy większe w porównaniu ze standardową opieką, która obejmowała wyłącznie badanie LC-aNAAT płwociny.

Łączny współczynnik ryzyka dla dorosłych pacjentów hospitalizowanych z HIV, u których rozpoznano gruźlicę potwierdzoną bakteriologicznie, wyniósł 3,06 (95% CI: 1,82–5,16), co wskazuje, że w grupie interwencyjnej ryzyko uzyskania mikrobiologicznego potwierdzenia gruźlicy było trzykrotnie większe w porównaniu ze standardową opieką. Wreszcie, łączny współczynnik ryzyka dla dorosłych pacjentów hospitalizowanych z HIV leczonych z powodu gruźlicy wyniósł 1,47 (95% CI: 1,25–1,73).

2. Badanie pojedynczej próbki u osób żyjących z HIV w porównaniu z MRS - Czy należy stosować LC-aNAAT w próbkach z dróg oddechowych do diagnozowania gruźlicy płuc u osób żyjących z HIV (dorosłych i młodzieży) z objawami klinicznymi lub z wynikiem pozytywnym w badaniach przesiewowych w kierunku gruźlicy płuc, w porównaniu z mikrobiologicznym standardem referencyjnym?

W dwunastu badaniach (2016 uczestników) oceniano próbki płwociny od osób żyjących z HIV. Czulość wahała się od 54% do 100%, a swoistość od 78% do 100%. Łączna czulość (95% CI) wyniosła 87,4% (83,8 do 90,3), a swoistość 95,2% (92,7 do 96,9). Pewność dowodów zarówno dla czulości, jak i swoistości została oceniona jako wysoka.

Analiza opłacalności. Nie odnaleziono danych dla Polski. Dane dostępne w ramach wytycznych WHO [3] opłacalności są ograniczone. W kilku badaniach oceniano skuteczność testu Xpert MTB/RIF w połączeniu z testem LF-LAM w diagnostyce gruźlicy u osób żyjących z HIV. Badania te wykazały, że badania równoległe mogą wydłużyć oczekiwaną długość życia osób żyjących z HIV i są opłacalne w porównaniu z zastosowaniem samego testu Xpert MTB/RIF w próbkach płwociny. Fekuda i in. ocenili opłacalność jednoczesnego stosowania testów Xpert Ultra i LF-LAM wśród osób żyjących z HIV i doszli do wniosku, że testy równoległe są preferowaną strategią opłacalną. Poprzednie analizy opłacalności skupiały się głównie na testach Xpert MTB/RIF lub Xpert Ultra, pozostawiając lukę w dowodach dotyczących innych technologii, które mogą spełniać kryteria klasy LC-aNAAT.

W ramach tworzenia wytycznych WHO [3] przeprowadzono badania mającego na celu ocenę opłacalności stosowania testów LC-aNAAT (w tym Xpert Ultra, Truenat i innych nowych testów LC-aNAAT znajdujących się w fazie rozwoju) do wykrywania gruźlicy przy jednoczesnym stosowaniu u osób żyjących z HIV oraz u dzieci, w tym dzieci z HIV, w dwóch różnych krajach (Malawi i Filipiny). Celem badania była ocena opłacalności jednoczesnego stosowania testów LC-aNAAT z próbek z dróg oddechowych oraz testów LF-LAM na moczu do diagnozowania gruźlicy i wykrywania oporności na ryfampicynę wśród dorosłych osób żyjących z HIV z podejrzeniem gruźlicy, w porównaniu z zastosowaniem wyłącznie testu LC-aNAAT z próbek z dróg oddechowych. W grupie interwencyjnej diagnoza gruźlicy obejmowała równoczesne zastosowanie LC-aNAAT w próbkach z dróg oddechowych i LF-LAM w moczu, podczas gdy w grupie porównawczej stosowano wyłącznie LC-aNAAT w próbkach z dróg oddechowych. Uwzględniono prawdopodobieństwo dostarczenia próbki z dróg oddechowych, a badania przeprowadzono albo równocześnie z próbek z dróg oddechowych i moczu, albo wyłącznie na moczu. Zarówno w grupie interwencyjnej,

jak i porównawczej uczestnicy, u których nie zdiagnozowano choroby za pomocą strategii diagnostycznej, mieli możliwość uzyskania diagnozy klinicznej. Osoby z potwierdzoną bakteriologicznie gruźlicą zostały poddane testom wrażliwości na leki (DST) w odniesieniu do ryfampicy i rozpoczęły leczenie gruźlicy wrażliwej na leki lub gruźlicy lekoopornej (DR-TB), w zależności od wyniku DST. Wszystkie osoby były obserwowane w czasie, w tym osoby z fałszywie ujemnymi lub fałszywie dodatnimi wynikami diagnostycznymi, aby uwzględnić niepotrzebne leczenie lub dodatkową śmiertelność spowodowaną pominiętymi diagnozami. W Malawi średni koszt wdrożenia LC-aNAAT na próbce z dróg oddechowych wyniósł 276 USD, przy odpowiadającym mu średnim wskaźniku DALY wynoszącym 2,44. W przypadku stosowania równocześnie z LF-LAM średni koszt wzrósł do 298 USD, podczas gdy średni wskaźnik DALY spadł do 1,93. Inkrementalny koszt uniknięcia DALY wyniósł 42 USD, przy 95 procentowym przedziale niepewności (UR) wynoszącym od 18 do 345 USD. Podobnie na Filipinach średni koszt testu LC-aNAAT z próbki z dróg oddechowych wyniósł 220 USD, przy średnim wskaźniku DALY wynoszącym 2,78, podczas gdy jednoczesne stosowanie z LF-LAM wiązało się ze średnim kosztem 238 USD i średnim wskaźnikiem DALY wynoszącym 2,13. Inkrementalny koszt uniknięcia DALY wyniósł 28 USD (95% UR: 12–249).

Perspektywa interesariuszy. W celu oceny preferencji i wartości użytkowników oraz równość w dostępie, GR oceniła, czy równoległe badanie wielu próbek zwiększyłoby dokładność diagnostyczną (tj. korzyści dla pacjentów lub programu w zakresie wykrywania większej liczby osób z gruźlicą). Trzy pytania PICO dotyczyły różnych kombinacji próbek równoległych dla określonych grup, które borykają się z trudnościami wynikającymi z polegania wyłącznie z próbek z dróg oddechowych (dzieci i osoby żyjące z HIV). Jedno pytanie dotyczyło równoległego stosowania LC-aNAAT na próbce z dróg oddechowych i LF-LAM na moczu w celu diagnozy gruźlicy u osób żyjących z HIV. Preferencje i wartości użytkowników Jako ważne wyniki testu diagnostycznego osoby w środowiskach o wysokim obciążeniu gruźlicą cenią sobie:

- uzyskanie dokładnej diagnozy i zamknięcie procesu diagnostycznego (ostateczne poznanie „co mi dolega”);
- unikanie opóźnień diagnostycznych, ponieważ pogłębiają one istniejące trudności finansowe oraz cierpienie emocjonalne i fizyczne, a także sprawiają, że ludzie czują się winni z powodu zarażania innych (zwłaszcza dzieci);
- dostępność placówek;
- zmniejszenie kosztów związanych z diagnozą (np. koszty podróży, nieobecności w pracy).

W krajach objętych badaniem ankietowym nie praktykowano równoczesnego badania próbek [3]. Uważano jednak, że poprawia to dostęp do opieki poprzez zminimalizowanie powtórnych wizyt i utraty kontaktów z pacjentami. Według respondentów badania ankietowego wykorzystanie próbek innych niż płwocina może poprawić dostęp do opieki, zwłaszcza w przypadku testu, który można wykonać na wszystkich poziomach systemu opieki zdrowotnej. Wyzwania związane z uzyskaniem płwociny o wystarczającej jakości i ilości są dobrze udokumentowane i mogą prowadzić do powtarzania badań lub fałszywych wyników. Akceptowalność Na podstawie wyników badania ankietowego stwierdzono, że test LF-LAM jest stosowany w sposób niejednorodny u osób żyjących z HIV i tylko u bardzo chorych pacjentów, którzy nie są w stanie oddać płwociny. Wcześniejsze badania dotyczące opinii użytkowników na temat testu LF-LAM wykazały, że jest on ogólnie postrzegany jako akceptowalny przez kluczowych interesariuszy ze względu na szybki czas oczekiwania na wynik, łatwość

użytkowania (brak konieczności posiadania wiedzy technicznej), niskie lub zerowe wymagania konserwacyjne i sprzętowe oraz fakt, że mocz jest łatwiej dostępny i mniej stygmatyzowany niż plwocina.

Akceptowalność. Metoda LF-LAM jest uważana za szczególnie akceptowalną, gdy jest stosowana w połączeniu z innymi testami i uwzględnieniem czynników klinicznych. Ponieważ czułość metody LF-LAM jest szczególnie niska w przypadku niskiego prawdopodobieństwa a priori, GR uznała, że nie powinna ona być stosowana jako samodzielny test, ale raczej w połączeniu z innymi testami, a wyniki powinny być interpretowane przez lekarza z uwzględnieniem pełnego kontekstu klinicznego, a nie rozpatrywane w oderwaniu od niego.

Wykonalność. Wyniki badania ankietowego podkreśliły, że korzyści płynące z LF-LAM zależą w decydującym stopniu od tego, w jaki sposób rozwiązuje się kilka wyzwań związanych z wykonalnością

- Nie każdy może spontanicznie pobrać lub zebrać próbki moczu. Może to mieć miejsce na przykład wtedy, gdy pacjent jest zbyt chory lub ma sepsę lub musi mieć założony cewnik, ponieważ pobranie próbek moczu z pieluch jest niemożliwe, lub gdy szpital nie dysponuje czystą, prywatną przestrzenią do oddawania moczu.
- Widoczność słabych wyników i interpretacja wyników mogą stanowić problem. Kompleksowe szkolenie kadry medycznej w zakresie interpretacji wyników testów (w tym obowiązkowe stosowanie karty odczytów referencyjnych, w stosownych przypadkach) ma kluczowe znaczenie dla zapewnienia dokładnej interpretacji wyników na potrzeby działań klinicznych.
- Konieczność uzyskania wyników badania liczby komórek CD4 w celu wybrania osób do badania jest problematyczna, ponieważ wyniki te nie zawsze są dostępne od razu. Aby ułatwić wdrożenie programu i zapewnić korzyści szerszej grupie osób, należy rozważyć wyeliminowanie liczby komórek CD4 jako kryterium kwalifikującego osoby żyjące z HIV.
- W warunkach szpitalnych badania przy łóżku pacjenta mogą naruszać poufność danych pacjenta.
- Wyniki muszą być rejestrowane w standardowy sposób, który jest zgodny z systemami raportowania placówki.
- Należy wdrożyć systemy zapewnienia jakości oraz udostępnić zewnętrzne kontrole jakości, aby zapewnić kontrolę jakości badań i procesów badawczych.

Równoległe badania należy traktować jako bardziej efektywny sposób pracy (tj. badanie dwóch próbek jednocześnie podczas tej samej wizyty zamiast badania jednej próbki podczas dwóch oddzielnych wizyt), który pozwala również zwiększyć dostępność i obniżyć koszty dla systemu i dla pacjentów.

Wcześniejsze inwestycje w technologie wiodące, preferencje darczyńców, ograniczone podejście do systemów opieki zdrowotnej oraz konkurencja między producentami stanowią wyzwania dla przyjmowania i wdrażania nowych metod diagnostyki molekularnej. Ponadto krajowe oceny technologii medycznych i opłacalność i mogą opóźniać decyzje dotyczące wdrażania nowszych technologii i strategii diagnostycznych wykorzystujących różne możliwości testowania.

Kwestie związane z wdrażaniem

- Kluczowe jest uwzględnienie możliwości testowania w ramach krajowego programu HIV/AIDS w kierunku gruźlicy jako obowiązkowego.
- Jednoczesne testowanie maksymalizuje możliwości diagnostyczne i dokładność wykrywania chorych, jest bardziej skutecznym sposobem zaspokojenia potrzeb populacyjnych i jest preferowane, nawet jeśli może to zwiększyć nakład pracy związany z testowaniem. Co istotne pozytywny wynik jednego z tych testów wystarcza do potwierdzenia rozpoznania gruźlicy.
- Test LF-LAM wykonywany w placówkach opieki zdrowotnej może dać pierwszy pozytywny wynik i jest wystarczający do postawienia wstępnej diagnozy. Próbkę z dróg oddechowych jest nadal wymagana do wykrycia oporności na ryfampicynę, a także w przypadku negatywnego wyniku testu LF-LAM.
- LF-LAM nie rozróżnia *Mtb* od innych gatunków prątków. Jednak antygen LAM wykryty w próbce klinicznej w obszarach endemicznych TB najprawdopodobniej można przypisać *Mtb*.
- W przypadku uzyskania konsekwentnie pozytywnych wyników testu LF-LAM bez pozytywnych wyników testu LC-aNAAT należy zbadać jakość testów oraz lokalną epidemiologię prątków innych niż gruźlicze i pozapłucnej gruźlicy w badanej populacji, aby zrozumieć różnicę.
- Interpretacja pasków na pasku testowym LF-LAM powinna być przeprowadzana przy użyciu karty odczytowej producenta, aby zminimalizować ryzyko uzyskania nieprawidłowych wyników. Paski testowe LF-LAM należy przechowywać zgodnie z instrukcjami producenta (np. w temperaturze od 2 do 30 °C) w szczelnie zamkniętych torebkach i nie należy ich używać po upływie terminu ważności.
- Pacjentów należy poinstruować, jak prawidłowo i higienicznie pobrać próbkę moczu, aby zminimalizować ryzyko zanieczyszczenia i zapobiec uzyskaniu fałszywie dodatnich wyników.
- Do wykonania testu LF-LAM w placówce opieki zdrowotnej potrzebny będzie przeszkolony personel, a także wymagane są programy zapewnienia jakości i kontrole jakości dla obu testów.
- Test LF-LAM służy do wykrywania antygenu LAM prątków w moczu człowieka. Nie należy używać innych próbek (np. płwociny, surowicy, osocza, płynu mózgowo-rdzeniowego i innych płynów ustrojowych) ani zbiorczych próbek moczu.

Monitorowanie

- W przypadku równoczesnego wykonywania testów należy monitorować jednoczesne pobieranie próbek i czas oczekiwania na wyniki testów.
- Monitoruj dostęp pacjentów do drugiego testu w ramach podejścia opartego na równoczesnym testowaniu oraz utratę pacjentów podczas dalszej obserwacji.
- Należy monitorować dostęp pacjentów do dalszych badań DST oraz utratę pacjentów z grupy kontynuującej leczenie wśród osób z dodatnim wynikiem testu LF-LAM, ale ujemnym wynikiem testu LC-aNAAT.
- Monitoruj trendy dotyczące rozbieżności między wynikami testów LF-LAM i LC-aNAAT. Jeśli różnice te odbiegają od innych lokalnych lub regionalnych wzorców lub jeśli trendy ulegają zmianie, konieczne jest przeprowadzenie dalszych badań i śledzenie wyników pod kątem nawrotów w czasie.

3.4.2. Jednoczesne stosowanie testów u dzieci bez zakażenia wirusem HIV lub o nieznanym statusie serologicznym

Rekomendacja 8

U dzieci HIV-ujemnych lub o nieznanym statusie HIV, u których występują objawy gruźlicy płuc lub dodatkowo wyniki badań przesiewowych, należy zastosować równoczesną diagnostykę z wykorzystaniem próbek z dróg oddechowych oraz kału. Kompleksowe, automatyczne testy NAAT wykonywane na tych próbkach powinny być stosowane jako wstępna strategia diagnostyczna w kierunku gruźlicy. Nie należy ograniczać diagnostyki wyłącznie do prostszych testów NAAT o niskim stopniu złożoności wykonywanych tylko na jednym rodzaju materiału (np. wyłącznie z dróg oddechowych albo tylko z kału). (Silna rekomendacja, niska pewność dowodów)

- W niniejszym zaleceniu priorytetowo traktuje się jednoczesne badanie dwóch różnych rodzajów próbek zamiast stosowania pojedynczego testu molekularnego do diagnozowania gruźlicy u dzieci.
- Oceniono również stosowanie testów LC-aNAAT na izolowanych próbkach. Wyniki potwierdziły celowość stosowania testów LC-aNAAT w początkowych badaniach diagnostycznych gruźlicy u dzieci z objawami klinicznymi lub z wynikiem pozytywnym w badaniach przesiewowych w kierunku gruźlicy płuc, z wykorzystaniem próbek z dróg oddechowych, płynu żołądkowego, kału lub płynu z nosogardła, zamiast rozmazów lub posiewów.
- Zalecenie to ma charakter zdecydowany pomimo niskiego poziomu pewności dowodów, ponieważ wyniki wskazują na duże efekty dotyczące skuteczności tj. szybką i dokładną diagnostykę gruźlicy w bardzo wrażliwej populacji – dzieci – u których rozpoznanie gruźlicy często stanowi wyzwanie, przeważające nad nieznacznymi niepożądanymi efektami (tj. negatywnymi konsekwencjami tej strategii diagnostycznej).
- Produktem, dla którego kwalifikujące się dane spełniały kryteria skuteczności oparte na klasie LC-aNAAT dla niniejszego zalecenia, był Xpert MTB/RIF Ultra. Skuteczności testów Truenat MTB Plus i MTB-RIF Dx w odniesieniu do niniejszego zalecenia nie można było ocenić, ponieważ dane nie były dostępne.

Uzasadnienie i dowody

Testów LC-aNAAT próbek z dróg oddechowych i kału zaleca się jako pierwszego badania u dzieci z objawami wskazującymi na prawdopodobną gruźlicę. Są one powszechnie stosowane w diagnozowaniu gruźlicy. W przeglądach systematycznych [3] tradycyjnie oceniano dokładność diagnostyczną testów LC-aNAAT na dwóch próbkach osobno w celu wykrycia gruźlicy u dzieci, ale w praktyce klinicznej testy te mogą być stosowane jednocześnie (tj. test LC-aNAAT na próbce z dróg oddechowych i próbce kału), a razem zwiększają czułość.

1. **Jaka jest dodatkowa dokładność diagnostyczna równoczesnego stosowania testów LC-aNAAT z próbek z dróg oddechowych i kału w diagnostyce gruźlicy płuc u dzieci bez zakażenia wirusem HIV lub o nieznanym statusie HIV, z objawami klinicznymi lub z dodatnim wynikiem przesiewowym w kierunku gruźlicy płuc, w porównaniu ze stosowaniem testu LC-aNAAT na jednym rodzaju próbki (z dróg oddechowych lub kału)?**

W przeglądzie systematycznym w ramach wytycznych WHO [3] w ośmiu badaniach (2145 uczestników, z których 173 [8,1%] miało gruźlicę) porównano dokładność równoczesnego stosowania testów LC-aNAAT próbek z dróg oddechowych i kału (LC-aNAAT łącznie) z testami LC-aNAAT na jednym rodzaju próbki (z dróg oddechowych lub kału) w odniesieniu do MRS. W porównaniu z LC-aNAAT wyłącznie z próbek z dróg oddechowych, badania równoległe charakteryzowały się o 7,1 punktu procentowego (95% CrI: od 3,2 do 13,4) wyższą czułością i o -1,7 punktu procentowego (95% CrI: od -3,8 do -0,6) niższą swoistością. Pewność dowodów zarówno dla czułości, jak i swoistości była niska w przypadku

W porównaniu z LC-aNAAT wyłącznie z próbek kału, badanie równoległe wykazało o 22,1 punktu procentowego (95% CrI: 13,7 do 32,7) wyższą czułość oraz o -4,1 punktu procentowego (95% CrI: -8,0 do -1,7) niższą swoistość. Pewność dowodów była umiarkowana w przypadku czułości i niska w przypadku swoistości w porównaniu z LC-aNAAT wyłącznie z próbek kału.

W dwunastu badaniach (3579 uczestników, z których 1464 [40,9%] miało gruźlicę) porównano dokładność łącznego stosowania LC-aNAAT w porównaniu z każdym z tych testów stosowanym osobno w odniesieniu do CRS. W porównaniu z LC-aNAAT wyłącznie z próbek z dróg oddechowych badania równoległe wykazały o 4,7 punktu procentowego (95% CrI: od 2,1 do 8,9) wyższą czułość i o -0,5 punktu procentowego (95% CrI: od -1,4 do 0) niższą swoistość. W porównaniu z LC-aNAAT wyłącznie z próbek kału, badania równoległe wykazały o 10,5 punktu procentowego (95% CrI: 6,9 do 15,0) wyższą czułość i o -0,1 punktu procentowego (95% CrI: -0,7 do -0,005) niższą swoistość. Pewność dowodów była bardzo niska zarówno w przypadku czułości, jak i swoistości dla obu porównań (badanie równoległe w porównaniu z samą próbką z dróg oddechowych i samymi kałami) w ramach CRS. Dane dotyczące testów Truenat MTB Plus i MTB-RIF Dx nie były dostępne.

2. Badanie pojedynczej próbki u dzieci w porównaniu z MRS Czy w diagnostyce gruźlicy płuc u dzieci z objawami klinicznymi lub z dodatnim wynikiem badań przesiewowych w kierunku gruźlicy płuc należy stosować testy LC-aNAAT z próbek z dróg oddechowych w porównaniu z MRS?

Zidentyfikowano piętnaście badań (3024 uczestników) oceniających wyniki z plwociny i wyniki dla czułości były w zakresie od 57% do 91% i swoistości od 82% do 100%. W metaanalizie uwzględniono jedenaście badań (2990 uczestników) i wyniki dla czułości wynosiły 75,3% (95% CI: 68,9–80,8), a dla swoistości 95,9% (95% CI: 92,3–97,9). Pewność dowodów była wysoka zarówno w przypadku czułości, jak i swoistości. Dane dotyczące testów Truenat MTB Plus i MTB RIF Dx nie były dostępne.

3. Czy w diagnostyce gruźlicy płuc u dzieci z objawami klinicznymi lub z dodatnim wynikiem badań przesiewowych w kierunku tej choroby należy stosować testy LC-aNAAT z próbek z płukanki żołądkowej w porównaniu z badaniem MRS?

Zidentyfikowano dwanaście badań (1959 uczestników), w których czułość wynosiła od 0% do 100%, a swoistość od 67% do 100%, które uwzględniono w metaanalizie. Łączna czułość wyniosła 69,6% (95% CI: 60,3–77,6), a swoistość 91,0% (95% CI: 82,5–95,6). Pewność dowodów była umiarkowana zarówno w przypadku czułości, jak i swoistości. Dane dotyczące testów Truenat MTB Plus i MTB-RIF Dx nie były dostępne

4. Czy do diagnozowania gruźlicy płuc u dzieci z objawami klinicznymi lub u których wyniki badań przesiewowych były dodatnie należy stosować testy LC-aNAAT z próbek z aspiratu z nosogardła w porównaniu z badaniem MRS?

Zidentyfikowano siedem badań (1355 uczestników), w których czułość wynosiła od 33% do 67%, a swoistość od 50% do 99%. W metaanalizie uwzględniono sześć badań (1353 uczestników). Podsumowująca czułość wyniosła 46,2% (95% CI: 34,9–57,9), a podsumowująca swoistość 97,5% (95% CI: 95,1–98,7). Pewność dowodów była umiarkowana w przypadku czułości i wysoka w przypadku swoistości. Dane dotyczące testów Truenat MTB Plus i MTB-RIF Dx nie były dostępne.

5. Czy należy stosować testy LC-aNAAT z próbek kału do diagnozowania gruźlicy płuc u dzieci z objawami klinicznymi lub u których wyniki badań przesiewowych w kierunku gruźlicy płuc były dodatnie, w porównaniu z badaniem MRS?

Zidentyfikowano dziesięć badań (2855 uczestników), w których czułość wynosiła od 26% do 100%, a swoistość od 89% do 100% i uwzględniono je w metaanalizie. Łączna czułość wyniosła 68,0% (95% CI: 50,3–81,7), a swoistość 98,2% (95% CI: 96,3–99,1). Pewność dowodów była umiarkowana w przypadku czułości i wysoka w przypadku swoistości. Dane dotyczące testów Truenat MTB Plus i MTB-RIF Dx nie były dostępne.

Analiza opłacalności. Nie odnaleziono danych dla warunków polskich. W ramach opracowania wytycznych WHO [3] przeprowadzono analizę dotyczącą opłacalności stosowania metod LC-aNAAT (w tym Xpert Ultra, Truenat i innych nowatorskich metod LC-aNAAT znajdujących się w fazie rozwoju) do wykrywania gruźlicy przy jednoczesnym stosowaniu u osób żyjących z HIV oraz u dzieci, w tym dzieci z HIV, w dwóch różnych krajach (Malawi i Filipiny). Celem badania była ocena opłacalności równoczesnego stosowania testów LC-aNAAT próbek z dróg oddechowych i kału do diagnozy gruźlicy oraz wykrywania oporności na ryfampicynę wśród dzieci (w wieku <10 lat) z podejrzeniem gruźlicy i bez zakażenia wirusem HIV, w porównaniu z pojedynczym testem LC-aNAAT wyłącznie na próbce z dróg oddechowych. Zarówno w grupie interwencyjnej, jak i porównawczej, uczestnicy, u których nie zdiagnozowano choroby w ramach strategii diagnostycznej, mieli możliwość uzyskania diagnozy klinicznej. Dzieci z potwierdzoną bakteriologicznie gruźlicą zostały poddane testom wrażliwości na leki (DST) w odniesieniu do ryfampicyny i rozpoczęły leczenie gruźlicy wrażliwej lub gruźlicy lekoopornej (DR-TB), w zależności od wyniku DST.

W celu walidacji modelu uwzględniono dane z Malawi i wykazano, że stosowanie testu LC-aNAAT próbek z dróg oddechowych prowadziło do kosztów na poziomie 144 USD, a DALY wynosiło 0,93. Natomiast jednoczesne zastosowanie testów LC-aNAAT próbek z dróg oddechowych i kału dało średni koszt 204 USD oraz DALY 0,57, co wskazywało, że koszt uniknięcia DALY wynosi 253 USD (95% UR: 123–2317). Podobnie na Filipinach koszt testu LC-aNAAT na próbce z dróg oddechowych wyniósł 84 USD, a DALY 1,04. Badania równoległe na Filipinach dały średni koszt 149 USD i wynik dla DALY wynoszący 0,66, przy ICER wynoszącym 156 USD na uniknięty DALY (95% UR: 79–888).

Perspektywa interesariuszy. GR oceniła, czy jednoczesne badanie wielu próbek zwiększyłoby skuteczność diagnostyczną (tj. korzyści dla pacjentów lub programu w zakresie wykrywania większej liczby osób z gruźlicą).

Jedno z pytań PICO dotyczyło jednoczesnego stosowania metod LC-aNAAT w badaniach próbek z dróg oddechowych i kału w diagnostyce gruźlicy u dzieci. Dla chorych z gruźlic podobnie jak w innych rekomendacjach istotne:

- uzyskanie dokładnej diagnozy i zamknięcie procesu diagnostycznego (ostateczne poznanie „co mi dolega”);
- unikanie opóźnień diagnostycznych, ponieważ pogłębiają one istniejące trudności finansowe oraz cierpienie emocjonalne i fizyczne, w tym obawy o zarażania innych (zwłaszcza dzieci);
- zmniejszenie kosztów związanych z diagnozą (np. podróży, nieobecności w pracy).

Uczestnicy doceniają fakt, że pobieranie próbek kału jest znacznie mniej inwazyjne niż płukanie żołądka, a tym samym może zmniejszyć fizyczne i emocjonalne cierpienie dzieci i ich rodziców.

W krajach objętych badaniem ankietowym nie praktykowano równoczesnego badania próbek. Uważano jednak, że poprawia to dostęp do opieki poprzez zminimalizowanie powtórnych wizyt i utraty kontaktu z pacjentem. Według respondentów badania ankietowego wykorzystanie próbek innych niż płwocina może poprawić dostęp do opieki, zwłaszcza w przypadku testu, który można wykonać na wszystkich poziomach systemu opieki zdrowotnej. Wyzwania związane z uzyskaniem płwociny o wystarczającej jakości i ilości są dobrze udokumentowane i mogą prowadzić do powtarzania badań lub fałszywych wyników.

Akceptowalność. GR podkreśla, że próbka płwociny jest preferowanym wyborem i pobraliby drugą najlepszą próbkę tylko wtedy, gdyby ta pierwsza nie była dostępna. Jednak uczestnicy uznali również, że równoczesne badanie próbek jest możliwe i wymaga zmodyfikowania algorytmów diagnostycznych oraz szkoleń kadry medycznej. W przypadku małych dzieci kał wydaje się być akceptowalną metodą. Kał od osób dorosłych jest uważany za trudniejszy zarówno pod względem akceptacji, jak i czasu przetwarzania. Ogólnie rzecz biorąc, uczestnicy mieli zaufanie do wyników badań kału przeprowadzonych za pomocą urządzenia GeneXpert

Wykonalność. Badania równoległe należy przedstawiać jako bardziej efektywny sposób pracy (tj. badanie dwóch próbek jednocześnie podczas tej samej wizyty, zamiast badania jednej próbki podczas każdej z dwóch oddzielnych wizyt), który pozwala również zwiększyć dostępność i obniżyć koszty dla pacjentów. Ograniczeniem może być jakość próbek kału, spowodowane opóźnieniami między momentem pobrania a przetworzeniem w laboratorium. Praktykę badań równoległych należy przedstawiać jako generującą wystarczające korzyści, aby uzasadnić dodatkowe krótkoterminowe obciążenie pracą, a także jako mającą potencjał do zmniejszenia obciążenia pracą w dłuższej perspektywie.

Kwestie związane z wdrożeniem

- Równoległe badania maksymalizują możliwości diagnostyczne i dokładność wykrywania przypadków, stanowią bardziej efektywny sposób zaspokojenia potrzeb tej populacji i są preferowane, nawet jeśli obciążenie pracą związaną z badaniami może wzrosnąć. Wynik pozytywny w jednym z badań jest wystarczający do potwierdzenia diagnozy gruźlicy.
- Należy monitorować i zapobiegać utracie pacjentów z obserwacji w oczekiwaniu na wynik drugiego badania. Pacjentom należy przekazać informacje pozwalające zrozumieć podejście oparte na równoległych badaniach oraz potrzebę dalszej obserwacji.

- Potrzebna jest odpowiednia kadra i szkolenia, aby usprawnić pobieranie różnych rodzajów próbek oraz ich przetwarzanie laboratoryjne.
- Na poziomie podstawowej opieki zdrowotnej, w sytuacji niedoboru lub braku płwociny, wykonalne może być pobranie próbek kału i aspiratu z nosogardła, podczas gdy pobranie bardziej inwazyjnych rodzajów próbek (tj. płwociny indukowanej, płukania oskrzelowo-pęcherzykowego i aspiratu żołądkowego) wymagałoby skierowania do specjalisty, w zależności od lokalnych możliwości i wiedzy specjalistycznej. W takich okolicznościach właściwe może być wykonanie badania kału na poziomie podstawowej opieki zdrowotnej i oczekiwanie na wynik badania przed skierowaniem dziecka do specjalisty.

Monitorowanie i ocena

- Należy monitorować jednoczesne pobieranie próbek i czas oczekiwania na wyniki w ramach podejścia opartego na równoległym badaniu.
- Należy monitorować liczbę pacjentów, którzy nie zgłaszają się na wizytę kontrolną po drugim badaniu w ramach podejścia opartego na równoległym badaniu.
- Należy monitorować trendy w odsetku wyników niejednoznacznych dla obu rodzajów próbek w przypadku testów LC-aNAAT oraz odsetek rozbieżności międzywynikami LC-aNAAT z próbek oddechowych i kału. Jeśli różnice te odbiegają od innych wzorców lokalnych lub regionalnych lub jeśli trendy ulegną zmianie, konieczne jest przeprowadzenie dalszych badań.

3.4.3. Jednoczesne stosowanie testów u dzieci zakażonych wirusem HIV

Rekomendacja 9

W przypadku dzieci z HIV, które mają objawy lub wyniki badań przesiewowych wskazujące na gruźlicę płuc, jako wstępną strategię diagnostyczną w kierunku gruźlicy można zastosować równoczesne badania z wykorzystaniem automatycznych testów NAAT o niskim stopniu złożoności z próbek z dróg oddechowych i kału oraz testu LF-LAM na moczu, zamiast automatycznych testów NAAT o niskim stopniu złożoności wyłącznie z próbek z dróg oddechowych lub kału. (Rekomendacja warunkowa, niska pewność dowodów)

- Niniejsze zalecenie przedkłada badania równoległe nad stosowanie wyłącznie testów molekularnych i testu LF-LAM w diagnostyce gruźlicy u dzieci zakażonych wirusem HIV.
- Oceniono również zastosowanie testów LC-aNAAT w przypadku próbek pobranych osobno. Wyniki badań potwierdziły zasadność stosowania testów LC-aNAAT w początkowej diagnostyce gruźlicy u dzieci zakażonych wirusem HIV, u których występują objawy kliniczne lub które uzyskały wynik pozytywny w badaniach przesiewowych w kierunku gruźlicy płuc, przy użyciu płwociny, aspiratu żołądkowego, kału lub aspiratu z nosogardła zamiast rozmazów lub posiewów.
- Zalecenie to ma charakter warunkowy, ponieważ wyniki wskazują na umiarkowane niepożądane skutki (tj. zmniejszoną specyficzność, skutkującą większą liczbą wyników fałszywie dodatnich) w porównaniu ze strategią opartą na jednym badaniu.

- Produktem, dla którego dostępne dane spełniały kryteria skuteczności oparte na klasie LC-aNAAT dla niniejszego zalecenia, był Xpert MTB/RIF Ultra. Nie można było ocenić skuteczności Truenat MTB Plus i MTB-RIF Dx w odniesieniu do niniejszego zalecenia, ponieważ dane nie były dostępne.

Uzasadnienie rekomendacji

Testy LC-aNAAT z próbek z dróg oddechowych i kału oraz test LF-LAM na moczu są zalecane jako pierwsze badanie u dzieci z objawami HIV, u których podejrzewa się gruźlicę, i powinny być stosowane do diagnozowania gruźlicy. W niektórych przeglądach systematycznych oceniano dokładność diagnostyczną testów LC-aNAAT na dwóch próbkach oraz testu LF-LAM w moczu osobno w wykrywaniu gruźlicy u dzieci, jednak w praktyce klinicznej testy te mogą być stosowane jednocześnie (tj. test LC-aNAAT z próbek z dróg oddechowych i kału oraz test LF-LAM w moczu), a ich połączenie zwiększa czułość.

Jaka jest dodatkowa dokładność diagnostyczna jednoczesnego stosowania testów LC-aNAAT z próbek z dróg oddechowych i kału oraz testu LF-LAM na moczu w porównaniu z każdym typem próbki osobno w diagnostyce gruźlicy płuc u dzieci z HIV, z objawami klinicznymi lub z wynikiem pozytywnym w badaniach przesiewowych w kierunku gruźlicy płuc, w porównaniu z dowolnym z tych testów (połączonymi testami LC-aNAAT lub testem LF-LAM) stosowanym osobno?

W ramach wytyczny WHO [3] opracowano przegląd systematyczny i włączono sześciu badań (653 uczestników, w tym 43 [6,6%] z gruźlicą) dotyczący MRS. Dokładność diagnostyczna jednoczesnego stosowania LC-aNAAT próbek z dróg oddechowych oraz LC-aNAAT w kale i LF-LAM w moczu wyniosła 77,8% (95% CrI: 59,9–89,8) i 83,9% (95% CrI: 73,9–90,4). W porównaniu z samym LC-aNAAT w próbkach z dróg oddechowych, badania równoległe miały o 6,9 punktu procentowego (95% CrI: 1,5 do 20,1) wyższą czułość i o –10,1 punktu procentowego (95% CrI: –21,6 do –4,9) niższą swoistość. Pewność dowodów była niska w przypadku swoistości i umiarkowana w przypadku czułości.

Na podstawie sześciu badań (674 uczestników, w tym 286 [42,4%] z gruźlicą) uwzględnionych w metaanalizie dotyczącej CRS, szacowana dokładność diagnostyczna równoczesnego stosowania LC-aNAAT w próbkach z dróg oddechowych oraz LC-aNAAT w próbkach kału i LF-LAM w moczu wykazała łączną czułość wynoszącą 30,1% (95% CrI: 13,2 do 54,9) oraz łączną swoistość wynoszącą 83,3% (95% CrI: 69,6 do 90,2). W porównaniu z samym LC-aNAAT w próbkach z dróg oddechowych, badania równoległe wykazały o 14,9 punktu procentowego (95% CrI: od 0 do 41,1) wyższą czułość oraz o –12,0 punktu procentowego (95% CrI: od –27,0 do –2,6) niższą swoistość. Pewność dowodów była bardzo niska w przypadku czułości i niska w przypadku swoistości

Ocena opłacalności. Oprócz danych ekonomicznych dotyczących równoczesnego stosowania testów u osób żyjących z HIV i dzieci. W ramach wytycznych WHO przeprowadzono analizę opłacalności stosowania testów LC-aNAAT (w tym Xpert Ultra, Truenat i inne testy LC-aNAAT znajdujące się w fazie rozwoju) do wykrywania gruźlicy przy jednoczesnym stosowaniu u dzieci z HIV w dwóch różnych krajach (Malawi i Filipiny). Celem tego badania była ocena opłacalności jednoczesnego stosowania testów LC-aNAAT z próbek z dróg oddechowych i kału oraz testu LF-LAM na moczu do diagnozy gruźlicy i wykrywania oporności na ryfampicynę.

W modelu hipotetycznym, na którym oparto niniejsze badanie, grupa dzieci zakażonych wirusem HIV i wykazujących objawy gruźlicy przechodziła przez proces decyzyjny oparty na analizie. W grupie interwencyjnej

diagnostyka gruźlicy polegała na równoczesnym zastosowaniu metod LC-aNAAT zarówno w próbkach z dróg oddechowych, jak i kału, oraz testu LF-LAM w moczu. W grupie porównawczej stosowano metodę LC-aNAAT wyłącznie w próbkach z dróg oddechowych. Uwzględniono prawdopodobieństwo dostarczenia próbki z dróg oddechowych, a badania przeprowadzono albo jednocześnie z próbek z dróg oddechowych i kału wraz z testem LF-LAM, albo wyłącznie z próbek kału wraz z testem LF-LAM. Zarówno w grupie interwencyjnej, jak i porównawczej, uczestnicy, u których nie zdiagnozowano choroby w ramach strategii diagnostycznej, mieli możliwość poddania się diagnozie klinicznej. Dzieci z potwierdzoną bakteriologicznie gruźlicą zostały poddane testom wrażliwości na leki (DST) w odniesieniu do ryfampicyny i rozpoczęły leczenie gruźlicy wrażliwej na leki lub gruźlicy lekoopornej (DR-TB), w zależności od wyniku testu DST. Wszystkie osoby były obserwowane w czasie, w tym osoby z wynikami diagnostycznymi fałszywie ujemnymi lub fałszywie dodatnimi, aby uwzględnić niepotrzebne leczenie lub dodatkową śmiertelność spowodowaną pominiętymi diagnozami. Wyniki opłacalność równoczesnego stosowania LC-aNAAT z próbek z dróg oddechowych i kału oraz LF-LAM z moczu wśród dzieci z HIV w Malawi i na Filipinach. W Malawi średni koszt wdrożenia testu LC-aNAAT na próbce z dróg oddechowych wyniósł 319 USD, przy odpowiadającym mu średnim wskaźniku DALY wynoszącym 5,08. W przypadku stosowania równoczesnego średni koszt wzrósł do 460 USD, podczas gdy średni wskaźnik DALY spadł do 1,8. Wynikowy wskaźnik ICER na uniknięty DALY wyniósł 43 USD (95% UR: 28–89). Podobnie na Filipinach wdrożenie testu LC-aNAAT wyłącznie na próbce z dróg oddechowych kosztowało 249 USD, przy średnim wskaźniku DALY wynoszącym 5,13, podczas gdy jednoczesne stosowanie obu metod wiązało się ze średnim kosztem 345 USD i średnim wskaźnikiem DALY wynoszącym 1,77. Wskaźnik ICER na uniknięty DALY wyniósł 29 USD (95% UR: 18–63).

Perspektywa interesariuszy. GR oceniła, czy jednoczesne badanie wielu próbek zwiększyłoby skuteczność diagnostyczną (tj. korzyści dla pacjentów i populacyjne w zakresie wykrywania większej liczby osób z gruźlicą). Jedno z pytań klinicznych dotyczyło jednoczesnego stosowania metod LC-aNAAT w badaniach próbek z dróg oddechowych i kału oraz metody LF-LAM w badaniach moczu w diagnostyce gruźlicy u dzieci żyjących z HIV. W zakresie preferencji badanie ankietowe oraz synteza dowodów wysokiej jakości nie dostarczyły danych dotyczących stosowania testu LF-LAM u dzieci żyjących z HIV. Jednak ogólnie rzecz biorąc, jako ważne wyniki testu diagnostycznego pacjenci w środowiskach o wysokim obciążeniu gruźlicą cenią sobie:

- uzyskanie dokładnej diagnozy i zamknięcie procesu diagnostycznego (ostateczne poznanie „co mi dolega”);
- unikanie opóźnień w diagnozie, ponieważ pogłębiają one istniejące trudności finansowe oraz cierpienie emocjonalne i fizyczne, a także sprawiają, że ludzie czują się winni z powodu zarażania innych (zwłaszcza dzieci);
- zmniejszenie kosztów związanych z diagnozą (np. podróży, nieobecności w pracy).
- pacjenci doceniają fakt, że pobieranie próbek kału jest znacznie mniej inwazyjne niż pobieranie płynu żołądkowego.

W krajach objętych badaniem nie stosowano równoczesnego badania próbek. Jednak takie podejście mogłoby poprawić dostęp do opieki poprzez zminimalizowanie konieczności powtórnych wizyt i utraty pacjentów z obserwacji. Wykorzystanie próbek innych niż płwocina może poprawić dostęp do opieki, zwłaszcza w przypadku testu, który można wykonać na wszystkich poziomach systemu opieki zdrowotnej. Wyzwania związane z

uzyskaniem płwociny o wystarczającej jakości i ilości są dobrze udokumentowane i mogą prowadzić do powtarzania badań lub fałszywych wyników.

Akceptowalność. Badanie ankietowe nie dostarczyło danych dotyczących stosowania metody LF-LAM u dzieci żyjących z HIV. GR uważa, że równoczesne badanie próbek jest możliwe i kluczowe jest zmiana algorytmów diagnostycznych oraz zapewniono specjalne szkolenia kadry medycznej. W przypadku małych dzieci kał wydaje się być akceptowalną próbką, zwłaszcza po odpowiednim przeszkoleniu w zakresie jego przetwarzania. Kał od dorosłych jest uważany za trudniejszy zarówno pod względem akceptacji, jak i czasu przetwarzania.

Wykonalność. GR oceniła, że głównym ograniczeniem kwestia jakości próbek kału spowodowanej opóźnieniami między momentem pobrania a momentem przetworzenia w laboratorium. Badania równoległe należy przedstawiać jako bardziej efektywny sposób pracy (tj. badanie dwóch próbek jednocześnie podczas tej samej wizyty, zamiast badania jednej próbki podczas każdej z dwóch oddzielnych wizyt), który pozwala również zwiększyć dostępność i obniżyć koszty dla pacjentów. Według kierownika laboratorium takie ujęcie korzyści, przewyższających dodatkowe obciążenie pracą i potencjalnie prowadzące do zmniejszenia nakładu pracy w dłuższej perspektywie, będzie miało kluczowe znaczenie dla uniknięcia postrzegania badań równoległych jako dodatkowej pracy.

3.5. Dalsze badania diagnostyczne w celu wykrycia dodatkowej oporności na leki po potwierdzeniu gruźlicy

3.5.1. Automatyczne testy NAAT o niskiej złożoności do wykrywania oporności na izoniazyd i leki przeciwgruźlicze drugiej linii

Wśród 105 krajów posiadających reprezentatywne dane dotyczące oporności na fluorochinolony z ostatnich 15 lat odsetek przypadków MDR/RR-TB opornych na dowolny fluorochinolon, dla którego przeprowadzono badania, wyniósł 20,1% (95% CI: 15,5–25,0%). W Polsce te odsetki są niższe, ze względu na niższe występowanie gruźlicy wielolekoopornej. Szybkie i wczesne testy wykrywające oporność na fluorochinolony są kluczowe do określenia kwalifikacji do leczenia MDR/RR-TB za pomocą całkowicie doustnego i krótkich schematów leczenia MDR/RR-TB. Jednak obecnym ograniczeniem testów na oporność na fluorochinolony jest ograniczona dostępność obecnych technologii (które często są dostępne tylko na wyższych poziomach systemu opieki zdrowotnej) oraz słaba wydajność w przypadku próbek o małej zawartości bakterii.

Automatyczne testy NAAT stanowią nową klasę diagnostyki przeznaczonej do stosowania jako test referencyjny w próbkach, które uzyskały wynik pozytywny dla kompleksu *Mtb* (MTBC). Umożliwiają one szybkie przeprowadzenie testu DST w laboratoriach pośrednich i peryferyjnych. Pierwszy produkt tej klasy wykrywa jednocześnie oporność na izoniazyd, fluorochinolony, etionamid i amikacynę. Wyniki są dostępne w ciągu mniej niż 90 minut, co pozwala uzyskać je szybciej niż w przypadku obecnego standardu opieki, który obejmuje testy LPA i fenotypowe testy DST oparte na hodowli.

Dodatkową zaletą testów jest dokładne i szybkie wykrywanie oporności na izoniazyd, co ma znaczenie zarówno w przypadku RR-TB, jak i gruźlicy wrażliwej na ryfampicynę. Ta ostatnia często pozostaje nierozpoznana i przyczynia się do dużego obciążenia populacyjnego. Szacuje się, że na całym świecie gruźlica wrażliwa na ryfampicynę występuje w 13,1% (95% CI: 9,9–16,9%) nowych przypadków i 17,4% (95% CI: 0,5–54,0%) przypadków wcześniej leczonych. W związku z tym test ten może być również stosowany jako test referencyjny uzupełniający istniejące technologie, które badają wyłącznie wrażliwość na ryfampicynę, umożliwiając szybkie i dokładne wykrywanie gruźlicy odpornej na izoniazyd i wrażliwej na ryfampicynę.

Chociaż te nowe technologie doskonale sprawdzają się w wykrywaniu oporności na wybrane leki, konwencjonalne fenotypowe badania wrażliwości oparte na hodowli pozostają ważne dla określenia oporności na inne leki przeciwgruźlicze, w szczególności nowe takie jak bedakilina i linezolid.

Rekomendacja 10

W przypadku osób z potwierdzoną bakteriologicznie gruźlicą płuc można zastosować automatyczne testy NAAT o niskiej złożoności z plwociny w celu wstępnego wykrycia oporności na izoniazyd i fluorochinolony. (Rekomendacja warunkowa, umiarkowana pewność dowodów)

Rekomendacja 11

W przypadku osób z potwierdzoną bakteriologicznie gruźlicą płuc i opornością na ryfampicynę można zastosować automatyczne testy NAAT o niskiej złożoności do badania plwociny w celu wstępnego wykrycia oporności na etionamid, zamiast sekwencjonowania DNA promotora inhA. (Rekomendacja warunkowa, bardzo niski poziom pewności dowodów)

Rekomendacja 12

W przypadku osób z potwierdzoną bakteriologicznie gruźlicą płuc i opornością na ryfampicynę, do wstępnego wykrywania oporności na amikacynę można zastosować automatyczne testy NAAT o niskiej złożoności z plwociny, przed wykonaniem fenotypowego DST opartego na hodowli. (Rekomendacja warunkowa, niski poziom pewności dowodów)

W przypadku tych zaleceń należy wziąć pod uwagę kilka podgrup:

- Rekomendacje opierają się na dowodach dotyczących dokładności diagnostycznej w plwocinie dorosłych z bakteriologicznie potwierdzoną gruźlicą płuc, z opornością na ryfampicynę lub bez niej.
- Rekomendacje zostały ekstrapolowane na młodzież i dzieci na podstawie uogólnienia danych dotyczących osób dorosłych.
- Rekomendacje dotyczą osób żyjących z HIV (badania obejmowały różną proporcję takich osób); dane stratyfikowane według statusu HIV nie były dostępne.
- Rekomendacje zostały ekstrapolowane na osoby z pozapłucną gruźlicą, a badanie próbek innych niż plwocina uznano za właściwe, co ma wpływ na pewność. Panel nie ocenił bezpośrednio dokładności badania próbek innych niż plwocina, w tym u dzieci; jednakże ekstrapolację uznano za właściwą, biorąc pod uwagę, że WHO posiada Rekomendacje dotyczące stosowania podobnych technologii w przypadku próbek innych niż plwocina (np. Xpert MTB/RIF i Xpert Ultra).
- Rekomendacje dotyczące wykrywania oporności na amikacynę i etionamid mają znaczenie wyłącznie dla osób z potwierdzoną bakteriologicznie gruźlicą płuc i opornością na ryfampicynę.

Uzasadnienie rekomendacji

W ramach wytycznych WHO [3] przeprowadzono przegląd systematyczny dotyczącego stosowania automatycznych testów NAAT o niskiej złożoności do wykrywania oporności na izoniazyd i leki przeciwgruźlicze drugiej linii u osób z objawami gruźlicy.

Pytania kliniczne (PICO) zostały opracowane w celu stworzenia podstawy do wyszukiwania, pozyskiwania i analizy dowodów:

- Czy w przypadku osób z objawami gruźlicy płucnej, niezależnie od oporności na ryfampicynę, należy stosować automatyczne testy NAAT o niskiej złożoności do badania płwociny w celu wykrycia oporności na izoniazyd, w porównaniu z fenotypowymi testami DST opartymi na hodowli?
- Czy w przypadku osób z objawami gruźlicy płucnej, niezależnie od oporności na ryfampicynę, należy stosować automatyczne testy NAAT o niskiej złożoności do badania płwociny w celu wykrycia oporności na fluorochinolony, w porównaniu z fenotypowym DST opartym na hodowli? Czy w przypadku osób z objawami gruźlicy płuc i wykrytą opornością na ryfampicynę należy stosować automatyczne testy NAAT o niskiej złożoności do izolatów hodowlanych w celu wykrycia oporności na etionamid, w porównaniu z sekwencjonowaniem genotypowym promotora inhA?
- Czy należy stosować automatyczne testy NAAT o niskiej złożoności do badania płwociny u osób z objawami gruźlicy płuc i wykrytą opornością na ryfampicynę w celu wykrycia oporności na amikacynę, w porównaniu z fenotypowym DST opartym na hodowli?

W bazach danych Ovid Medline (Ovid, od 1946 r. do chwili obecnej) i Embase (Ovid, od 1947 r. do chwili obecnej) przeprowadzono wyszukiwanie badań oceniających testy oparte na kasetach, używając następujących terminów: gruźlica, płuca ORAZ Xpert, GeneXpert, Truenat, kasety, systemy punktowej opieki medycznej, test wrażliwości na leki, oporność na izoniazyd, oporność na fluorochinolony i oporność na leki drugiego rzutu podawane w formie zastrzyków. Przeszukano również serwisy Clinicaltrials.gov i Międzynarodową Platformę Rejestru Badań Klinicznych WHO w celu znalezienia trwających badań. Wyszukiwania przeprowadzono do 6 września 2020 r. bez ograniczeń językowych. W dniu 4 listopada 2020 r. przeprowadzono dodatkowe wyszukiwanie przy użyciu słów kluczowych Zeesan i MeltPro. Skontaktowano się z badaczami z FIND, Globalnego Programu WHO ds. Gruźlicy, producentem i innymi ekspertami w dziedzinie diagnostyki gruźlicy w celu uzyskania informacji na temat trwających i nieopublikowanych badań. Przeanalizowano dane przekazane w odpowiedzi na publiczne zaproszenie WHO.

Oporność na leki porównano z fenotypowym standardem referencyjnym (lub genotypowym standardem referencyjnym dla oporności na etionamid), a także z standardem referencyjnym, który został opracowany poprzez połączenie wyników fenotypowych i genotypowych badań DST w badaniach, w których przeprowadzono oba rodzaje badań.

1: Czy automatyczne testy NAAT o niskiej złożoności powinny być stosowane do badania płwociny u osób z objawami gruźlicy płuc, niezależnie od ryfampicyny, w celu wykrycia oporności na izoniazyd, w porównaniu z fenotypowym DST opartym na hodowli?

Trzy międzynarodowe badania z udziałem 1 605 uczestników dostarczyły danych do oceny wykrywania oporności na izoniazyd. Standardem odniesienia dla każdego z tych badań była fenotypowa DST oparta na hodowli. Każde centrum badawcze w badaniach międzynarodowych zostało przeanalizowane jako oddzielne badanie.

Wyrażono kilka obaw dotyczących pośredniego charakteru badanych populacji. Po pierwsze, mediana częstości występowania oporności na izoniazyd w uwzględnionych badaniach wynosiła 67,2% (zakres od 26,8% [diagnostyka gruźlicy wielolekoopornej w Afryce – DIAMA, Benin] do 93,9% [FIND, Mołdawia]), co jest wartością wyższą niż globalne szacunki dotyczące oporności na izoniazyd. Stąd też możliwość zastosowania w

warunkach z mniejszą częstością występowania oporności na izoniazyd wiąże się z pewną niepewnością. Po drugie, istnieją potencjalne różnice w mutacjach występujących w szczepach opornych wyłącznie na izoniazyd i szczepach wielolekoopornych. Niektóre badania sugerują bowiem, że mutacje występujące w szczepach opornych wyłącznie na izoniazyd są bardziej zróżnicowane niż mutacje występujące w szczepach wielolekoopornych. Po trzecie, chociaż populacja dla tego pytania klinicznego uwzględnia chorych niezależnie od oporności na ryfampicynę, kryteria rekrutacji do badań oznaczały, że większość uczestników włączonych do badań miała RR-TB. W wyniku tych obaw pewność dowodów została obniżona o jeden poziom z powodu pośredniości zarówno w przypadku czułości, jak i swoistości, a jakość (pewność) dowodów została oceniona jako umiarkowana zarówno w przypadku czułości, jak i swoistości. Czułość w tych trzech badaniach wynosiła od 81% do 100%, a swoistość od 87% do 100%.

Wyniki metaanalizy wskazują, że czułość wyniosła 94,2% (95% CI: 89,3–97,0%), a łączna swoistość wynosiła 98,0% (95% CI: 95,2–99,2%).

2. Czy w przypadku osób z objawami gruźlicy płuc należy stosować automatyczne testy NAAT o niskiej złożoności do badania płwociny, niezależnie od oporności na ryfampicynę, w celu wykrycia oporności na fluorochinolony, w porównaniu z fenotypowym badaniem wrażliwości opartym na hodowli?

Trzy międzynarodowe badania z udziałem 1337 uczestników dostarczyły danych do oceny wykrywania oporności na fluorochinolony. Standardem odniesienia dla każdego z tych badań była fenotypowa DST oparta na hodowli. Każde centrum badawcze w badaniach międzynarodowych zostało przeanalizowane jako oddzielne badanie. Szacunki dotyczące swoistości były niespójne i wynosiły 84% (FIND, Bombaj), 91% (FIND, New Delhi) oraz ponad 96% w przypadku innych badań. Nie udało się wyjaśnić heterogeniczności szacunków dotyczących swoistości. W związku z tym pewność dowodów została obniżona o jeden poziom ze względu na niespójność; jakość (pewność) dowodów została oceniona jako wysoka w przypadku czułości i umiarkowana w przypadku swoistości. Czułość w kierunku oporności na fluorochinolony w tych trzech badaniach wynosiła od 83% do 100%, a swoistość od 84% do 100%.

Wyniki metaanalizy wykazały, że czułość wyniosła 93,1% (95% CI: 88,0–96,1%), a łączna swoistość wyniosła 98,3% (95% CI: 94,5–99,5%).

3. Czy w przypadku izolatów hodowlanych u osób z objawami gruźlicy płuc i wykrytą opornością na ryfampicynę należy stosować automatyczne testy NAAT o niskiej złożoności do wykrywania oporności na etionamid, w porównaniu z sekwencjonowaniem genotypowym promotora *inhA*?

W jednym międzynarodowym badaniu z udziałem 434 uczestników uzyskano dane umożliwiające ocenę oporności na etionamid. Standardem odniesienia dla tego badania było sekwencjonowanie DNA promotora *inhA*. Każde centrum badawcze uczestniczące w międzynarodowym badaniu zostało poddane analizie jako odrębne badanie.

Badanie zostało ocenione jako obarczone bardzo poważnym ryzykiem błędu systematycznego w zakresie TESTU referencyjnego, ponieważ nie uwzględniono w nim wszystkich loci (tj. *ethA*, *ethR* i promotora *inhA*) wymaganych do prawidłowej klasyfikacji stanu docelowego. W porównaniu ze standardem odniesienia fenotypowej DST,

łączna czułość była znacznie niższa i wyniosła 51,7% (95% CI: 33,1–69,8%). W rezultacie pewność dowodów została obniżona o dwa poziomy ze względu na ryzyko błędu systematycznego zarówno w przypadku czułości, jak i swoistości. Ponadto 95% CI było szerokie zarówno dla czułości, jak i swoistości, co mogło prowadzić do różnych decyzji w zależności od przyjętych granic ufności. W rezultacie pewność dowodów została obniżona o jeden poziom ze względu na niedokładność zarówno w przypadku czułości, jak i swoistości; jakość (pewność) dowodów została oceniona jako bardzo niska zarówno dla czułości, jak i swoistości. Czułość dla oporności na etionamid w tym badaniu wynosiła od 78% do 100%, a swoistość od 97% do 100%.

Wynik metaanalizy wskazały, że czułość wyniosła 98,0% (95% CI: 74,2–99,9%), a swoistość wyniosła 99,7% (95% CI: 83,5–100,0%).

4. Czy w przypadku osób z objawami gruźlicy płuc i wykrytą opornością na ryfampicynę należy stosować automatyczne testy NAAT o niskiej złożoności do badania płwociny w celu wykrycia oporności na amikacynę, w porównaniu z fenotypowym DST opartym na hodowli?

Jedno wielonarodowe badanie z udziałem 490 uczestników dostarczyło danych do oceny oporności na amikacynę. Standardem odniesienia dla tego badania była fenotypowa DST oparta na hodowli. Każde centrum badawcze w tym wielonarodowym badaniu zostało przeanalizowane jako oddzielne badanie. 95% przedział ufności dla czułości był szeroki, co mogło prowadzić do różnych decyzji dotyczących wyników prawdziwie dodatnich i fałszywie ujemnych, w zależności od przyjętych granic ufności. Ponadto w analizie tej czułości uwzględniono niewielką liczbę uczestników wykazujących oporność na amikacynę. W związku z tym pewność dowodów została obniżona o dwa poziomy ze względu na nieprecyzyjność. Ponadto w analizie tej uwzględniono niewielką liczbę uczestników wykazujących oporność na amikacynę, co miało wpływ na obserwowaną czułość. W związku z tym pewność dowodów została obniżona o dwa poziomy ze względu na nieprecyzyjność; jakość (pewność) dowodów została oceniona jako niska w przypadku czułości i wysoka w przypadku swoistości. Czułość wykrywania oporności na amikacynę w niniejszym badaniu wynosiła od 75% do 95%, a swoistość od 96% do 100%.

Wyniki metaanalizy wykazały, że czułość wyniosła 86,1% (95% CI: 75,0–92,7%), a swoistość wyniosła 98,9% (95% CI: 93,0–99,8%).

Analiza kosztów i opłacalności. W ramach wytycznych WHO [3] przeprowadzono systematyczny przegląd, w celu oceny kosztów, opłacalności i przystępności cenowej automatycznych testów NAAT o niskiej złożoności. się na ocenach ekonomicznych automatycznych testów NAAT o niskiej złożoności. Przeszukano cztery internetowe bazy danych (Embase, Medline, Web of Science i Scopus) w poszukiwaniu nowych badań opublikowanych od 1 stycznia 2010 r. do 17 września 2020 r. Cytaty wszystkich kwalifikujących się artykułów, wytycznych i przeglądów zostały przeanalizowane pod kątem dodatkowych badań. Skontaktowano się również z ekspertami i producentami testów w celu zidentyfikowania wszelkich dodatkowych niepublikowanych badań.

Zidentyfikowano dwa automatyczne testy NAAT o niskiej złożoności: MeltPro MTB/RIF (Xiamen Zeesan Biotech Co Ltd, Chiny) oraz Xpert MTB/XDR (Cepheid, Sunnyvale, USA). W niniejszym przeglądzie uwzględniono wyłącznie dane dotyczące testu Xpert MTB/XDR. Podobnie jak w przypadku testu Xpert MTB/RIF, nowy test XDR może być stosowany do badania zarówno nieprzetworzonej, jak i zagęszczonej płwociny. Nie zidentyfikowano żadnych

opublikowanych badań dostarczających bezpośrednich dowodów na temat kosztów lub opłacalności automatycznych testów NAAT o niskiej złożoności.

Zgodnie z bezpośrednią informacją od producenta testu Xpert MTB/XDR, firmy Cepheid, koszt kasety XDR dla krajów o niskim i średnim dochodzie (LMIC) ma wynieść 19,80 USD. Koszty wysyłki i cła są pokrywane dodatkowo przez zamawiającego, tak jak ma to obecnie miejsce w przypadku kaset Xpert MTB/RIF i Ultra. Jednocześnie test Xpert MTB/XDR nie będzie działał na istniejących modułach sześciokolorowych i będzie wymagał od laboratoriów modernizacji do modułów GeneXpert 10-kolorowych. Dostępne będą różne opcje modernizacji do systemu 10-kolorowego, o różnych cenach w zależności od potrzeb i dostępnych zasobów. Opcje modernizacji obejmują:

- nowy system 10-kolorowy – jest to najdroższa opcja, od 9420 USD za jeden moduł do 72 350 USD za 16 modułów, w tym platformę GeneXpert, komputer i skaner;
- nowy 10-kolorowy instrument satelitarny z GeneXpert podłączony do istniejącego systemu – kosztuje od 6495 USD za jeden moduł do 69 525 USD za 16 modułów; oraz
- przekształcenie istniejącego systemu GeneXpert z sześciokolorowego na 10-kolorowy poprzez wymianę modułów – zestaw modułów 10-kolorowych kosztuje 3860 USD.

Dodatkowe koszty związane z Xpert MTB/XDR obejmują dodatkowe badania lub powtórne badania w przypadku wyników nieokreślonych lub niemożliwych do wykorzystania (nieokreślone, niejednoznaczne lub nieważne). Potencjalne obciążenie kosztowe z tego tytułu będzie prawdopodobnie zróżnicowane, w zależności od odsetka nieokreślonych wyników badań w poszczególnych placówkach i związanych z tym protokołów ponownych badań.

Nie zidentyfikowano żadnych badań, które bezpośrednio oceniałyby opłacalność wkładu Xpert MTB/XDR. Chociaż ekstrapolacja z innych platform i metod testowania w celu oszacowania kosztów może być właściwa, nie zaleca się ekstrapolacji danych dotyczących opłacalności z Xpert MTB/RIF (Ultra) lub innych NAAT ze względu na różnice w dokładności diagnostycznej, koszty związane z leczeniem XDR oraz różne metody testowania i leczenia. Na opłacalność testu Xpert MTB/XDR może wpływać kilka czynników, w tym dokładność diagnostyczna, która może prowadzić do zdiagnozowania większej lub mniejszej liczby osób w porównaniu ze standardową opieką (która z kolei będzie się różnić w zależności od lokalnych standardów opieki). Oprócz dokładności diagnostycznej związanej z samym testem, istotne znaczenie ma algorytm diagnostyczny i umiejscowienie testu Xpert MTB/XDR w tym algorytmie.

Nowy test Xpert MTB/XDR zapewnia wyniki w mniej niż 90 minut. Wprowadzenie tego testu prawdopodobnie skróci czas oczekiwania na wyniki genotypowego testu wrażliwości na leki i może wpłynąć na opłacalność poprzez zwiększenie liczby pacjentów rozpoczynających leczenie, zmniejszenie liczby pacjentów rezygnujących z dalszego leczenia oraz poprawę wskaźników przeżywalności. Koszty związane z leczeniem XDR będą prawdopodobnie istotnym czynnikiem wpływającym na koszty i opłacalność, ponieważ wcześniejsze badania pokazały, że koszty te są wysokie w porównaniu z kosztami diagnostyki i innych metod leczenia. Wraz ze wzrostem liczby osób zakażonych XDR wymagających leczenia, wzrośnie całkowita ilość zasobów potrzebnych do leczenia tych osób.

Żadne opublikowane badania nie dostarczyły bezpośrednich dowodów dotyczących całkowitych wymaganych zasobów. Wymagane zasoby będą obejmowały zakup kardridży (19,80 USD/szt.), modernizację istniejących

platform do modułów 10-kolorowych (modernizacja, która ostatecznie będzie wymagana dla wszystkich platform Xpert: od 3860 USD do >72 350 USD) oraz koszty operacyjne i programowe związane z wdrożeniem nowej diagnostyki. Wraz ze wzrostem liczby zdiagnozowanych osób prawdopodobnie wzrosną również wymagania dotyczące zasobów niezbędnych do leczenia XDR (np. leki, możliwości szpitali i personel). Całkowite koszty będą się różnić w zależności od liczby przeprowadzonych testów i częstości występowania XDR w populacji; ponadto wpływ na budżet będzie zależał od obecnego standardu opieki i związanego z tym wykorzystania zasobów. Różnice w wykorzystaniu zasobów między testem Xpert MTB/XDR a istniejącymi metodami będą się różnić w zależności od warunków, w których stosuje się różne fenotypowe i genotypowe testy DST. Istnieje znaczna zmienność kosztów czasu pracy personelu i kosztów operacyjnych (np. liczba przeprowadzonych testów) w różnych warunkach.

Nie zidentyfikowano żadnych badań dotyczących opłacalności stosowania testu Xpert MTB/XDR dla warunków polskich.

Perspektywa interesariuszy. Poniżej przedstawiono główne wnioski z przeglądu systematycznego i wywiadów w zakresie istnienia niepewności lub zmienności oceny wyników, które w ocenie GR mogą odnosić się do sytuacji w Polsce. Pacjenci cenią sobie:

- uzyskanie trafnej diagnozy i zamknięcie diagnostyczne (ostateczne ustalenie „co mi dolega”);
- uniknięcie opóźnień diagnostycznych, ponieważ pogłębiają one istniejące trudności finansowe oraz cierpienie emocjonalne i fizyczne, a także powodują, że pacjenci czują się winni zarażenia innych (zwłaszcza dzieci);
- zmniejszenie kosztów związanych z diagnozą (np. podróże, nieobecności w pracy) jako ważne wyniki diagnostyki.

Automatyczne testy NAAT o niskiej złożoności, w porównaniu z istniejącymi testami lub mikroskopią plwociny, są doceniane przez kadrę medyczną ze względu na:

- szybkość i dokładność wyników;
- pewności, jaką daje wynik, umożliwiającej rozpoczęcie leczenia i motywującą pacjentów;
- różnorodności rodzajów próbek;
- możliwość wcześniejszego wykrycia oporności na leki lub wykrycia jej w ogóle, w przypadku jak największej liczby leków (zmieniając postrzeganie ryzyka oporności na leki u dzieci przez lekarza) oraz uniknięcie kosztownych badań lub pobyków w szpitalu.

W porównaniu z innymi dostępnymi metodami diagnostycznymi test zapewnia szybszy czas realizacji badań DST pierwszej i drugiej linii. Kadra medyczna cenią sobie szybszy czas realizacji, możliwość przekazania próbek z testu Xpert MTB/RIF do Xpert MTB/XDR oraz jednoczesne uzyskanie informacji na temat wielu leków i wysokiego lub niskiego poziomu oporności, ponieważ umożliwia to szybszą diagnozę i optymalne leczenie pacjentów.

Pracownicy laboratoriów doceniają automatyczne testy NAAT o niskim stopniu złożoności z następujących powodów:

- testy te usprawniają pracę laboratorium w porównaniu z mikroskopią plwociny pod względem łatwości użycia, ergonomii i bezpieczeństwa biologicznego.

- testy te wymagają minimalnych czynności ze strony użytkownika, a platforma GeneXpert jest znanym systemem, który ludzie czują się komfortowo obsługując i interpretując.

Kierownicy laboratoriów doceniają fakt, że monitorowanie pracy laboratoryjnej i szkoleń jest łatwiejsze niż w przypadku badania mikroskopowego płwociny, a stosowanie mało skomplikowanych automatycznych testów NAAT ułatwia utrzymanie personelu, ponieważ zwiększa jego satysfakcję i symbolizuje postęp w dziedzinie gruźlicy.

Wpływ na równość w zakresie zdrowia oraz akceptowalność została oceniona podobnie jak wpływ automatycznych testów NAAT o średniej złożoności.

Wykonalność. Automatyczne testy NAAT o niskiej złożoności mogą zmniejszyć obciążenie pracą w laboratorium, zwalniając czas personelu laboratoryjnego. Jednak na podstawie doświadczeń z Xpert MTB/RIF (Ultra) można stwierdzić, że wprowadzenie nowej klasy technologii prowadzi do zwiększenia obciążenia pracą personelu laboratoryjnego, lecz może być ograniczony poprzez odpowiednią organizację pracy. Automatyczne testy NAAT o niskiej złożoności wymagają krótszego przeszkolenia użytkowników niż inne metody DST (np. LPA i hodowla), dzięki czemu są one łatwiejsze do wdrożenia niż metody wymagające większej liczby czynności ze strony użytkownika i dodatkowego przeszkolenia. Wprowadzeniu nowych metod diagnostycznych muszą towarzyszyć wytyczne i algorytmy, które wspierają lekarzy i laboratoria w komunikacji między sobą; na przykład zasoby te umożliwiają lekarzom i laboratoriom omawianie rozbieżnych wyników oraz interpretowanie wyników laboratoryjnych w kontekście dostępności leków, historii pacjenta i postępów pacjenta w ramach aktualnego schematu leczenia.

Wdrożeniu nowych metod diagnostycznych musi towarzyszyć szkolenie lekarzy, aby pomóc im w interpretacji wyników nowych testów molekularnych i zrozumieniu, jak odnoszą się one do leczenia pacjenta. W przeszłości, wraz z wprowadzeniem testu Xpert MTB/RIF (Ultra), stanowiło to wyzwanie i prowadziło do jego niedostatecznego wykorzystania. Wprowadzenie testu Xpert MTB/RIF (Ultra) doprowadziło również do nadmiernego polegania na wynikach testów NAAT kosztem odpowiedniej obserwacji klinicznej.

Skuteczny system transportu próbek, oparty na zrównoważonych mechanizmach finansowania, ma kluczowe znaczenie dla wykonalności, zwłaszcza jeśli algorytm wymaga pobrania wielu próbek w różnych momentach z różnych punktów czasowych. Kluczowe są odpowiednie umiejętności personelu, standardowe procedury operacyjne i odpowiednia infrastruktura laboratoryjna mają zasadnicze znaczenie dla ograniczenia zanieczyszczenia próbek w ich laboratoriach.

Możliwość wdrożenia automatycznych testów NAAT o niskiej złożoności jest ograniczone, jeśli dochodzi do opóźnień diagnostycznych lub niedostatecznego wykorzystania (lub obu tych czynników), głównie z powodu czynników związanych z organizacją opieki medycznej:

- nieprzestrzeganie algorytmów testowania, późne przeprowadzanie testów na gruźlicę lub gruźlicę wielolekooporną, duże ilości próbek i niedobór personelu, słaba jakość lub opóźnienia w transporcie próbek, słaba jakość lub opóźnienia w przekazywaniu wyników, opóźnienia w planowaniu wizyt kontrolnych i ponownym wzywaniu pacjentów oraz niespójne rejestrowanie wyników;

- nieefektywny lub niejasny przebieg opieki i przepływu pacjentów (np. nieefektywne procesy organizacyjne, słabe powiązania między dostawcami usług oraz niejasne mechanizmy kontrolne lub informacje o tym, gdzie pacjenci powinni się udać).

Wykonalność stosowania automatycznych testów NAAT o niskiej złożoności jest również kwestionowana ze względu na wartość diagnozowania MTB w porównaniu z DR-TB w podstawowej opiece zdrowotnej. Sytuacja ta sprawia, że test NAAT jest rzadziej wykonywany jako test podstawowy.

Kwestie związane z wdrożeniem

Czynniki, które należy wziąć pod uwagę przy wdrażaniu automatycznych testów NAAT o niskiej złożoności do wykrywania oporności na izoniazyd i leki przeciwgruźlicze drugiej linii, są następujące:

- lokalne dane epidemiologiczne dotyczące częstości występowania oporności powinny stanowić podstawę lokalnych algorytmów testowych, natomiast prawdopodobieństwo a priori jest ważne dla klinicznej interpretacji wyników testów;
- szybkie i wczesne badanie w celu wykrycia oporności na fluorochinolony jest niezbędne przed rozpoczęciem leczenia całkowicie doustnym, krótszym schematem MDR/RR-TB (tj. 6–9 miesięcy); może to również stać się istotne (w zależności od kontekstu epidemiologicznego) w przypadku wprowadzenia nowych, krótszych schematów leczenia gruźlicy wrażliwej na leki, które obejmują fluorochinolony;
- Testy te mogą być wykorzystane do potwierdzenia oporności na etionamid, ale nie do wykluczenia oporności, ponieważ mutacje powodujące oporność na etionamid nie ograniczają się do regionu promotora inhA – obejmują one również geny ethA, ethR i inne.
- fenotypowe badania wrażliwości na leki oparte na hodowli mogą być nadal wymagane, szczególnie u osób z wysokim prawdopodobieństwem oporności przed badaniem, gdy automatyczne testy NAAT o niskiej złożoności nie wykrywają oporności na leki; ponadto fenotypowe badania wrażliwości na leki oparte na hodowli:
- nadal ważne jest określenie oporności na inne leki przeciwgruźlicze, zwłaszcza nowe i leki o zmienionym przeznaczeniu, oraz monitorowanie pojawiania się dodatkowej oporności na leki;
- nie ma zastosowania w przypadku etionamidu, ponieważ jest on niewiarygodny i ma słabą powtarzalność;
- w przypadku leków drugiego rzutu podawanych w postaci iniekcyjnej panel ocenił skuteczność wykrywania oporności wyłącznie na amikacynę, ponieważ zarówno kanamycyna, jak i kapreomycyna nie są już zalecane w leczeniu gruźlicy odpornej na leki; oraz
- fenotypowe badania wrażliwości oparte na hodowli mogą być ważne dla potwierdzenia wrażliwości na amikacynę w sytuacjach, w których stosowanie tego leku jest właściwe, aby zrównoważyć ryzyko i korzyści.
- zachęca się do stosowania rozwiązań cyfrowych w celu przekazywania wyników, aby poprawić efektywność świadczenia usług i skrócić czas do rozpoczęcia leczenia.
- Testy o niskim, średnim i wysokim stopniu złożoności wymagają coraz większych kompetencji technicznych (kwalifikacji i umiejętności) oraz czasu pracy personelu, co ma wpływ na planowanie i budżetowanie;
- szkolenie personelu laboratoryjnego i klinicznego zapewni skuteczne świadczenie usług i wpływ kliniczny;

- przy wyborze dostawcy należy wziąć pod uwagę dostępność i terminowość lokalnych usług wsparcia i konserwacji;
- koszt badania różni się w zależności od takich parametrów, jak liczba próbek w partii i czas pracy personelu; dlatego też należy przeprowadzić lokalną kalkulację kosztów;
- akredytacja laboratorium i zgodność z solidnym systemem zarządzania jakością (w tym odpowiednia kontrola jakości) są niezbędne dla utrzymania wysokiej jakości usług i zaufania.

3.5.2. LPA pierwszej linii

W 2008 r. WHO zatwierdziła stosowanie komercyjnych testów LPA do wykrywania MTBC w połączeniu z opornością na ryfampicynę i izoniazyd w próbkach z dodatnim wynikiem badania rozmazu z plwociny (badanie bezpośrednie) oraz w izolatach MTBC (badanie pośrednie). W ramach systematycznego przeglądu przeprowadzonego w tym czasie oceniono dokładność diagnostyczną dwóch dostępnych na rynku testów LPA – INNO-LiPA Rif.TB (Innogenetics, Gandawa, Belgia) oraz GenoType® *MTBDRplus* (wersja 1), zwanego dalej wersją 1 Hain – i przedstawiono dowody uzasadniające zatwierdzenie przez WHO [3]. W przypadku obu testów odnotowano wysoką dokładność w wykrywaniu oporności na ryfampicynę, ale ich dokładność diagnostyczna w przypadku oporności na izoniazyd była niższa, pomimo wysokiej specyficzności. Ponieważ dane były niewystarczające, aby umożliwić stratyfikację według statusu rozmazów. Wytyczne WHO dotyczące stosowania testów LPA ograniczały się do izolatów hodowlanych lub próbek plwociny z dodatnim wynikiem badania mikroskopowego. Od tego czasu opublikowano dalsze dane dotyczące stosowania testów LPA; opracowano nowsze wersje technologii LPA, takie jak Hain GenoType *MTBDRplus* wersja 2, zwana dalej wersją Hain 2; na rynek weszli również inni producenci, w tym firma Nipro (Tokio, Japonia), która opracowała test Genoscholar™ NTM+MDRTB II, zwany dalej testem Nipro.

W 2015 r. organizacja FIND oceniła testy LPA firmy Nipro i Hain w wersji 2 i porównała je z testami Hain w wersji 1. Badanie wykazało równoważność trzech dostępnych na rynku testów LPA w zakresie wykrywania gruźlicy oraz oporności na ryfampicynę i izoniazyd[3].

Tabela 11. Kryteria klasyfikacji testów LPA

Cel	Wykrywanie oporności na leki przeciwgruźlicze pierwszego i/lub drugiego rzutu
Zasada działania	Testy oparte na odwrotnej hybrydyzacji DNA lub sondzie liniowej
Odczynniki	Odczynniki są dostępne w postaci standardowych zestawów i mogą wymagać określonych warunków temperaturowych podczas przechowywania.
Umiejętności	Zaawansowane umiejętności techniczne (tj. może być wymagana obsługa wielu próbek lub odczynników, precyzyjne pipetowanie, przepływy pracy molekularnej)
Pipetowanie	Procedura wymaga wykonania wielu precyzyjnych czynności pipetowania.
Procedura badania	Może wymagać wielu etapów obróbki próbki przed przeniesieniem jej do szczelnego pojemnika w celu przeprowadzenia wieloetapowego badania. Ręczna lub automatyczna ekstrakcja DNA Ręczna lub automatyczna PCR w czasie rzeczywistym Hybrydyzacja odwrotna przy użyciu instrumentów
Rodzaj raportowania wyników testu	Ręczne

Miejsce stosowania

Laboratorium molekularne (wymagana jest specjalna infrastruktura i oddzielne pomieszczenia dla różnych etapów procedury testowej)

Rekomendacja 13

W przypadku osób z dodatnim wynikiem badania rozmazu płwociny lub izolatem MTBC z hodowli, do wstępnego wykrywania oporności na ryfampicynę i izoniazyd można stosować komercyjne molekularne testy LPA, przed wykonaniem fenotypowego testu wrażliwości opartego na hodowli. (Rekomendacja warunkowa, umiarkowana pewność co do dokładności testu)

- Rekomendacje te dotyczą stosowania testów LPA do badania próbek z dodatnim wynikiem badania rozmazu płwociny (badanie bezpośrednie) oraz izolatów MTBC z hodowli (badanie pośrednie) zarówno z próbek płucnych, jak i pozapłucnych.
- LPA nie są zalecane do bezpośredniego badania próbek z ujemnym wynikiem badania rozmazu płwociny.
- Rekomendacje te dotyczą wykrywania MTBC i diagnozowania MDR-TB, ale należy pamiętać, że dokładność wykrywania oporności na ryfampicynę i izoniazyd jest różna, a zatem ogólna dokładność diagnozy MDR-TB jest zmniejszona.
- Rekomendacje te nie eliminują konieczności stosowania konwencjonalnych testów DST opartych na hodowli, które będą niezbędne do określenia oporności na inne środki przeciwgruźlicze i monitorowania pojawiania się dodatkowej oporności na leki.
- Konwencjonalne badania wrażliwości oparte na hodowli dla izoniazidu mogą być nadal stosowane, gdy wynik LPA nie wykrywa oporności na izoniazyd. Jest to szczególnie ważne w przypadku populacji o wysokim prawdopodobieństwie oporności na izoniazyd.
- Rekomendacje te dotyczą stosowania LPA u dzieci w oparciu o uogólnienie danych dotyczących osób dorosłych.

LPA to rodzina testów opartych na paskach DNA, które umożliwiają wykrycie szczepu MTBC i określenie jego profilu oporności na leki poprzez wzór wiązania amplikonów (produktów amplifikacji DNA) z sondami ukierunkowanymi na: określone części genomu MTBC, najczęstsze mutacje związane z opornością na leki pierwszego i drugiego rzutu lub odpowiednią sekwencję DNA typu dzikiego (w celu wykrycia oporności na leki przeciwgruźlicze).

Testy LPA opierają się na technologii odwrotnej hybrydyzacji pasków DNA i obejmują trzy etapy: ekstrakcję DNA z hodowli *M. tuberculosis* lub bezpośrednio z próbek pobranych od pacjentów, a następnie amplifikację wielokrotną PCR i odwrotną hybrydyzację z wizualizacją wiązania amplikonu (lub jego braku) z sondami typu dzikiego i mutacyjnymi.

Chociaż testy LPA są bardziej skomplikowane technicznie niż test Xpert MTB/RIF, umożliwiają one wykrycie oporności na izoniazyd. Platformy testowe zostały zaprojektowane z myślą o laboratoriach referencyjnych, dlatego najlepiej sprawdzają się w krajach o wysokim obciążeniu gruźlicą. Wyniki można uzyskać w ciągu 5 godzin. Niektóre z tych etapów można zautomatyzować, dzięki czemu metoda staje się szybsza i bardziej niezawodna, a ryzyko zanieczyszczenia zmniejsza się.

Testy Hain w wersji 1 i wersji 2 zawierają sondy *rpoB* do wykrywania oporności na ryfampicynę, sondy *katG* do wykrywania mutacji związanych z wysokim poziomem oporności na izoniazyd oraz sondy promotora *inhA* do wykrywania mutacji zwykle związanych z niskim poziomem oporności na izoniazyd. Sondy używane do wykrywania mutacji typu dzikiego i specyficznych są takie same dla obu wersji testu Hain LPA.

Podobnie test Nipro pozwala na identyfikację MTBC oraz oporności na ryfampicynę i izoniazyd. Test Nipro rozróżnia również *M. avium*, *M. intracellulare* i *M. kansasii* od innych prątków niegruźliczych.

Sondy mutacji promotora *rpoB*, *katG* i *inhA* są takie same dla wszystkich trzech testów, z wyjątkiem mutacji *katG* S315N, która jest uwzględniona w teście Nipro, ale nie w testach Hain w wersji 1 lub 2. Istnieją niewielkie różnice w regionach kodonów objętych testem dla typu dzikiego między testami Hain w wersji 1 i 2 a testem Nipro.

Uzasadnienie rekomendacji

W 2015 r. WHO zleciła aktualizację systematycznego przeglądu dokładności komercyjnych testów LPA w wykrywaniu MTBC oraz oporności na ryfampicynę i izoniazyd [3]. Zidentyfikowano łącznie 74 badania, obejmujące 94 unikalne zestawy danych. Spośród tych 94 zestawów danych 83 oceniały wersję 1 testu Hain, pięć oceniało wersję 2 testu Hain, a sześć oceniało test Nipro. Tylko w jednym z badań przeprowadzono bezpośrednie porównanie wszystkich trzech docelowych testów LPA na bezpośrednio badanych próbkach klinicznych i pośrednio badanych izolatach, a dane te zostały uwzględnione jako sześć oddzielnych zestawów danych. W żadnym badaniu nie przeprowadzono testów LPA z próbek i izolatach hodowlanych pochodzących od tych samych pacjentów, co uniemożliwiło bezpośrednie porównania w ramach badania.

LPA porównano z fenotypowym standardem referencyjnym DST opartym na hodowli oraz złożonym standardem referencyjnym, który łączył wyniki sekwencjonowania genetycznego z wynikami fenotypowego DST opartego na hodowli. Fenotypowe DST było głównym standardem referencyjnym stosowanym wobec wszystkich uczestników we wszystkich analizach. Analizy te zostały podzielone na warstwy – po pierwsze według wrażliwości lub oporności na ryfampicynę lub izoniazyd (lub oba te leki), a po drugie według rodzaju testu LPA (test pośredni lub bezpośredni).

Kilka badań przyczyniło się do poprawy czułości (brak wyników prawdziwie dodatnich i fałszywie ujemnych) lub swoistości (brak wyników prawdziwie ujemnych i fałszywie dodatnich), ale nie obu tych parametrów jednocześnie. W przypadku tych badań przeprowadzono oddzielnie jednoczynnikową metaanalizę z efektami losowymi szacunków czułości lub swoistości, aby optymalnie wykorzystać dane. Wyniki analizy jednoczynnikowej (z wykorzystaniem wszystkich badań) porównano z wynikami analizy dwuczynnikowej podzbioru badań, które przyczyniły się do oszacowania zarówno czułości, jak i swoistości.

Kwestie związane z wdrożeniem

Wprowadzenie testów LPA do wykrywania oporności na ryfampicynę i izoniazyd nie eliminuje potrzeby stosowania konwencjonalnych metod hodowli i testów wrażliwości na leki. Hodowla i testy wrażliwości na leki oparte na fenotypowej hodowli odgrywają kluczową rolę w monitorowaniu reakcji pacjentów na leczenie i wykrywaniu dodatkowej oporności na leki drugiej linii.

- Wprowadzanie testów LPA powinno odbywać się stopniowo, począwszy od krajowych lub centralnych laboratoriów referencyjnych lub laboratoriów o sprawdzonej zdolności do przeprowadzania badań

molekularnych. Rozszerzenie zakresu stosowania tych testów można rozważyć w kontekście planów danego kraju dotyczących wzmocnienia laboratoriów, dostępności odpowiedniego personelu w ośrodkach peryferyjnych oraz jakości systemów transportu próbek.

- Należy zapewnić odpowiednią infrastrukturę laboratoryjną i sprzęt, aby zagwarantować spełnienie wymaganych środków ostrożności w zakresie bezpieczeństwa biologicznego i zapobiegania zanieczyszczeniom – przetwarzanie próbek do hodowli i procedury związane z manipulowaniem hodowlami muszą być wykonywane w komorach bezpieczeństwa biologicznego w laboratoriach prątką.
- Laboratoria stosujące LPA wymagają co najmniej trzech oddzielnych pomieszczeń, po jednym dla ekstrakcji DNA, procedur przedamplifikacyjnych oraz procedur amplifikacyjnych i poamplifikacyjnych. Aby uniknąć zanieczyszczenia, dostęp do obiektów molekularnych musi być ograniczony, należy wdrożyć jednokierunkowy przepływ pracy i ustanowić rygorystyczne protokoły czyszczenia.
- Odpowiedni personel laboratoryjny powinien zostać przeszkolony w zakresie wykonywania procedur LPA. Personel powinien być nadzorowany przez pracownika posiadającego odpowiednie przeszkolenie i doświadczenie w zakresie badań molekularnych. Priorytetowo należy potraktować opracowanie programu zewnętrznej oceny jakości laboratoriów stosujących LPA.
- Należy ustanowić mechanizmy szybkiego przekazywania wyników LPA lekarzom, aby zapewnić pacjentom korzyści wynikające z wczesnej diagnozy. Ta sama infrastruktura, która jest wykorzystywana do wykonywania LPA, może być również wykorzystywana do wykonywania LPA drugiej linii.
- LPA są przeznaczone do wykrywania gruźlicy i oporności na ryfampicynę i izoniazyd w bezpośrednich badaniach przetworzonych próbek płwociny oraz w pośrednich badaniach izolatów MTBC z hodowli. Zastosowanie LPA w przypadku innych próbek z dróg oddechowych (np. z płukania oskrzelowo-płucnego lub aspiracji żołądkowej) lub próbek pozapłucnych (np. próbek tkanek, płynu mózgowo-rdzeniowego lub innych płynów ustrojowych) nie zostało odpowiednio ocenione.
- Dostępność leków drugiego rzutu ma kluczowe znaczenie w przypadku wykrycia oporności na ryfampicynę lub izoniazyd lub na oba te leki.
- W przypadku pacjentów z potwierdzoną MDR/RR-TB zaleca się stosowanie LPA drugiej linii w celu wykrycia dodatkowej oporności na środki przeciwgruźlicze drugiej linii.

LPA drugiej linii

Metody genotypowe (molekularne) mają znaczące zalety w zakresie zwiększania skali programowego zarządzania i nadzoru nad DR-TB, oferując szybką diagnostykę, standaryzowane testy, potencjał wysokiej wydajności i mniejsze wymagania dotyczące bezpieczeństwa biologicznego w laboratoriach. Testy molekularne służące do wykrywania lekooporności – na przykład test GenoType *MTBDRsl* (Hain Lifescience, Nehren, Niemcy), zwany dalej *MTBDRsl* (10) – okazały się obiecujące w diagnostyce DR-TB. Testy te są szybkie (można je wykonać w ciągu jednego dnia roboczego) i wykrywają obecność mutacji związanych z lekoopornością. *MTBDRsl* należy do kategorii molekularnych testów genetycznych zwanych testami LPA drugiej linii (SL-LPA). *MTBDRsl* (wersja 1.0) był pierwszym komercyjnym testem SL-LPA służącym do wykrywania oporności na leki przeciwgruźlicze drugiej linii. W 2015 r. producent

opracował i wprowadził na rynek wersję 2.0 testu *MTBDRsl*. Wersja 2.0 wykrywa mutacje związane z opornością na fluorochinolony i leki drugiego rzutu podawane w postaci zastrzyków (SLID) wykryte przez wersję 1.0, a także dodatkowe mutacje. Po ustaleniu diagnozy MDR/RR-TB można zastosować SL-LPA w celu wykrycia dodatkowej oporności na leki drugiego rzutu. Test *MTBDRsl* wykorzystuje sondy do wykrywania mutacji w genach związanych z opornością na fluorochinolony lub SLID (*gyrA* i *rrs* w wersji 1.0 oraz te geny plus *gyrB* i promotor *eis* w wersji 2.0). Obecność mutacji w tych regionach niekoniecznie oznacza oporność na wszystkie leki z danej klasy. Chociaż określone mutacje w tych regionach mogą być związane z różnymi poziomami oporności (tj. różnymi minimalnymi stężeniami hamującymi) na każdy lek z tych klas, zakres oporności krzyżowej nie jest w pełni poznany.

Rekomendacja 14

W przypadku osób z potwierdzonym MDR/RR-TB⁹, SL-LPA¹⁰ może być stosowany jako test wstępny przed wykonaniem fenotypowego testu wrażliwości opartego na hodowli w celu wykrycia oporności na fluorochinolony. (Rekomendacja warunkowa, umiarkowana pewność dowodów)

Rekomendacja 15

W przypadku osób z potwierdzonym MDR/RR-TB, SL-LPA może być stosowane jako test wstępny przed wykonaniem fenotypowego testu wrażliwości opartego na hodowli, w celu wykrycia oporności na SLID. (Rekomendacja warunkowa, niska pewność dowodów)

- Rekomendacje te dotyczą stosowania SL-LPA do badania próbek płwociny (badanie bezpośrednie) i izolatów *M. tuberculosis* hodowanych w kulturze (badanie pośrednie) zarówno z ognisk płucnych, jak i pozapłucnych. Bezpośrednie badanie próbek płwociny pozwala na wcześniejsze rozpoczęcie odpowiedniego leczenia.
- Rekomendacje te dotyczą bezpośredniego badania próbek płwociny z MDR/RR-TB, niezależnie od wyniku badania mikroskopowego, przy czym należy pamiętać, że odsetek wyników nieokreślonych jest wyższy w przypadku badania próbek płwociny z wynikiem ujemnym niż w przypadku próbek płwociny z wynikiem dodatnim.
- Rekomendacje te nie eliminują potrzeby stosowania konwencjonalnych testów fenotypowych DST, które będą konieczne do potwierdzenia oporności na inne leki i monitorowania pojawiania się dodatkowej oporności na leki.
- Konwencjonalne fenotypowe badania wrażliwości na leki mogą być nadal stosowane w ocenie pacjentów z ujemnymi wynikami SL-LPA, szczególnie w populacjach o wysokim prawdopodobieństwie przed badaniem oporności na fluorochinolony lub SLID (lub oba).
- Rekomendacje te dotyczą stosowania SL-LPA u dzieci z potwierdzonym MDR/RR-TB, w oparciu o uogólnienie danych dotyczących osób dorosłych.
- Mutacje powodujące oporność wykryte za pomocą SL-LPA są silnie skorelowane z fenotypową opornością na ofloksacynę i lewofloksacynę.
- Mutacje powodujące oporność wykryte za pomocą SL-LPA są silnie skorelowane z fenotypową opornością na SLID.

⁹ MDR/RR-TB: gruźlica wielolekooporna lub oporna na ryfampicynę

¹⁰ SL-LPA: test sondy liniowej drugiej linii

- Biorąc pod uwagę wysoką specyficzność wykrywania oporności na fluorochinolony i SLID, pozytywne wyniki SL-LPA mogą być wykorzystane do wdrożenia odpowiednich środków ostrożności w zakresie kontroli zakażeń.

SL-LPA opiera się na tej samej zasadzie co LPA pierwszej linii. Procedura testowa może być przeprowadzona bezpośrednio przy użyciu przetworzonej próbki płwociny lub pośrednio przy użyciu DNA wyizolowanego i amplifikowanego z hodowli *M. tuberculosis*. Bezpośrednie badanie obejmuje następujące etapy:

- Dekontaminację i zagęszczanie próbki płwociny poprzez odwirowanie.
- Izolacja i amplifikacja DNA.
- Wykrywanie produktów amplifikacji poprzez odwrotną hybrydyzację.
- Wizualizacja za pomocą reakcji barwnej fosfatazy alkalicznej sprzężonej ze streptawidyną.

Badanie pośrednie obejmuje tylko etapy 2–4. Obserwowane prążki, z których każdy odpowiada sondzie typu dzikiego lub genotypowi oporności, można wykorzystać do określenia profilu wrażliwości na leki analizowanej próbki. Badanie można przeprowadzić i zakończyć w ciągu jednego dnia roboczego. Dalsze szczegóły dotyczące procesu badania i praktyczne wsparcie w zakresie wdrażania można znaleźć w podręczniku operacyjnym WHO. Moduł 3: diagnostyka.

Zastosowano test indeksowy *MTBDRsl* w wersjach 1.0 i 2.0. Te testy SL-LPA wykrywają specyficzne mutacje związane z opornością na klasę fluorochinolonów (w tym ofloksacynę, lewofloksacynę, moksyfloksacynę i gatifloksacynę) oraz SLID (w tym kanamycynę, amikacynę i kapreomycynę) w MTBC. *MTBDRsl* LPA wykrywa mutacje w regionie *gyrA* determinującym oporność na chinolony (kodony 85–97) i *rrs* (kodony 1401, 1402 i 1484), a wersja 2.0 testu dodała wykrywanie mutacji w regionie *gyrB* determinującym oporność na chinolony (kodony 536–541) oraz regionie promotora *eis* (kodony od –10 do –14) (40). Oczekuje się zatem, że wersja 2.0 będzie miała zwiększoną czułość w wykrywaniu oporności na te klasy leków. Wreszcie, podczas gdy wersja 1.0 obejmowała wykrywanie mutacji w *embB*, które mogą kodować oporność na etambutol, w wersji 2.0 zostało to pominięte ze względu na status etambutolu jako leku pierwszego rzutu w leczeniu gruźlicy. W związku z tym w niniejszym przeglądzie nie określono dokładności w zakresie oporności na etambutol.

Uzasadnienie rekomendacji

W ramach tworzenia wytycznych w 2016 przeprowadzono przegląd systematyczny dokładności i zastosowania klinicznego testów wykrywających mutacje związane z opornością na fluorochinolony i SLID (ang. *second-line injectable drugs*, SLIDs: amikacyjna, kanamycyna, kapreomycyna i streptomycyna) u chorych z MDR/RR-TB.

Pytania kliniczne obejmowały:

1. **Czy test *MTBDRsl* powinien być stosowany przy podejmowaniu decyzji klinicznych dotyczących stosowania fluorochinolonów u pacjentów z potwierdzoną MDR/RR-TB (testy bezpośrednie (podzielone według stopnia rozmazów: rozmaz negatywny; skąpy; 1+; ≥2+) oraz pośrednie)?**

2. Czy test MTBDRsl powinien być stosowany przy podejmowaniu decyzji klinicznych dotyczących stosowania SLID u pacjentów z rozpoznaniem MDR/RR-TB (testy bezpośrednie (podzielone według stopnia rozmazów: rozmaz negatywny; skąpy; 1+; ≥2+) oraz pośrednie)?

Skuteczność SL-LPA w badaniach próbek płwociny i izolatów hodowlanych. U pacjentów z MDR/RR-TB pozytywny wynik SL-LPA dla oporności na fluorochinolony (jako klasa) lub oporności na SLID (jako grupa) można leczyć bez obaw. Dokładność diagnostyczna SL-LPA jest podobna, gdy badanie wykonuje się bezpośrednio z próbek płwociny lub pośrednio na izolatach hodowlanych *M. tuberculosis*.

Biorąc pod uwagę pewność pozytywnego wyniku i zdolność testu do dostarczania szybkich wyników, GDG uznało, że SL-LPA można rozważyć jako wstępny test na oporność na fluorochinolony. Jednakże, gdy test wykazuje wynik negatywny, konieczne może być przeprowadzenie fenotypowego badania wrażliwości opartego na hodowli, zwłaszcza w sytuacjach, gdy istnieje wysokie prawdopodobieństwo oporności na fluorochinolony lub SLID (lub oba te środki). Zastosowanie SL-LPA w rutynowej opiece powinno skrócić czas potrzebny do rozpoznania oporności na fluorochinolony i, w stosownych przypadkach, SLID, zwłaszcza gdy jest ono stosowane do bezpośredniego badania próbek płwociny pacjentów z potwierdzoną MDR/RR-TB. Wczesne wykrycie oporności na leki powinno umożliwić wcześniejsze rozpoczęcie odpowiedniej terapii pacjenta i poprawę wyników leczenia. Ogólnie rzecz biorąc, test sprawdza się dobrze w bezpośrednim badaniu próbek płwociny od pacjentów z potwierdzoną MDR/RR-TB, chociaż odsetek wyników nieokreślonych jest wyższy w przypadku badania próbek płwociny z wynikiem ujemnym w rozmazie w porównaniu z próbkami płwociny z wynikiem dodatnim w rozmazie.

W przypadku zastosowania testu MTBDRsl do bezpośredniego badania próbek płwociny z wynikiem ujemnym w badaniu mikroskopowym, pobranych od populacji pacjentów z potwierdzonym DR-TB, nawet 44% wyników może być nieokreślone. Jednakże, gdyby ten sam test zastosować do badania próbek płwociny z wynikiem ujemnym w badaniu mikroskopowym od pacjentów bez potwierdzonej gruźlicy lub gruźlicy lekoopornej (tj. pacjentów podejrzanych o gruźlicę lekooporną), odsetek wyników nieokreślonych dla tego testu byłby znacznie wyższy. Biorąc pod uwagę czułość i swoistość testu w przypadku wykonania SL-LPA bezpośrednio na płwocinie, GR uznała, że SL-LPA można stosować do badania wszystkich próbek płwociny od pacjentów z potwierdzoną MDR/RR-TB, niezależnie od tego, czy wynik badania mikroskopowego jest dodatni, czy ujemny.

Z powodów wymienionych powyżej (niewystarczające dane ze względu na zbyt małą liczbę badań dotyczących wersji 2.0) wyniki dla wersji 2.0 nie zostały tutaj przedstawione. W przypadku MTBDRsl w wersji 2.0 dane były albo zbyt skąpe, albo zbyt niejednorodne, aby można je było połączyć w metaanalizie lub porównać testy pośrednie i bezpośrednie.

W trzech badaniach oceniono wersję 2.0 MTBDRsl u 562 osób, w tym 111 potwierdzonych przypadków gruźlicy odpornej na fluorochinolony, za pomocą testów pośrednich na hodowli *M. tuberculosis* w porównaniu z fenotypowym standardem referencyjnym DST opartym na hodowli. Szacowana czułość wynosiła od 84% do 100%, a swoistość od 99% do 100%.

Kwestie związane z wdrożeniem

SL-LPA powinno być stosowane wyłącznie do badania próbek pobranych od pacjentów z potwierdzonym MDR/RR-TB. Zastosowanie SL-LPA nie eliminuje konieczności wykonywania konwencjonalnych badań

hodowlanych i testów wrażliwości na leki. Pomimo dobrej specyficzności SL-LPA w wykrywaniu oporności na fluorochinolony i SLID, konieczne jest wykonanie hodowli i fenotypowych testów wrażliwości na leki, aby całkowicie wykluczyć oporność na te klasy leków, a także na inne leki drugiej linii. Należy wziąć pod uwagę następujące kwestie związane z wdrożeniem:

- SL-LPA nie są w stanie określić oporności na poszczególne leki z grupy fluorochinolonów. Mutacje powodujące oporność wykryte przez SL-LPA są silnie skorelowane z fenotypową opornością na lewofloksacynę i lewofloksacynę.
- Mutacje w niektórych regionach (np. region promotora *eis*) mogą być odpowiedzialne za powodowanie oporności na jeden lek z danej klasy w większym stopniu niż na inne leki z tej klasy. Na przykład mutacja *eis* C14T jest związana z opornością na kanamycynę w szczepach pochodzących z Europy Wschodniej.
- SL-LPA powinny być stosowane w bezpośrednim badaniu próbek płwociny, niezależnie od tego, czy próbki są ujemne, czy dodatnie w rozmazie.
- SL-LPA są przeznaczone do wykrywania gruźlicy i oporności na fluorochinolony oraz SLID w próbkach płwociny. Inne próbki z dróg oddechowych (np. płyn z płukania oskrzelowo-pęcherzykowego i aspiraty żółądkowe) lub próbki pozapłucne (próbki tkanek, płyn mózgowo-rdzeniowy lub inne płyny ustrojowe) nie zostały odpowiednio ocenione.
- Hodowla i fenotypowe DST odgrywają kluczową rolę w monitorowaniu odpowiedzi pacjenta na leczenie oraz w wykrywaniu dodatkowej oporności na leki drugiej linii podczas leczenia.
- SL-LPA nadają się do stosowania na poziomie centralnego lub krajowego laboratorium referencyjnego; mogą być również stosowane na poziomie regionalnym, jeśli zapewniona jest odpowiednia infrastruktura (wymagane są trzy oddzielne pomieszczenia).
- Wszyscy pacjenci zidentyfikowani za pomocą SL-LPA powinni mieć dostęp do odpowiedniego leczenia i leków pomocniczych.

3.5.3. Testy NAAT o wysokiej złożoności oparte na odwrotnej hybrydyzacji do wykrywania oporności na pyrazynamid

Pyrazynamid jest ważnym antybiotykiem stosowanym w leczeniu zarówno gruźlicy wrażliwej na leki, jak i gruźlicy odpornej na leki, ze względu na jego wyjątkową zdolność do zwalczania przetrwałych prątków oraz synergiczne działanie z innymi antybiotykami. Monooporność na pyrazynamid występuje rzadko, jednak oporność na pyrazynamid jest silnie związana z MDR/RR-TB, przy czym szacuje się, że 30–60% przypadków MDR/RR-TB jest również opornych na pyrazynamid. Dlatego w przypadku osób, u których zdiagnozowano RR-TB, ważne jest wykrycie obecności oporności na pyrazynamid, aby lekarze mogli podjąć świadomą decyzję o włączeniu lub wykluczeniu pyrazynamidu ze schematu leczenia. Do diagnozowania oporności na pyrazynamid w izolatach pacjentów można stosować wysoce złożoną metodę NAAT opartą na hybrydyzacji. Jednak wykonanie tego testu wymaga odpowiedniej infrastruktury i wykwalifikowanego personelu.

Rekomendacja 16

W przypadku osób z potwierdzoną bakteriologicznie gruźlicą można zastosować wysoce złożone testy NAAT oparte na odwrotnej hybrydyzacji w odniesieniu do izolatów hodowlanych Mtb w celu wykrycia oporności na pyrazynamid zamiast fenotypowego DST opartego na hodowli. (Rekomendacja warunkowa, bardzo niski poziom pewności dowodów)

Jeśli chodzi o podgrupy, które należy wziąć pod uwagę w przypadku tej rekomendacji, nie ma potrzeby uwzględniania żadnych szczególnych kwestii (np. dotyczących dzieci, osób żyjących z HIV i osób z gruźlicą pozapłucną), biorąc pod uwagę, że test jest zalecany do stosowania w przypadku izolatów hodowlanych.

Firma Nipro (Osaka, Japonia) opracowała Genoscholar™ PZA-TB, test LPA oparty na technologii odwrotnej hybrydyzacji, służący do wykrywania oporności na pyrazynamid. Test ten jest dostępnym na rynku szybkim testem molekularnym służącym do wykrywania oporności na pyrazynamid. W porównaniu z testami LPA *MTBDRplus* i *MTBDRsl*, test Genoscholar PZA-TB LPA nie zawiera specyficznych sond mutacyjnych, ponieważ mutacje oporności są szeroko rozpowszechnione w całym genie *pncA* i nie ma mutacji dominujących. Zamiast tego test Genoscholar PZA-TB jest ukierunkowany na fragment o długości 700 par zasad (bp) obejmujący cały gen *pncA* i region promotora do nukleotydu -18 dzikiego szczepu referencyjnego H37Rv.

DNA wyekstrahowane z hodowli jest amplifikowane za pomocą starterów metodą PCR. Amplifikowane DNA jest następnie hybrydowane z komplementarnymi sondami oligonukleotydowymi, które są związane z paskiem membrany. Następnie dodaje się streptawidynę znakowaną fosfatazą alkaliczną, aby związać się z wszelkimi hybridami utworzonymi w poprzednim etapie. Następnie dodaje się substrat, a reakcja enzymatyczna powoduje powstanie fioletowych pasm, które są interpretowane wizualnie. Brak wiązania sondy typu dzikiego wskazuje na obecność mutacji. Pierwsza wersja testu zawierała 47 sond, które obejmowały promotor *pncA* i otwartą ramkę odczytu. Druga wersja zawierała 48 sond, z których trzy (*pncA* 16, 17 i 35) reprezentują ciche mutacje znane jako markery genetyczne niezwiązane z opornością na pyrazynamid: Gly60Gly (sonda 16), Ser65Ser (sonda 17) i Thr142Thr (sonda 35).

Uzasadnienie rekomendacji

Test Genoscholar PZA-TB LPA, który jest już dostępny na rynku, mógłby potencjalnie zostać wdrożony do diagnostyki oporności na pyrazynamid w rutynowej opiece zdrowotnej. Jednak opublikowano niewiele danych dotyczących dokładności diagnostycznej tego testu. Niniejszy przegląd systematyczny z metaanalizą miał na celu zebranie wszystkich dostępnych danych w celu zrozumienia dokładności diagnostycznej testu LPA pyrazynamidu w wykrywaniu oporności na pyrazynamid u pacjentów z gruźlicą, aby pomóc decydentom i klinicytom.

Globalny program WHO dotyczący gruźlicy zainicjował aktualizację obecnych wytycznych i zlecił przeprowadzenie systematycznego przeglądu dotyczącego stosowania wysoce złożonych testów NAAT opartych na odwrotnej hybrydyzacji do wykrywania oporności na pyrazynamid u osób z objawami gruźlicy.

Opracowano dwa pytania PICO, które stanowiły podstawę do wyszukiwania, gromadzenia i analizy dowodów:

- Czy w diagnostyce oporności na pyrazynamid u pacjentów z potwierdzoną mikrobiologicznie gruźlicą płuc, niezależnie od oporności na ryfampicynę, należy stosować wysoce złożone testy NAAT oparte na

odwrotnej hybrydyzacji plwociny, w porównaniu z fenotypowymi testami DST opartymi na hodowli lub złożonym standardem referencyjnym?

- Czy należy stosować wysoce złożone testy NAAT oparte na odwrotnej hybrydyzacji izolatów do diagnozowania oporności na pyrazynamid u pacjentów z mikrobiologicznie potwierdzoną gruźlicą płuc, niezależnie od oporności na ryfampicynę, w porównaniu z fenotypowym DST opartym na hodowli?

Przeszukano bazy danych PubMed, Web of Science i Embase bez ograniczeń językowych lub dat. Ponadto zwrócono się do firmy Nipro (Osaka, Japonia) w celu uzyskania niepublikowanych danych.

Mikrobiologiczny standard odniesienia zdefiniowano jako fenotypowe badanie wrażliwości na leki oparte na hodowli, przeprowadzone przy użyciu płynnego testu BD MGIT 960 PZA lub innego akceptowalnego testu fenotypowego, lub jako genotypowe badanie wrażliwości na leki przeprowadzone przy użyciu ukierunkowanego sekwencjonowania genu *pncA* lub sekwencjonowania całego genomu. W przypadku genotypowego testu DST wszystkie próbki z genem *pncA* typu dzikiego zostały zdefiniowane jako wrażliwe, natomiast wszelkie warianty genu *pncA* uznano za odporne, co pośrednio klasyfikowało mutacje „ciche” jako odporne. Natomiast złożony standard referencyjny zdefiniowano poprzez sklasyfikowanie wszystkich próbek z genem *pncA* typu dzikiego, cichymi mutacjami genu *pncA* i mutacjami neutralnymi jako wrażliwe, natomiast wszelkie inne warianty genu *pncA* uznano za odporne.

1. Czy należy stosować wysoce złożone testy NAAT oparte na odwrotnej hybrydyzacji plwociny do diagnozowania oporności na pyrazynamid u pacjentów z potwierdzoną mikrobiologicznie gruźlicą płuc, niezależnie od oporności na ryfampicynę, w porównaniu z fenotypowymi testami DST opartymi na hodowli lub złożonym standardem referencyjnym?

Trzy badania z udziałem łącznie 122 uczestników dostarczyły danych do oceny tych testów NAAT w wykrywaniu oporności na pyrazynamid, w tym dwa badania (101 uczestników) z fenotypowym standardem referencyjnym opartym na hodowli i jedno badanie (21 uczestników) z genotypowym standardem referencyjnym. Liczba badań i uczestników została uznana za niewystarczającą do wyciągnięcia wniosków na temat dokładności diagnostycznej wysoce złożonych testów NAAT opartych na odwrotnej hybrydyzacji plwociny.

2. Czy należy stosować wysoce złożone testy NAAT oparte na odwrotnej hybrydyzacji izolatów do diagnozowania oporności na pyrazynamid u pacjentów z potwierdzoną mikrobiologicznie gruźlicą płuc, niezależnie od oporności na ryfampicynę, w porównaniu z fenotypowym DST opartym na hodowli?

Siedem badań z udziałem łącznie 964 uczestników dostarczyło danych do oceny tych testów NAAT w zakresie wykrywania oporności na pyrazynamid w porównaniu z fenotypowym standardem referencyjnym opartym na hodowli. [3]

Badania te charakteryzowały się tendencyjnością doboru próby, ponieważ wybrano izolaty z szerokim zakresem różnych mutacji *pncA*, a nie reprezentatywną próbę z populacji. W związku z tym dowody zostały obniżone o jeden poziom ze względu na ryzyko tendencyjności. Uwzględnione badania nie odnosiły się bezpośrednio do pytania przeglądu, dlatego dowody zostały obniżone o jeden poziom ze względu na pośredniość. Badanie Burhana i badanie Rienthonga są wartościami odstającymi pod względem czułości w porównaniu z innymi badaniami, dlatego dowody zostały obniżone o jeden poziom ze względu na niespójność. Biorąc pod uwagę wszystkie te

oceny, jakość (pewność) dowodów została oceniona jako bardzo niska w przypadku czułości i niska w przypadku swoistości.

Analiza opłacalności. W ramach wytycznych WHO [3] przeprowadzono przegląd systematyczny, skupiając się na ocenach ekonomicznych wysoce złożonych testów NAAT opartych na metodzie odwrotnej hybrydyzacji. Przeszukano cztery internetowe bazy danych (Embase, Medline, Web of Science i Scopus) w poszukiwaniu nowych badań opublikowanych w okresie od 1 stycznia 2010 r. do 17 września 2020 r. Przeanalizowano cytowania wszystkich kwalifikujących się artykułów, wytycznych i przeglądów w celu znalezienia dodatkowych badań. Skontaktowano się również z ekspertami i producentami testów w celu zidentyfikowania wszelkich dodatkowych niepublikowanych badań.

Nie zidentyfikowano żadnych opublikowanych badań oceniających koszty lub opłacalność przy użyciu dostępnego na rynku testu NAAT opartego na hybrydyzacji o wysokim stopniu złożoności (Genoscholar PZA-TB II, Nipro Japan) w Polsce i na świecie. Dostępne były pośrednie dowody z kilku źródeł. Zidentyfikowano cztery badania dotyczące innych dostępnych na rynku testów LPA (Genotype MTBDRsl i MTBDRplus, Hain Lifescience). Test LPA Genoscholar PZA został opracowany do stosowania z automatycznym urządzeniem MultiBlot firmy Nipro; jednakże niedawne, niepublikowane badanie¹² wykazało, że urządzenie Twincubator firmy Hain Lifescience może być z powodzeniem stosowane z tym testem LPA. Odkrycie to może ułatwić wdrożenie testu LPA Genoscholar PZA w wybranych placówkach, w których sprzęt firmy Hain Lifescience jest już w użyciu. Jak duże są wymagania dotyczące zasobów, w tym odpowiednich nakładów. W opublikowanych badaniach nie znaleziono bezpośrednich dowodów dotyczących całkowitych wymaganych zasobów. Wymagania dotyczące zasobów obejmują zakup zestawów testowych (Genoscholar PZA LPA: 16 USD/zestaw testowy – wyłącznie materiały eksploatacyjne) oraz sprzętu, który jest dostępny za 14 000 USD. Koszty operacyjne są często kilkakrotnie wyższe niż koszty zestawów testowych (i będą się różnić w zależności od placówki), ale zazwyczaj nie są uwzględniane. Firma Nipro ma nadzieję, że dalsze obniżenie kosztów testów będzie możliwe po wprowadzeniu produktu Genoscholar PZA-TB II na rynek globalny. Koszt jednostkowy testów Genotype MTBDRsl i MTBDRplus wynosił od 23,46 do 108,70 USD, przy czym wyższe koszty jednostkowe odnotowano w takich krajach jak Chiny i RPA, głównie z powodu wyższych wynagrodzeń personelu i kosztów operacyjnych. Ekstrapolacje kosztów jednostkowych testów przy użyciu różnych LPA należy przeprowadzać z ostrożnością i nie należy traktować ich jako bezpośrednio przenoszalnych szacunków. Niemniej jednak te pośrednie dane sugerują, że całkowity koszt jednostkowy testu Genoscholar PZA-TB II jest prawdopodobnie kilkakrotnie wyższy niż koszt materiałów eksploatacyjnych zestawu testowego wynoszący 16 USD. Całkowite koszty będą się różnić w zależności od liczby przeprowadzanych testów, liczby osób kwalifikujących się do testów oraz częstości występowania oporności na pyrazynamid w populacji. Wpływ na budżet będzie zależał od aktualnego standardu opieki, ścieżek diagnostycznych i opieki oraz związanego z tym wykorzystania zasobów. 12 Leen Rigouts: Badanie walidacyjne testu Genoscholar PZA LPA w trzech ponadnarodowych laboratoriach referencyjnych ds. gruźlicy. 96

Dostępne są bezpośrednie koszty związane z zestawami testowymi i sprzętem, natomiast nie zbadano kilku istotnych elementów związanych z wykorzystaniem zasobów (np. czasu pracy personelu oraz kosztów ogólnych i operacyjnych związanych z wdrożeniem Genoscholar PZA-TB II). Różnice w wykorzystaniu zasobów między Genoscholar PZA-TB II a istniejącymi metodami będą się różnić w zależności od placówek stosujących różne fenotypowe i genotypowe testy wrażliwości na leki. Ponadto istnieje znaczna zmienność kosztów cza su pracy

personelu i kosztów operacyjnych (np. liczba przeprowadzanych testów) w różnych placówkach. Czy opłacalność interwencji przemawia na korzyść tej interwencji czy też rozwiązania porównawczego? Nie zidentyfikowano żadnych badań dotyczących opłacalności z wykorzystaniem Genoscholar PZA-TB II. Nie zaleca się ekstrapolacji danych dotyczących opłacalności z innych testów LPA ze względu na różnice w dokładności diagnostycznej, częstości występowania oporności oraz kaskadzie opieki w zakresie badań i leczenia.

Perspektywa interesariuszy. W tej sekcji udzielono odpowiedzi na następujące pytania dotyczące poglądów i perspektyw kluczowych informatorów na temat stosowania wysoce złożonych testów NAAT opartych na odwrotnej hybrydyzacji:

W zakresie niepewność lub zmienność co do tego, jak bardzo główni użytkownicy oceniają główne wyniki pacjenci w Polsce w na bazie wywiadów i badań ankietowych:

- uzyskanie dokładnej diagnozy i zamknięcie procesu diagnostycznego (ostateczne poznanie „co mi dolega”);
- unikanie opóźnień diagnostycznych, ponieważ pogłębiają one istniejące trudności finansowe oraz cierpienie emocjonalne i fizyczne, a także sprawiają, że pacjenci czują się winni z powodu zarażenia innych (zwłaszcza dzieci),
- zmniejszenie kosztów związanych z diagnozą (np. podróży, nieobecności w pracy) jako ważne wyniki diagnostyki.

Bardzo złożone testy NAAT oparte na odwrotnej hybrydyzacji spełniają niektóre preferencje i wartości personelu laboratoryjnego oraz klinicystów, ponieważ obecny test:

- zapewnia szybsze wyniki dotyczące oporności na pyrazynamid niż inne dostępne metody (np. testy wrażliwości na leki w hodowli),
- może dostarczyć informacji na temat różnych poziomów stężenia,
- jest ukierunkowany na lek szeroko stosowany w leczeniu gruźlicy pierwszego rzutu.

Wpływ na równość w zakresie zdrowia byłby podobny do wpływu zautomatyzowanych testów NAAT o umiarkowanej złożoności, a ponadto długie opóźnienia diagnostyczne w zakresie gruźlicy na niższych szczeblach oraz zbyt wiele ograniczeń kwalifikacyjnych utrudniają dostęp do szybkich i dokładnych badań oraz leczenia, szczególnie w przypadku grup szczególnie wrażliwych.

Personel i kierownictwo wyraziło obawy dotyczące trwałości finansowania i utrzymania, a podmiotami wdrażającymi oraz strategicznego i sprawiedliwego wykorzystania zasobów, co utrudnia zapewnienie sprawiedliwego dostępu do diagnostyki opartej na kasetach.

Dla pacjentów dostęp do jasnych, zrozumiałych i wiarygodnych informacji na temat dostępnych metod diagnostyki gruźlicy oraz sposobu interpretacji wyników stanowi kluczowy element sprawiedliwości; brak takiego dostępu stanowi istotną barierę dla pacjentów.

Nowe opcje leczenia muszą być dopasowane do nowych metod diagnostycznych: ważne jest, aby poprawić dostęp do leczenia opartego na nowych metodach diagnostycznych oraz poprawić dostęp do diagnostyki dla nowych opcji leczenia.

Akceptowalność. GR uznała, że akceptowalność wysoce złożonego testu NAAT opartego na odwrotnej hybrydyzacji zależy od tego, jak dobrze test działa na różnych próbkach, ponieważ personel laboratoryjny ma wątpliwości co do skuteczności metod LPA w przypadku próbek z ujemnym wynikiem badania mikroskopowego.

Wykonalność. Grupa Robocza uznała, że jeżeli przed wykonaniem testu LPA na pyrazynamid konieczne jest hodowanie próbek, może to osłabić korzyści płynące z krótszego czasu oczekiwania na wynik w porównaniu z fenotypowym testem wrażliwości na pyrazynamid.

3.5.4. Ukierunkowane sekwencjonowanie nowej generacji

Technologia ukierunkowanego NGS łączy amplifikację wybranych genów z technologią NGS w celu wykrycia oporności na wiele leków za pomocą jednego testu. Ponadto, ponieważ ukierunkowane NGS może badać całe geny w celu identyfikacji konkretnych mutacji związanych z opornością, testy oparte na tej technologii mogą być dokładniejsze niż istniejące WRD. Dodatkowo, nowe testy oparte na NGS mogą wykrywać oporność na nowe i ponownie wykorzystywane leki, które nie są obecnie uwzględnione w żadnych innych testach molekularnych. W związku z tym testy oparte na ukierunkowanym NGS oferują ogromny potencjał w zakresie kompleksowego wykrywania oporności dostosowanego do nowoczesnych schematów leczenia.

Rekomendacja 17

W przypadku osób z bakteriologicznie potwierdzoną gruźlicą płuc można zastosować ukierunkowane technologie sekwencjonowania nowej generacji w odniesieniu do próbek z dróg oddechowych w celu zdiagnozowania oporności na ryfampicynę, izoniazyd, fluorochinolony, pyrazynamid i etambutol przed wykonaniem fenotypowego DST opartego na hodowli. (Rekomendacja warunkowa, pewność dowodów umiarkowana [izoniazyd i pyrazynamid] i niska [ryfampicyna, fluorochinolony i etambutol])

Priorytetowo należy traktować osoby z wyższym ryzykiem oporności na leki pierwszego rzutu, w tym osoby, które:

- nadal mają dodatni wynik badania rozmazu lub posiewu po 2 lub więcej miesiącach leczenia lub doświadczają niepowodzenia leczenia;
- były wcześniej leczone z powodu gruźlicy,
- mają kontakt z osobą, o której wiadomo, że jest oporna na leki przeciwgruźlicze; lub
- mieszkają w środowiskach lub należą do podgrup, w których istnieje wysokie prawdopodobieństwo oporności na ryfampicynę, izoniazyd lub fluorochinolony (stosowane w nowych, krótszych schematach leczenia) lub w których występuje wysoka częstość występowania szczepów *M. tuberculosis* zawierających mutacje niewykrywalne za pomocą innych szybkich testów molekularnych.

Rekomendacja to ma charakter warunkowy ze względu na brak danych dotyczących korzyści zdrowotnych, zmienną pewność dowodów dotyczących dokładności diagnostycznej oraz fakt, że dokładność jest nieoptymalna w przypadku niektórych leków. Ponadto, ponieważ jest to nowa technologia, która nie została jeszcze szeroko wdrożona, nadal istnieją ograniczone i zmienne dowody dotyczące kosztów, opłacalności i wykonalności wdrożenia.

Rekomendacja 18

W przypadku osób z potwierdzoną bakteriologicznie gruźlicą płuc oporną na ryfampicynę można zastosować ukierunkowane technologie sekwencjonowania nowej generacji (NGS) w odniesieniu do próbek z dróg oddechowych w celu zdiagnozowania oporności na izoniazyd, fluorochinolony, bedakilinę, linezolid, kłofazyminę, pyrazynamid, etambutol, amikacynę i streptomycynę, przed wykonaniem fenotypowego DST opartego na hodowli. (Rekomendacja warunkowa, pewność dowodów wysoka [izoniazyd, fluorochinolony i pyrazynamid], umiarkowana [etambutol], niska [bedakilina, linezolid, kłofazymina i streptomycyna] i bardzo niska [amikacyna]).

- Pierwszeństwo należy przyznać osobom z grupy podwyższonego ryzyka oporności na leki stosowane w leczeniu RR-TB, w tym osobom, które:
- nadal mają dodatni wynik badania rozmazu lub posiewu po 2 miesiącach lub dłuższym okresie leczenia lub u których wystąpiła niepowodzenie leczenia;
- byli wcześniej leczeni na gruźlicę, w tym nowymi i przekształconymi lekami;
- mają kontakt z osobą, o której wiadomo, że jest oporna na leki przeciwgruźlicze, w tym nowe i leki o zmienionym przeznaczeniu; lub
- mają gruźlicę o rozszerzonej lekooporności (pre-XDR-TB, z opornością na fluorochinolony).

Podobnie jak powyżej, rekomendacja to ma charakter warunkowy ze względu na brak danych dotyczących korzyści zdrowotnych, zmienną pewność dowodów dotyczących dokładności diagnostycznej, fakt, że dokładność jest nieoptymalna w przypadku niektórych leków, oraz ograniczone i zmienne dowody dotyczące kosztów, opłacalności i wykonalności wdrożenia.

Opis testu

Trzy produkty spełniły kryteria włączenia dotyczące wykrywania oporności na co najmniej jeden z ocenianych leków przeciwgruźliczych.

- **Test Deeplex® Myc-TB** (Genoscreen, Francja) to ukierunkowany zestaw oparty na technologii NGS, służący do jednoczesnej identyfikacji gatunków prątków, genotypowania i przewidywania oporności szczepów MTBC na leki, który można stosować bezpośrednio z próbek płwociny. Test opiera się na głębokim sekwencjonowaniu mieszaniny 24-plex amplikonów i jest ukierunkowany na 18 regionów genów MTBC związanych z opornością na leki przeciwgruźlicze (ryfampicyna, izoniazyd, pyrazynamid, etambutol, fluorochinolony, amikacyna, kanamycyna, kapreomycyna, streptomycyna, etionamid, bedakilina, kłofazymina i linezolid). Identyfikację gatunków prątków przeprowadza się poprzez badanie genu *hsp65*; do genotypowania szczepów MTBC wykorzystuje się cel spoligotypowania (locus CRISPR/Direct Repeat) oraz filogenetyczne polimorfizmy pojedynczych nukleotydów (SNP) w celach związanych z opornością na leki. Test przeprowadza się przy użyciu zestawów do przygotowania bibliotek Nextera XT i DNA Flex na platformach sekwencjonowania iSeq 100, MiniSeq, MiSeq i NextSeq (Illumina). Rozwiązanie obejmuje zautomatyzowany proces analizy danych sekwencjonowania w bezpiecznej aplikacji internetowej ze zintegrowanymi bazami danych do interpretacji wyników.

- **Test AmPORE-TB®** (Oxford Nanopore Diagnostics, Wielka Brytania) – wcześniej określany jako Nano-TB) – to ukierunkowany zestaw oparty na technologii NGS, służący do jednoczesnej identyfikacji gatunków prątków oraz wykrywania wariantów genetycznych MTBC związanych z opornością na środki przeciwdrobnoustrojowe w DNA wyekstrahowanym z próbek płwociny.¹³ Test opiera się na sekwencjonowaniu mieszaniny 27 amplikonów: 24 celów oporności na leki, celu genotypowania, celu identyfikacji prątków niegruźliczych (NTM) (hsp65) oraz kontroli wewnętrznej. 24 cele oporności na leki to regiony genów MTBC związane z opornością na różne leki przeciwgruźlicze (ryfampicyna, izoniazyd, pyrazynamid, etambutol, fluorochinolony, amikacyna, kanamycyna, kapreomycyna, streptomycyna, etionamid, bedakilina, klofazymina, linezolid i delamanid). Identyfikację gatunków prątków przeprowadza się poprzez badanie genu hsp65; do genotypowania szczepów MTBC wykorzystuje się cel spoligotypowania (locus CRISPR/Direct Repeat). Test przeprowadza się przy użyciu zestawu OND AmPORE-TB (OND-TBDR001-XX) i komórek przepływowych (OND-FLO-MIN001-XX) w systemie sekwencjonowania diagnostycznego GridION (OND). Oprogramowanie sterujące sekwencjonowaniem w urządzeniu może automatycznie uruchamiać i raportować wyniki dla zainstalowanych procedur analitycznych. AmPORE-TB zawiera oprogramowanie analityczne preinstalowane na urządzeniu, które przetwarza odczyty generowane przez oprogramowanie sterujące sekwencjonowaniem i tworzy łatwy do interpretacji raport, a wszystko to odbywa się lokalnie na urządzeniu.
- **Test TBseq®** (Hangzhou ShengTing Medical Technology Co., Chiny) to zestaw oparty na ukierunkowanym NGS, który służy do jednoczesnej identyfikacji gatunków prątków i przewidywania lekooporności szczepów MTBC; można go stosować bezpośrednio do próbek klinicznych, takich jak płwocina i płyn z płukania oskrzelowo-pęcherzykowego. Test opiera się na głębokim sekwencjonowaniu mieszaniny amplifikacyjnej i jest ukierunkowany na 21 genów MTBC związanych z opornością na leki przeciwgruźlicze (ryfampicyna, izoniazyd, pyrazynamid, etambutol, fluorochinolony, amikacyna, kanamycyna, kapreomycyna, streptomycyna, kwas paraaminosalicyłowy, cykloseryna, etionamid lub protionamid, bedakilina, klofazymina i linezolid). Identyfikacja gatunków prątków odbywa się poprzez ukierunkowanie na regiony genów 16S i hsp65. Test przeprowadza się przy użyciu zestawu Universal Gene Sequencing Kit (ShengTing) w celu wygenerowania bibliotek, które są sekwencjonowane na platformie MinION lub GridION (Oxford Nanopore Technologies). Rozwiązanie obejmuje oprogramowanie do automatycznej analizy (Nano TNGS V1.0) służące do przetwarzania danych sekwencjonowania oraz bezpieczną aplikację internetową (TBseq® Web App) ze zintegrowanymi bazami danych do interpretacji wyników.

Uzasadnienie rekomendacji

W celu stworzenia podstawy do wyszukiwania, gromadzenia i analizy dowodów opracowano dwa pytania dotyczące zdrowia, wykorzystując podejście PICO.

Przeprowadzono szeroko zakrojone poszukiwania w celu znalezienia, oceny i syntezy dowodów dotyczących korzyści zdrowotnych i dokładności testów diagnostycznych ukierunkowanego NGS w porównaniu z fenotypowymi testami wrażliwości na leki u pacjentów z potwierdzoną bakteriologicznie gruźlicą lub z potwierdzoną bakteriologicznie gruźlicą płuc oporną na ryfampicynę. Przeprowadzono kompleksowe przeszukiwanie trzech baz danych (Medline, Ovid Embase i Scopus) w celu znalezienia odpowiednich cytatów. Nie

zastosowano żadnych ograniczeń dotyczących daty, a wyszukiwanie przeprowadzono po raz pierwszy 7 września 2022 r. i powtórzono 17 stycznia 2023 r. Ponadto WHO ogłosiła publiczne zaproszenie do zgłaszania danych i skontaktowała się z uznanymi ekspertami w tej dziedzinie, aby zapytać, czy posiadają lub znają niepublikowane dane, które mogłyby być przydatne.

Nie znaleziono danych dotyczących wpływu ukierunkowanego NGS na zdrowie pacjentów. W przypadku analizy dokładności diagnostycznej, ponieważ w literaturze dostępnych było niewiele danych, po konsultacji z autorami uwzględniono wszystkie dane znalezione w literaturze. Przeprowadzono analizy cząstkowe w celu oceny dokładności testów diagnostycznych u osób żyjących z HIV oraz wyników pólnościowych (uzyskanych na podstawie progów cyklu) z testów Xpert MTB/RIF[®] lub Xpert Ultra[®], gdzie „bardzo niskie” lub „niskie” stężenia *M. tuberculosis* porównano ze stężeniami „średnimi” lub „wysokimi”. Kategorie pólnościowe „bardzo niskie” lub „niskie” odpowiadają stanom choroby o niewielkiej liczbie prątków, takim jak te często obserwowane w gruźlicy dziecięcej.

Uwzględniono dane pochodzące zarówno z opublikowanych, jak i nieopublikowanych prospektywnych, obserwacyjnych badań klinicznych dotyczących dokładności diagnostycznej ukierunkowanej platformy NGS. Wszystkie badania musiały zawierać dane porównawcze dotyczące fenotypowej DST jako punkt odniesienia; w przypadku ryfampicyny, etambutolu i pyrazynamidu badania musiały również zawierać WGS, aby umożliwić wygenerowanie złożonego punktu odniesienia. We wszystkich badaniach wymagano wyników dotyczących oporności na ryfampicynę oraz wyników pólnościowych uzyskanych za pomocą testu Xpert MTB/RIF[®] lub Xpert Ultra[®].

1. Czy ukierunkowane NGS jako badanie wstępne powinno być stosowane do diagnozowania lekooporności u pacjentów z bakteriologicznie potwierdzoną gruźlicą płuc?

Dostępne dane uwzględnione w ostatecznej analizie zbiorczej różniły się w zależności od leku, od 12 badań z udziałem 1440 uczestników dotyczących wrażliwości na izoniazyd do trzech badań z udziałem 269 uczestników dotyczących swoistości pyrazynamidu. Zbiorcze szacunki zostały określone przy użyciu wielowymiarowego modelu efektów mieszanych. Wszystkie leki zostały obniżone o jeden poziom ze względu na pośredniość czułości i swoistości, ponieważ wszystkie badania były wzbogacone o oporność na ryfampicynę, co budziło obawy dotyczące ich zastosowania. Ponadto w przypadku ryfampicyny, lewofloksacyny i pyrazynamidu specyficzność została obniżona o kolejny poziom ze względu na nieprecyzyjność; jednak w przypadku etambutolu została ona obniżona ze względu na ryzyko błędu systematycznego, ponieważ do badań indeksowych i referencyjnych użyto różnych próbek. Ogólna pewność dowodów dotyczących dokładności testów wahała się od umiarkowanej do bardzo niskiej.

Określono, że test jest dokładny dla wszystkich leków objętych oceną, z łączną czułością wynoszącą co najmniej 95% dla izoniazidu, moksyflokscyny i etambutolu, ponad 93% dla ryfampicyny i lewofloksacyny oraz 88% dla pyrazynamidu. Łączna swoistość wynosiła co najmniej 96% dla wszystkich leków.

Standardem odniesienia była fenotypowa DST oparta na hodowli dla izoniazidu, lewofloksacyny i moksyflokscyny oraz połączenie fenotypowej DST i WGS dla ryfampicyny, pyrazynamidu i etambutolu. Odsetek testów z nieokreślonymi wynikami wahał się od 9% (lewofloksacyna i moksyflokscyna) do 18% (pyrazynamid),

przy czym wyższe wskaźniki nieokreśloności występowały w próbkach o niższym obciążeniu bakteryjnym (kategoria półilościowa niska lub bardzo niska).

Tabela 12. Dokładność i pewność dowodów uzyskanych dzięki ukierunkowanemu NGS w wykrywaniu oporności na leki przeciwgruźlicze wśród potwierdzonych bakteriologicznie przypadków gruźlicy płuc

Lek	Standard referencyjny	Dokładność % (95% CI)	Badania (osoby)	Wiarygodność dowodów
Ryfampicyna	Fenotypowe DST+WGS	Se: 93,1 (87,0–99,2)	9 (1436)	Umiarkowane
	Fenotypowy DST+WGS	Sp: 96,2 (88,6–100)	7 (271)	Niski
Izoniazyd	Fenotypowe DST	Se: 95,8 (92,8–98,7)	12 (1440)	Umiarkowany
	Fenotypowe DST	Sp: 97,0 (95,1–98,9)	12 (517)	Umiarkowany
Lewofloksacyna	Fenotypowe DST	Se: 94,2 (88,4–99,9)	6 (654)	Niski
	Fenotypowa DST	Sp: 96,2 (93,4–98,9)	7 (913)	Umiarkowany
Moksyfloksacyna	Fenotypowe DST	Se: 95,6 (92,4–98,7)	6 (652)	Umiarkowana
	Fenotypowe DST	Sp: 96,3 (93,2–99,5)	8 (921)	Umiarkowany
Pyrazynamid	Fenotypowe DST+WGS	Se: 88,4 (85,2–91,7)	3 (346)	Umiarkowany
	Fenotypowe DST+WGS	Sp: 98,5 (97,1–100)	3 (269)	Umiarkowany
Etambutol	Fenotypowe DST+WGS	Se: 95,8 (94,0–97,6)	4 (432)	Niski
	Fenotypowy DST+WGS	Sp: 99,3 (98,2–100)	4 (268)	Niski

CI: przedział ufności; DST: badanie wrażliwości na leki; NGS: sekwencjonowanie nowej generacji; Se: czułość; Sp: swoistość; TB: gruźlica; WGS: sekwencjonowanie całego genomu.

Nie było danych dotyczących wpływu ukierunkowanego NGS na wyniki leczenia pacjentów, takie jak czas do rozpoczęcia leczenia lub wynik leczenia.

2. Czy ukierunkowane NGS powinno być stosowane do diagnozowania lekooporności u pacjentów z potwierdzoną bakteriologicznie gruźlicą płuc oporną na ryfampicynę?

Dostępne dowody różniły się w zależności od leku, od 12 badań z udziałem 1440 uczestników dotyczących wrażliwości na izoniazyd do trzech badań z udziałem 31 uczestników dotyczących wrażliwości na bedakilinę (Tabela 13). Łączne szacunki zostały określone przy użyciu wielowymiarowego modelu z efektami mieszanymi.

W przypadku niektórych leków ogólna pewność była wysoka. Lewofloksacyna została obniżona o jeden poziom ze względu na niespójność. Bedaquilina i linezolid zostały obniżone o dwa poziomy ze względu na nieprecyzyjność czułości, ponieważ liczba próbek opornych była poniżej ustalonego progu, a przedziały ufności były szerokie. Klofazymina również została obniżona o dwa poziomy, jeden za niespójność (ponieważ dwa badania były wartościami odstającymi), a drugi za nieprecyzyjność (ponieważ przedziały ufności były szerokie). Amikacyna

została obniżona o jeden poziom za czułość i swoistość, ponieważ w przypadku dużej części próbek zastosowano stężenia krytyczne wykraczające poza zalecane przez WHO. Czuość dla amikacyny została dodatkowo obniżona o dwa kolejne poziomy, jeden za niespójność, a drugi za nieprecyzyjność. Etambutol został obniżony o jeden poziom za ryzyko błędu systematycznego, ponieważ do testów indeksowych i referencyjnych użyto różnych próbek. Specyficzność streptomycyny została obniżona o dwa poziomy, jeden za niespójność, a drugi za nieprecyzyjność. Ogólna pewność dowodów dotyczących dokładności testów wahała się od wysokiej do bardzo niskiej.

Wyniki testu u osób z RR-TB uznano za dokładne w przypadku izoniazydu, lewofloksacyny, moksyflokscyny, etambutolu i streptomycyny (łączna czułość $\geq 95\%$) oraz za akceptowalne w przypadku pyrazynamidu (90%), bedakiliny (68%), linezolidu (69%), klofazyminy (70%) i amikacyny (87%). Łączna swoistość wynosiła 95% lub więcej dla wszystkich leków z wyjątkiem streptomycyny (75%). Standardem odniesienia była fenotypowa DST oparta na hodowli dla wszystkich leków z wyjątkiem etambutolu i pyrazynamidu, gdzie zastosowano połączenie fenotypowej DST i WGS. Odsetek testów z nieokreślonymi wynikami wahał się od 9% (lewofloksacyna i moksyflokscyna) do 21% (etambutol); odsetek nieokreślonych wyników był wyższy w próbkach o niższym obciążeniu bakteryjnym (kategoria pólnościowa niska lub bardzo niska).

Tabela 13. Dokładność i pewność dowodów uzyskanych dzięki ukierunkowanemu NGS w wykrywaniu oporności na leki przeciwgruźlicze wśród potwierdzonych bakteriologicznie przypadków gruźlicy płuc odpornej na ryfampicynę

Lek	Standard odniesienia	Dokładność % (95% CI)	Badania (liczebność)	Pewność dowodów
Izoniazyd	Fenotypowe DST	Se: 96,5 (93,8–99,2)	12 (1440)	Wysoka
	Fenotypowe DST	Sp: 95,8 (91,8–99,8)	12 (517)	Wysoki
Lewofloksacyna	Fenotypowe DST	Se: 95,8 (90,4–100)	6 (654)	Umiarkowany
	Fenotypowa DST	Sp: 96,0 (93,1–98,9)	7 (913)	Wysoki
Moksyflokscyna	Fenotypowe DST	Se: 96,5 (93,6–99,5)	6 (652)	Wysoka
	Fenotypowa DST	Sp: 95,2 (91,0–99,4)	8 (921)	Wysoki
Pyrazynamid	Fenotypowe DST+WGS	Se: 90,0 (86,8–93,2)	3 (346)	Wysoki
	Fenotypowe DST+WGS	Sp: 98,6 (96,8–100)	3 (269)	Wysoka
Bedaquiline	Fenotypowe DST	Se: 67,9 (42,6–93,2)	3 (31)	Niski
	Fenotypowy DST	Sp: 97,0 (94,3–99,7)	4 (519)	Wysoki
Linezolid	Fenotypowe DST	Se: 68,9 (38,7–99,1)	4 (31)	Niski
	Fenotypowa DST	Sp: 99,8 (99,6–100)	6 (1093)	Wysoki
Klofazymina	Fenotypowe DST	Se: 70,4 (34,6–100)	4 (36)	Niski
	Fenotypowe DST	Sp: 96,3 (93,2–99,3)	6 (789)	Wysoki
Amikacyna	Fenotypowe DST	Se: 87,4 (74,5–100)	5 (115)	Bardzo niski
	Fenotypowe DST	Sp: 99,0 (98,4–99,6)	8 (1003)	Umiarkowany
Etambutol	Fenotypowe DST+WGS	Se: 96,7 (95,0–98,4)	4 (431)	Umiarkowany
	Fenotypowe DST+WGS	Sp: 98,4 (96,1–100)	4 (123)	Umiarkowany

Lek	Standard odniesienia	Dokładność % (95% CI)	Badania (liczebność)	Pewność dowodów
Streptomycyna	Fenotypowe DST	Se: 98,1 (96,1–100)	5 (493)	Wysoka
	Fenotypowa DST	Sp: 75,0 (59,5–90,5)	5 (250)	Niski

CI: przedział ufności; DST: badanie wrażliwości na leki; NGS: sekwencjonowanie nowej generacji; Se: czułość; Sp: swoistość; TB: gruźlica; WGS: sekwencjonowanie całego genomu.

Nie było danych dotyczących wpływu ukierunkowanego NGS na wyniki leczenia pacjentów, takie jak czas do rozpoczęcia leczenia lub wynik leczenia.

Ocena kosztów i opłacalności. W ramach wytycznego WHO [3] dotyczące NGS zostały ocenione w ramach systematyczny przegląd opublikowanej literatury oraz ogólną analizę opłacalności opartą na modelu, zleconą przez WHO.

W ramach systematycznego przeglądu kosztów i opłacalności stosowania ukierunkowanego NGS lub WGS do diagnozowania DR-TB przeszukano trzy bazy danych: PubMed, Embase i Scopus. Wyszukiwanie przeprowadzono 30 października 2022 r. i nie nałożono żadnych ograniczeń czasowych. Wszystkie dane dotyczące kosztów zostały przeliczone na dolary amerykańskie z 2021 r. Wyniki zostały podsumowane w sposób opisowy, biorąc pod uwagę znaczny stopień heterogeniczności metodologii badań i wyników. Spośród badań uwzględnionych w systematycznym przeglądzie trzy dotyczyły wyłącznie ukierunkowanego NGS, trzy dotyczyły ukierunkowanego NGS i WGS, a cztery dotyczyły wyłącznie WGS. W przypadku ukierunkowanego NGS opartego na jednym badaniu (n=1) koszt jednej próbki wynosił od 69,64 USD dla Illumina MiSeq na 24 próbkach do 73,47 USD dla Nanopore MinION na 12 próbkach; jednakże kalkulacja kosztów ograniczała się tylko do niektórych elementów i nie obejmowała kosztów zasobów ludzkich ani kosztów ogólnych. W przypadku WGS (n=5) koszt jednej próbki wahał się od 63,00 USD w przypadku Nanopore MinION do 277,00 USD w przypadku Illumina MiSeq; biorąc pod uwagę, że w badaniach wykorzystano niespójną liczbę kosztów składowych, porównania były trudne. Na podstawie przeglądu najbardziej znaczącym składnikiem kosztów był etap sekwencjonowania, a największymi kosztami były odczynniki i materiały eksploatacyjne, w tym te niezbędne do sekwencjonowania, przetwarzania próbek i ukierunkowanych etapów NGS przygotowania biblioteki. Autorzy badania zidentyfikowali cztery główne czynniki wpływające na koszty: wykorzystanie różnych sekwenatorów, nieefektywność w początkowych przebiegach próbek oraz ekonomia skali poprzez przetwarzanie partii lub przetwarzanie krzyżowe.

Dane dotyczące kosztów pochodzące z przeglądu systematycznego były ograniczone, dlatego też przeprowadzono empiryczną kalkulację kosztów jednostkowych w porozumieniu z producentami i organizacją FIND. W momencie wykonywania tej pracy dostępne były jedynie ceny produktu Deeplex Myc-TB, które wykorzystano do oszacowania kosztów dla całej klasy. Koszty jednostkowe obejmowały materiały eksploatacyjne, sprzęt, personel i koszty ogólne (jeśli były dostępne); ponadto koszty uwzględniały ukierunkowane testy NGS dla wszystkich leków. Na podstawie analizy empirycznej oszacowano, że koszt ukierunkowanego testu NGS wynosi:

- 134–257 USD w Republice Południowej Afryki;
- 120–198 USD w Gruzji; oraz

- 121–175 USD w Indiach.

Koszty te zależą od liczby pacjentów, partii i wynegocjowanego kosztu zestawu NGS.

Perspektywa interesariuszy. Zlecono przeprowadzenie szybkiego przeglądu w celu zidentyfikowania i syntezy dowodów jakościowych dotyczących stosowania ukierunkowanego NGS do wykrywania lekooporności gruźlicy; w szczególności celem było zbadanie kwestii związanych z wdrażaniem, dotyczących akceptowalności, wykonalności oraz wartości, preferencji i sprawiedliwości. W ramach przeglądu przeszukano bazę Medline bez ograniczeń dotyczących roku lub języka. Wyszukiwanie przeprowadzono 19 sierpnia 2022 r., a następnie powtórzono 10 października 2022 r., aby uwzględnić badania związane z WGS dotyczące wykrywania lekooporności prątków gruźlicy. W przeglądzie nie zidentyfikowano żadnych badań kwalifikujących się do analizy i syntezy. Biorąc pod uwagę brak bezpośrednich dowodów, zwrócono uwagę na opublikowaną w 2022 r. syntezę dowodów jakościowych Cochrane, w której zbadano perspektywy odbiorców i dostawców w zakresie szybkich testów molekularnych na gruźlicę i lekooporność. Badanie to dostarcza istotnych (choć pośrednich) dowodów na ten temat. GR ocenia, osoby chore na gruźlicę cenią sobie uzyskanie ostatecznej diagnozy opartej na dokładnych wynikach, uniknięcie opóźnień diagnostycznych i utrzymanie niskich kosztów związanych z diagnostyką, podczas gdy świadczeniodawcy cenią sobie dokładność i wynikające z niej zaufanie do wyników NAAT o niskiej złożoności, krótki czas oczekiwania na wyniki oraz niskie koszty dla osób ubiegających się o diagnozę.

Akceptowalność. Wyrażono jednolicie pozytywne opinie na temat akceptowalności i potencjalnej użyteczności technologii ukierunkowanego NGS. Ukierunkowane NGS uznano za znaczący postęp w molekularnej diagnostyce MDR-TB.

- głównymi powodami wysokiego poziomu akceptowalności były kompleksowość (diagnostyka oporności na więcej leków oraz na najnowsze i leki o zmienionym przeznaczeniu), wygoda stosowania próbki płwociny (w porównaniu z próbkami z hodowli) oraz szybkość (szybkie wyniki w porównaniu z czasem trwania badań fenotypowych; 3–5 dni w porównaniu z 4–6 tygodniami).
- pojawiło się również przekonanie, że istnieje dobra okazja, aby skorzystać z użyteczności ukierunkowanej technologii NGS, oznacza to, że technologia ta pojawia się w odpowiednim momencie, biorąc pod uwagę, że oporność na nowsze leki przeciwgruźlicze prawdopodobnie wzrośnie wraz z rutynowym stosowaniem tych leków.

Wykonalność. Chociaż zdolności i potencjalna użyteczność technologii ukierunkowanego NGS spotkały się z dużym uznaniem, podczas testowania próbek przy użyciu platform ukierunkowanego NGS zidentyfikowano kilka wyzwań, które mogą obecnie ograniczać możliwość rutynowego stosowania tej technologii. Ogólnie panowało przekonanie, że technologia ukierunkowanego NGS wymaga dalszego rozwoju, zanim będzie można uznać ją za w pełni gotową do użytku operacyjnego.

Zidentyfikowano następujące wyzwania związane z wykonalnością:

- wysoka złożoność techniczna testu: technologia ukierunkowanego NGS była postrzegana jako test molekularny o wysokim stopniu złożoności, stanowiący wyzwanie techniczne. Na przykład przygotowanie próbki do sekwencjonowania wymaga wielu etapów, które wymagają dbałości o szczegóły i

precyzji, pozostawiając niewiele miejsca na błędy. Przygotowanie biblioteki jest szczególnie skomplikowane w przypadku platformy Deeplex, chociaż zarówno platforma Deeplex, jak i Nanopore są dość złożone. W przypadku obu platform uważano, że istnieje zbyt mało możliwości wczesnego rozpoznania i korekty błędów, co zwiększa ryzyko niepowodzenia testów.

- Specjalistyczna infrastruktura laboratoryjna i wymagania kadrowe: Ponieważ ukierunkowane NGS jest platformą testową opartą na molekularnej technologii, wymaga wysoce specjalistycznej infrastruktury laboratoryjnej (np. wielu pomieszczeń, aby zapobiec zanieczyszczeniu amplikonów, oraz specjalistycznych urządzeń do przechowywania w niskiej temperaturze). Ponadto do przeprowadzenia testów potrzebni są wysoce wyspecjalizowani naukowcy zajmujący się medyczną diagnostyką molekularną. W krajach o niskim i średnim dochodzie taka specjalistyczna infrastruktura laboratoryjna i personel mogą być dostępne tylko w laboratoriach scentralizowanych (tj. nie w laboratoriach regionalnych).
- specjalne wymagania dotyczące przeprowadzania testów: Oprócz wysoce wyspecjalizowanej infrastruktury laboratoryjnej i personelu, technologia testowania wymaga również nieprzerwanego dostaw energii elektrycznej, szybkiego łącza internetowego, komputerów o dużej mocy obliczeniowej, czystej wody i kontroli temperatury – wymagania, które mogą stanowić wyzwanie w niektórych krajach o niskim i średnim dochodzie.
- wymagania dotyczące zarządzania danymi i ich przechowywania - pojawiły się obawy, że wymagania dotyczące analizy i przechowywania danych nie zostały w pełni opracowane, w tym systemy tworzenia kopii zapasowych danych, własność danych i bezpieczeństwo danych. Kolejną kwestią, którą należy rozważyć, jest sposób połączenia ukierunkowanego NGS i rutynowych systemów informacji laboratoryjnej, informatycznych (LIS laboratory information system),
- konieczna jest ciągła aktualizacja katalogu mutacji WHO: Uzgodniono, że przydatność technologii ukierunkowanego NGS zależy od wsparcia informacyjnego zapewnianego przez katalog mutacji WHO, który umożliwia miarodajną interpretację danych dotyczących oporności; w związku z tym istnieje potrzeba ciągłej aktualizacji katalogu WHO.

Wysoki poziom złożoności technicznej etapów przygotowania próbek (głównie etapu przygotowania biblioteki) uznano za kluczowe wyzwanie dla platformy Deeplex, a potrzeba ulepszenia analizy komputerowej i pojemności pamięci stanowiła wyzwanie dla platformy Oxford Nanopore, chociaż obie wymagały wysokiego poziomu precyzji i dbałości o szczegóły. Istnieje również potrzeba włączenia etapów wczesnego rozpoznawania błędów.

Umieszczenie scentralizowane lub zdecentralizowane może mieć wpływ na równy dostęp. Biorąc pod uwagę zaawansowaną infrastrukturę laboratoryjną, wyspecjalizowane zasoby ludzkie i złożoność techniczną wymaganą do ukierunkowanego NGS, technologia ta może być odpowiednia tylko do umieszczenia w scentralizowanych laboratoriach referencyjnych. Może to mieć wpływ na równy dostęp, jeśli oznacza to mniejszy dostęp dla niektórych regionów kraju, w których brakuje laboratoriów referencyjnych. Może to również mieć wpływ na koszty (np. koszty transportu płwociny), prawdopodobieństwo utraty próbek i czas oczekiwania na wyniki.

Przystępność cenowa i opłacalność są głównymi kwestiami budzącymi obawy. Istniały poważne obawy dotyczące kosztów finansowych docelowej technologii NGS i jej przystępności cenowej dla krajów o niskim i

średnim dochodzie. Uczestnicy byli zaniepokojeni kosztami sprzętu i bieżących dostaw specjalistycznych materiałów (zwłaszcza odczynników), a także kosztami utrzymania sprzętu. Zauważyli, że kalkulacje kosztów powinny być kompleksowe i obejmować koszty specjalnych materiałów eksploatacyjnych, dodatkowych ogólnych materiałów eksploatacyjnych laboratoryjnych oraz dodatkowych potrzeb infrastrukturalnych (np. dodatkowej przestrzeni, kontroli temperatury i łączności internetowej). Wyrażono obawy, że kalkulacje opłacalności powinny być kompleksowe i obejmować ocenę wpływu stosowania ukierunkowanych testów NGS na poprawę wyników leczenia gruźlicy.

Kwestie związane z wdrożeniem

Chociaż dostępne dowody przemawiają za stosowaniem ukierunkowanego NGS do wykrywania lekooporności po rozpoznaniu gruźlicy, w celu ukierunkowania decyzji klinicznych dotyczących leczenia DR-TB, podczas wdrażania tych testów należy wziąć pod uwagę następujące czynniki:

- Przed wdrożeniem tych testów diagnostycznych wymagane jest uzyskanie zgody krajowych organów regulacyjnych lub innych właściwych organów.
- W obecnej formie ukierunkowane NGS jest testem o wysokim stopniu złożoności, który najlepiej nadaje się do scentralizowanych laboratoriów wyposażonych w specjalistyczne umiejętności i infrastrukturę.
- Ukierunkowane testy NGS nie zastępują istniejących testów szybkich, które są bardziej dostępne i łatwiejsze do wykonania w celu wykrycia oporności na ryfampicynę, izoniazyd i fluorochinolony. Jednakże, jeśli ukierunkowane testy NGS mogą być wykonywane szybko, można je uznać za alternatywną opcję początkową dla populacji priorytetowych. Największe korzyści z tych testów odnoszą osoby, które wymagają szybkich i kompleksowych testów DST, ale mają ograniczony dostęp do fenotypowych testów DST.
- Pierwszeństwo należy nadać próbkom o wysokim obciążeniu bakteryjnym, określonym na podstawie wstępnych testów bakteriologicznych (np. półilościowa ocena wysokiego/średniego obciążenia lub ocena dodatniego wyniku rozmazu). W sytuacjach, gdy obciążenie bakteryjne jest niskie (np. półilościowa ocena niska/bardzo niska/śladowa lub wynik negatywny w rozmazie),
- Rekomendacje nadal obowiązują, chociaż prawdopodobieństwo uzyskania wyników nieokreślonych jest większe; dlatego też w przypadku próbek o niskim obciążeniu bakteryjnym prawdopodobnie nadal konieczne będzie wykonanie fenotypowego DST.
- Podobnie rekomendacje mają zastosowanie do dzieci, młodzieży i osób żyjących z HIV, ponieważ w tych populacjach częściej występują próbki o niskim obciążeniu bakteryjnym.
- Rekomendacja opiera się na danych uzyskanych z próbek płwociny i płynu z płukania oskrzelowo-pęcherzykowego (BAL) i można je ekstrapolować na inne próbki z dolnych dróg oddechowych (np. aspiraty z tchawicy). Jednakże konieczne są dalsze badania w celu oceny zastosowania tych testów w przypadku alternatywnych rodzajów próbek do diagnozowania gruźlicy płuc u dzieci (np. próbek z nosogardła i kału) oraz diagnozowania gruźlicy pozapłucnej.
- Ponieważ wrażliwość na bedakilinę, linezolid i klofazyminę jest nieoptymalna, przy interpretacji wyników ukierunkowanego NGS dla tych leków należy wziąć pod uwagę prawdopodobieństwo a priori. W

przypadku próbek, które uzyskały wynik wrażliwości (przy użyciu fenotypowego DST opartego na hodowli), uzasadnione byłoby przeprowadzenie dalszych badań, zwłaszcza gdy ryzyko oporności jest wysokie. Ponieważ specyficzność jest wysoka, wynik wskazujący na oporność może posłużyć jako wskazówka do wyboru terapii, zwłaszcza wśród osób zagrożonych opornością. W przypadku pretomanidu podstawa oporności nie została w pełni wyjaśniona, dlatego w przypadku tego leku również wymagane jest badanie DST oparte na hodowli.

Monitorowanie

- Należy ujednoczyć nomenklaturę stosowaną do raportowania wyników dla różnych technologii ukierunkowanego NGS, aby umożliwić ich integrację z systemami danych zdrowotnych.
- Zapewnienie oddzielnego rejestrowania prawdziwych niepowodzeń i niesklasyfikowanych mutacji oraz monitorowanie trendów w czasie jako istotny element raportowania wyników.
- Regularne monitorowanie danych dotyczących wydajności, w tym ogólnych wskaźników oporności, wskaźników oporności na określone leki lub cele oraz czasu realizacji (zarówno całkowitego, jak i w laboratorium).
- Wprowadzić środki monitorowania jakości, takie jak śledzenie wskaźników nieokreślonych, sekwencjonowania oraz udział w zewnętrznych programach zapewnienia jakości.
- Ustanowienie zewnętrznego programu zapewnienia jakości sekwencjonowania, obejmującego wszystkie istotne cele.
- Zintegrować wygenerowane dane sekwencjonowania z istniejącymi systemami nadzoru w celu skutecznego monitorowania częstości występowania i trendów w zakresie lekooporności. Udostępniać dane w celu aktualizacji katalogu mutacji WHO.
- Zbierać dane dotyczące kosztów, aby odpowiedzieć na ważne pytania, takie jak koszty związane z wprowadzeniem i rozszerzeniem ukierunkowanego NGS w różnych środowiskach, kompromisy między czasem realizacji a przetwarzaniem partii oraz optymalna równowaga w różnych środowiskach.
- Ocena wpływu testów na funkcjonowanie programu i koszty, w tym liczbę testów dla poszczególnych chorób, czas realizacji, koszty, współdzielenie zasobów i wymagania dotyczące zasobów.
- Ocena wpływu czasu rozpoczęcia lub modyfikacji leczenia, wyników leczenia i ogólnej opłacalności wdrożenia ukierunkowanego NGS.

3.6. Rekomendacje dotyczące diagnostyki latentnego zakażenia gruźlicą

3.6.1. Testy skórne oparte na antygenie *Mycobacterium tuberculosis* w diagnostyce zakażenia gruźlicą

Testy skórne oparte na antygenach *Mycobacterium tuberculosis* w diagnostyce zakażenia gruźlicą Od 2011 roku Światowa Organizacja Zdrowia (WHO) wydaje zalecenia dotyczące stosowania testów IGRA w diagnostyce zakażenia gruźlicą. W 2018 r. WHO zaktualizowała zalecenia, określając, że do wykrywania zakażenia gruźlicą w krajach o niskim i średnim dochodzie można stosować test TST lub testy IGRA (lub oba). TST jest powszechnie stosowanym testem przyłożkowym, polegającym na śródskórnym wstrzyknięciu oczyszczonego pochodnego białka (PPD), surowej mieszaniny różnych antygenów prątków, która stymuluje reakcję nadwrażliwości typu opóźnionego i powoduje stwardnienie w miejscu wstrzyknięcia w ciągu 48–72 godzin. Test ten charakteryzuje się stosunkowo niską specyficznością u osób, które niedawno przeszły szczepienie bacille Calmette-Guérin (BCG), oraz niską czułością u osób z obniżoną odpornością (np. osób żyjących z HIV [PLHIV]); w związku z tym wartości graniczne interpretacji wyników muszą być dostosowane do tych populacji. Po wykonaniu testu TST konieczna jest wizyta kontrolna w przychodni, a wyniki muszą zostać odczytane w sugerowanym przedziale czasowym, aby były ważne. Natomiast testy IGRA to testy *in vitro*, które mierzą uwalnianie interferonu gamma (IFN- γ) przez komórki T po stymulacji przez antygeny wczesnego sekretorycznego antygeny docelowego 6 kDa (ESAT-6) i białka filtratu hodowli 10 (CFP-10), które są specyficzne dla Mtb. W przeciwieństwie do TST, na wyniki testów IGRA nie ma wpływu wcześniejsze szczepienie BCG ani zakażenie prątkami niegruźliczymi (NTM), z nielicznymi wyjątkami. Jednak platformy IGRA są droższe w eksploatacji i wymagają specjalistycznego zaplecza oraz przeszkolonego personelu; w związku z tym TST jest najczęściej stosowanym testem na zakażenie gruźlicą na całym świecie. Niedawny globalny niedobór PPD podkreślił potrzebę znalezienia alternatyw. Oprócz testów skórnych na gruźlicę i testów uwalniania interferonu gamma, wcześniej zalecanych przez WHO, opracowano ostatnio testy skórne oparte na antygenach Mtb (TBST), wykorzystujące te same antygeny ESAT-6 i CFP-10; testy te łączą prostszą platformę testów skórnych ze specyficznością testów IGRA. Do testów TBST należą: Cy-Tb (Serum Institute of India, Indie), Diaskintest® (Generium, Federacja Rosyjska) oraz C-TST (wcześniej znany jako test ESAT6-CFP10, Anhui Zhifei Longcom, Chiny). Wszystkie testy wykorzystują śródskórne wstrzyknięcie antygeny i, podobnie jak TST, odczytuje się je po 48–72 godzinach jako stwardnienie w milimetrach, stosując metodę sugerowaną przez Mantoux. Pojawiające się dowody sugerują, że w porównaniu z testami IGRA testy te mogą mieć podobną specyficzność i zapewniać bardziej wiarygodne wyniki u dzieci i młodzieży, a także u osób żyjących z HIV niż test TST. Jednak dowody te nie zostały poddane systematycznemu przeglądowi. W 2021 r. WHO zleciła przegląd systematyczny opublikowanych i nieopublikowanych danych dotyczących tej nowej klasy testów na zakażenie gruźlicą, która nie była wcześniej przedmiotem przeglądu WHO. Przegląd systematyczny obejmował dane dotyczące dokładności diagnostycznej, bezpieczeństwa, aspektów ekonomicznych oraz dowodów jakościowych dotyczących wykonalności, akceptowalności, sprawiedliwości, wartości i preferencji użytkowników końcowych. W ramach przeglądów systematycznych ocenianych w wytycznych WHO [3] dotyczące technologie:

- Cy-Tb (Serum Institute of India, Indie);
- Diaskintest (Generium, Federacja Rosyjska);
- C-TST (wcześniej znany jako test ESAT6-CFP10, Anhui Zhifei Longcom, Chiny).

Obecne zalecenia opierają się na ocenie danych dotyczących testów uwzględnionych w niniejszej analizie. Wyników nie można ekstrapolować na testy innych marek; ponadto wszelkie nowe technologie z tej samej klasy będą wymagały szczegółowej oceny w ramach kolejnych aktualizacji.

Rekomendacja 19

Do wykrywania zakażenia gruźlicą można stosować testy skórne oparte na antygenach *Mycobacterium tuberculosis*. *(Rekomendacja warunkowa, bardzo niski poziom pewności dowodów)*

Uzasadnienie rekomendacji

W ramach wytycznych WHO [3] przeprowadzono przegląd systematyczny opublikowanych i nieopublikowanych danych dotyczących nowej klasy testów na zakażenie gruźlicą, które nie były wcześniej analizowane przez WHO. PICO: Czy testy skórne oparte na antygenach Mtb (TBST) na zakażenie gruźlicą powinny być stosowane jako alternatywa dla testu tuberkulinowego (TST) lub zatwierdzonych przez WHO testów uwalniania interferonu- γ (IGRA) w celu identyfikacji osób najbardziej narażonych na progresję zakażenia gruźlicą do choroby gruźliczej?

Zidentyfikowano badania dotyczące dokładności diagnostycznej, w których oceniano czułość, swoistość i zgodność (konkordancję) testów TBST. Nie zidentyfikowano badań dotyczących skuteczności TPT w oparciu o wyniki testów diagnostycznych, wartości predykcyjnej dla progresji choroby gruźliczej ani odsetka osób, które rozpoczęły TPT. Oceniane dowody dotyczące testów Cy-Tb i C-TST obejmowały zalecaną przez producenta twardość co najmniej 5 mm jako wartość graniczną. Zgodnie z instrukcją stosowania testu Diaskintest obecność twardości o dowolnej wielkości uznaje się za wynik pozytywny. Jednak oceniane dowody obejmowały również niektóre badania dotyczące testu Diaskintest, w których jako wartość graniczną przyjęto twardość co najmniej 5 mm, określone w stosownych przypadkach.

Łączna czułość w stosunku do mikrobiologicznego standardu referencyjnego dla gruźlicy w sześciu badaniach porównawczych wyniosła 78,1% (95% przedział ufności [CI]: 70,6–84,1%). Dowody uznano za wysoce pewne i nie obniżono ich oceny. Starshinova 2018 i Starshinova 2019 oceniły wyniki testu Diaskintest przy wartości granicznej stwardnienia wynoszącej co najmniej 5 mm; pozostałe badania były badaniami bezpośrednimi oceniającymi test Cy-Tb. Oceniane dowody dotyczące testu Cy-Tb obejmowały wartość graniczną wynoszącą co najmniej 5 mm we wszystkich badaniach. W czterech badaniach wartość graniczna TST wynosiła 5 mm dla osób zakażonych wirusem HIV i 15 mm dla osób niezakażonych wirusem HIV. W niniejszej analizie uwzględniono wyłącznie badania dotyczące testów Diaskintest i Cy-Tb.

Łączna czułość w 17 badaniach wśród uczestników, którzy byli HIV-ujemni lub mieli nieznaną status HIV, wyniosła 76,0% (95% CI: 70,3–80,8%). Szacunki czułości były niższe w badaniach, w których zastosowano test Diaskintest (dowolny rozmiar stwardnienia). Przyczyna tego zjawiska nie jest jasna; może to wynikać z różnic w populacjach badanych lub jakości badań. W rezultacie pewność dowodów została obniżona o jeden poziom ze względu na

niespójność i o kolejny poziom ze względu na nieprecyzyjność. W związku z tym pewność dowodów uznano za bardzo niską. Pomimo rekomendacje producenta, aby jako wynik pozytywny traktować stwardnienie o dowolnej wielkości, czułość w badaniach wykorzystujących wynik testu Diaskintest wynoszący co najmniej 5 mm jako wartość graniczną była bardziej zbliżona do innych testów tej klasy, które wykorzystują wartość graniczną co najmniej 5 mm.

Ryzyko błędu systematycznego uznano za poważne ze względu na fakt, że osoba interpretująca wyniki testów indeksowych posiadała wiedzę na temat standardów referencyjnych. W większości badań dotyczących testu Diaskintest wybór uczestników i standardu referencyjnego był niejasny, dlatego pewność dowodów została obniżona o jeden poziom ze względu na ryzyko błędu systematycznego. Czułość wynosiła od 55% do 100% (przyczyny tej heterogeniczności nie są znane); w związku z tym pewność dowodów została obniżona o jeden poziom ze względu na niespójność. W związku z tym ogólna pewność dowodów została uznana za niską.

W analizie uwzględniono wyłącznie badania dotyczące testów Diaskintest i Cy-Tb. Łączna czułość wśród osób żyjących z HIV w pięciu badaniach wyniosła 63,5% (95% CI: 52,6–73,2%). Ryzyko błędu systematycznego uznano za poważne w przypadku badań dotyczących testu Diaskintest, ponieważ osoba interpretująca wyniki testów indeksowych posiadała wiedzę na temat standardów referencyjnych; w związku z tym pewność dowodów została obniżona o jeden poziom ze względu na ryzyko błędu systematycznego. Szacunki czułości były najniższe (39,8%) w jednym badaniu, w którym zastosowano test Diaskintest (dowolny rozmiar stwardnienia). Przyczyna niskiej czułości testu Diaskintest (dowolny rozmiar stwardnienia) nie jest jasna, a pewność dowodów została obniżona o jeden poziom ze względu na niespójność. Pewność została również obniżona o jeden poziom ze względu na nieprecyzyjność. W rezultacie pewność dowodów uznano za bardzo niską.

Czułość testów TBST u dzieci i młodzieży i łączna czułość w czterech badaniach dla tej klasy testów wyniosła 97,1% (95% CI: 81,9–99,6%). Liczba uczestników uwzględnionych w tej analizie była niewielka – tylko 34 uczestników w czterech badaniach; w związku z tym badania zostały obniżone o dwa poziomy ze względu na niedokładność. W związku z tym pewność dowodów uznano za niską. Do analizy tej dostępne były wyłącznie badania dotyczące testu Diaskintest. Aggerbeck oszacował czułość testu Cy-Tb u 12 dzieci i młodzieży z gruźlicą, z których tylko u dwóch potwierdzono bakteriologicznie chorobę i nie uwzględniono ich na wykresie.

Łącznie 14 badań z udziałem 3792 uczestników dostarczyło danych do oceny swoistości testów TBST (w tym różnicy w swoistości w porównaniu z testem referencyjnym); trzy z tych badań objęły 1104 dzieci i nastolatków, a trzy kolejne 587 osób zaszczepionych BCG. Swoistość mierzono u osób zdrowych z ujemnymi wynikami testu IGRA. Różnica w swoistości została wykorzystana jako alternatywna miara swoistości i została obliczona jako różnica w odsetku wyników negatywnych między testami TBST a testami TST lub IGRA w populacjach zdrowych.

Specyficzność oceniona w pięciu badaniach była wysoka dla wszystkich trzech testów z klasy TBST. W przypadku Diaskintest wyniosła ona 99,1% (95% CI: 93,6–99,9%) w porównaniu z QFT; dla Cy-Tb wyniosła 98,0% (95% CI: 92,6–99,5%) w porównaniu z QFT; a dla C-TST wyniosła 95,5% (95% CI: 92,6–97,3%) w porównaniu z T-Spot. Podczas spotkania GDG uczestnicy zauważyli, że – biorąc pod uwagę całość dowodów (w tym badania o bardzo niskiej jakości) – ogólna pewność dowodów dotyczących skuteczności testów pod względem swoistości była bardzo niska.

Specyficzność u dzieci i młodzieży (2 badania, 176 pacjentów), określona u osób z ujemnymi wynikami IGRA, była wysoka. W przypadku testu Diaskintest z wartością graniczną co najmniej 5 mm wynosiła ona 99,1% (95% CI: 94,9–99,9%) w porównaniu z testem QFT, a w przypadku testu Cy-Tb wynosiła 91,4% (95% CI: 82,2–96,1%) w porównaniu z testem QFT. Swoistość u osób zaszczepionych BCG (3 badania, 292 pacjentów), określona u osób zdrowych z ujemnymi wynikami IGRA, była również wysoka i wynosiła 97–99% (w zależności od testu), a łączna wartość wynosiła 99,0% (95% CI: 96,9–99,7%).

Ogólna łączna różnica w swoistości w 14 badaniach porównujących TBST i TST wyniosła 33,5% (95% CI: 18,2–48,8%) na korzyść TBST. W badaniach dotyczących testów Diaskintest i C-TST przeprowadzonych w środowiskach o wysokiej częstotliwości występowania gruźlicy różnice w swoistości były większe dla testów Diaskintest w porównaniu z testami TST (przy czym oba testy miały wartość graniczną co najmniej 5 mm) (57,3%, 95% CI: 40,2–74,3%) niż w przypadku Diaskintest (dowolna wielkość stwardnienia) w porównaniu z TST z wartością graniczną co najmniej 5 mm (29,9%, 95% CI: –3,66–63,5%). W przypadku C-TST w porównaniu z TST z wartością graniczną co najmniej 5 mm różnica w specyficzności wyniosła 39,9% (95% CI: 34,0–45,8%). Natomiast w badaniach dotyczących Cy-Tb przeprowadzonych w środowiskach o niskiej częstotliwości występowania gruźlicy różnica w swoistości między Cy-Tb a TST była mniej wyraźna, ale większa w przypadku TST z wartością graniczną co najmniej 15 mm (4,61%, 95% CI: –28,6–37,9%) niż w przypadku TST z wartością graniczną 5 lub 15 mm (–2,0%, 95% CI: –12,3–8,3%). Różnicę tę można wyjaśnić poziomem BCG w populacjach badanych lub zastosowanymi wartościami granicznymi.

Ryzyko błędu systematycznego uznano za poważne, ponieważ przydział testów do poszczególnych grup nie był losowy w żadnym z badań, z wyjątkiem badań dotyczących Cy-Tb. W większości badań dotyczących testu Diaskintest wybór uczestników i diagnoza standardu odniesienia były niejasne. Pewność dowodów została zatem obniżona o jeden poziom ze względu na ryzyko błędu systematycznego. Różnica w specyficzności wynosiła od –2% do 72%, dlatego pewność dowodów została obniżona o kolejny poziom ze względu na niespójność. W rezultacie pewność dowodów dotyczących różnicy w specyficzności między testami TBST a testem TST była niska.

W dwóch badaniach (trzy analizy) przedstawiono dane dotyczące różnicy w swoistości w populacjach zaszczepionych BCG, która była jeszcze wyższa dla tej populacji niż w populacjach, w których tylko niektóre osoby otrzymały szczepionkę BCG; łączna różnica w swoistości wyniosła 67,4% (95% CI: 24,0–110,7%). Ogólne ryzyko błędu systematycznego uznano za poważne, ponieważ przydział testów do poszczególnych grup nie był ślepy; w związku z tym pewność dowodów została obniżona o jeden poziom ze względu na ryzyko błędu systematycznego. Przedział ufności był szeroki, wynosząc od 24,0% do 110,7%, więc pewność dowodów została obniżona o kolejny poziom ze względu na nieprecyzyjność. W rezultacie pewność dowodów dotyczących różnicy w swoistości między testami TBST a testami TST w populacjach zaszczepionych BCG była niska.

Łączna różnica w swoistości w sześciu badaniach porównujących TBST i IGRA była niska i wynosiła 2,3% (95% CI: –1,6–6,2%), co oznacza, że TBST były podobne do IGRA pod względem swoistości.

Ogółem uwzględniono 16 badań z udziałem 3198 uczestników (w tym cztery badania z udziałem 1307 uczestników w wieku poniżej 18 lat) w celu oceny zgodności testów indeksowych z testami porównawczymi (TST lub IGRA lub oba). U uczestników bez gruźlicy zgodność była wysoka ($\geq 90\%$) dla Cy-Tb i Diaskintest – (dowolna wielkość stwardnienia) oraz Diaskintest 5 mm stwardnienia – w porównaniu z QFT. Zgodność była nieco niższa i wynosiła

85,5% (95% CI: 75,7–91,7%) dla C-TST w porównaniu z T-Spot. W jednym badaniu, w którym oceniano Diaskintest z induracją co najmniej 7 mm w porównaniu z T-Spot, zgodność była znacznie niższa i wynosiła 60,9% (95% CI: 54,3–67,2%). Ryzyko błędu systematycznego uznano za poważne, ponieważ w pięciu badaniach przydział testów nie był ślepy; w związku z tym pewność dowodów została obniżona o jeden poziom ze względu na ryzyko błędu systematycznego. Zgodność wahała się w szerokim zakresie (od 61% do 97%) dla różnych testów i badań, więc pewność dowodów została obniżona o jeden poziom ze względu na niespójność. W rezultacie pewność dowodów dotyczących zgodności między TBST a IGRA była niska.

U uczestników z gruźlicą zaobserwowano wysoką zgodność między testami TBST a testami IGRA jako komparatorami (85,7%). Stwierdzono pewną zmienność zgodności między różnymi testami: 79,6% (95% CI: 76,3–82,6%) dla Cy-Tb 5 mm w porównaniu z QFT; 97,3% (95% CI: 72,7–99,8%) dla Diaskintest (dowolna wielkość stwardnienia) w porównaniu z QFT; oraz 97,0% (95% CI: 92,3–98,9%) dla DST 5 mm stwardnienia w porównaniu z QFT. Zgodność była nieco niższa i wyniosła 85,4% (95% CI: 72,4–92,9%) dla C-TST w porównaniu z T-Spot. Ryzyko błędu systematycznego uznano za poważne, ponieważ w czterech badaniach przydział testów do poszczególnych grup nie był ślepy; w związku z tym pewność dowodów została obniżona o jeden poziom ze względu na ryzyko błędu systematycznego. Zgodność wahała się od 75% do 100% dla różnych testów i badań, więc pewność dowodów została obniżona o jeden poziom ze względu na niespójność. Ogólna pewność dowodów dotyczących zgodności między TBST a IGRA u osób z gruźlicą została uznana za niską.

Przeprowadzono systematyczny przegląd badań opisujących interesujące wyniki, w tym reakcje miejscowe, tj. reakcje w miejscu wstrzyknięcia (ISR) i ogólnoustrojowe zdarzenia niepożądane związane z testami TBST. Przeszukano następujące bazy danych w poszukiwaniu badań od momentu ich powstania do 30 lipca 2021 r.: Medline, Embase, e-library, Chinese Biomedical Literature Database oraz China National Knowledge Infrastructure Database. W sprawie poszczególnych badań skontaktowano się z producentami testów, a badania zidentyfikowano poprzez publiczne zaproszenie do zgłaszania danych przez WHO. Włączono badania podłużne i badania kliniczno-kontrolne opisujące zdarzenia niepożądane związane z samymi testami indeksowymi lub porównujące je z uznanymi testami porównawczymi (np. QFT, T-Spot i TST) u ludzi, bez ograniczeń językowych. Przegląd tytułów i streszczeń, a także pełnych tekstów artykułów oraz ocena jakości zostały przeprowadzone przez dwóch badaczy w dwóch egzemplarzach. Metaanaliza została przeprowadzona przy użyciu modelu efektów losowych, a badania uznane za klinicznie jednorodne zostały połączone.

Ogółem zidentyfikowano siedem badań dotyczących Cy-Tb, pięć dotyczących C-TST i 11 dotyczących Diaskintest. Charakterystyka badań była następująca:

- Cy-Tb: badania kliniczne – trzy badania w Republice Południowej Afryki i cztery w Europie. Większość uczestników stanowili dorośli; w badaniach przeprowadzonych w Republice Południowej Afryki 20–40% uczestników stanowiły osoby żyjące z HIV. Pięć z siedmiu badań obejmowało losowy przydział Cy-Tb w porównaniu z TST do dwóch grup, co umożliwiło porównanie ISR. Wszystkie pięć badań zostało uwzględnionych w zbiorczej ocenie dowodów dotyczących ISR. Tylko jedno badanie dostarczyło porównywalnych danych dotyczących reakcji ogólnoustrojowych. Badanie to zostało również uwzględnione w zbiorczej ocenie dowodów dotyczących reakcji ogólnoustrojowych.

- C-TST: wszystkie pięć badań zostało przeprowadzonych w Chinach i obejmowało wyłącznie dorosłych bez zakażenia wirusem HIV. Wszystkie obejmowały nierandomizację C-TST w porównaniu z TST do dwóch grup, dlatego żadne badanie oceniające C-TST nie zostało uwzględnione w zbiorczej ocenie dowodów dotyczących jakichkolwiek ISR. Nie były również dostępne żadne badania zawierające porównywalne dane dotyczące reakcji ogólnoustrojowych.
- Diaskintest: badania przekrojowe z wykorzystaniem rutynowo gromadzonych danych, głównie w Federacji Rosyjskiej, a jedno na Ukrainie, obejmujące różne populacje (osoby dorosłe, dzieci i młodzież – zdrowe, mające kontakt z chorymi na gruźlicę oraz chore na gruźlicę). Dwa badania dotyczące Diaskintest dostarczyły porównywalnych danych na temat ISR; jednak jedno z nich nie zawierało informacji na temat liczby uczestników, u których wystąpiło ISR; w związku z tym w metaanalizie uwzględniono tylko jedno badanie dotyczące Diaskintest.

Odsetek osób żyjących z HIV: Aggerbeck 2018 (25%), Aggerbeck 2019 (20%); Hoff 2016 (10) (39,5%). W innych badaniach uwzględniono osoby bez HIV. Aggerbeck 2018 uwzględnił dzieci w wieku poniżej 5 lat (20%) i w wieku 5–17 lat (31%); Ruhwald 2017 uwzględnił dzieci w wieku poniżej 5 lat (3,5%) i w wieku 5–17 lat (8,8%). Inne badania obejmowały osoby dorosłe. Hoff 2016, Aggerbeck 2019 i Streltsova 2011 obejmowały wyłącznie osoby z gruźlicą.

Zbiorcze ryzyko wystąpienia jakiegokolwiek reakcji ISR spowodowanej testem Cy-Tb (n=2878, 5 badań) i Diaskintest (n=53, 1 badanie) nie różniło się znacząco od ryzyka związanego z testem TST (współczynnik ryzyka [RR] 1,09; 95% CI: 0,74–1,61). Ryzyko wystąpienia jakiegokolwiek reakcji ogólnoustrojowej można było przeanalizować tylko w jednym badaniu (Cy-Tb), które umożliwiło takie porównanie, i nie różniło się ono znacząco od TST (RR 0,84; 95% CI: 0,60–1,10). Badanie Diaskintest uznano za obarczone wysokim ryzykiem błędu systematycznego, natomiast ogólną pewność dowodów pochodzących z randomizowanych badań kontrolowanych dotyczących jakichkolwiek ISR oceniono jako wysoką. W przypadku jakichkolwiek reakcji ogólnoustrojowych ogólną pewność dowodów oceniono jako umiarkowaną ze względu na małą wielkość próby i szeroki przedział ufności.

W odpowiedzi na prośbę członków GDG o dane z nadzoru po wprowadzeniu do obrotu testu Diaskintest, producent przedstawił następujące dane: w latach 2019–2021 wykonano ponad 55,7 mln testów Diaskintest, odnotowując 27 poważnych działań niepożądanych i 30 niepoważnych działań niepożądanych. Na podstawie całości danych GDG oceniło pewność dowodów jako wysoką.

Na podstawie danych przedstawionych podczas spotkania GDG stwierdzono, że profil bezpieczeństwa nowych TBST jest podobny do profilu bezpieczeństwa TST i wiąże się głównie z łagodnymi reakcjami ISR, takimi jak swędzenie i ból. Z przeanalizowanych badań wynika, że nie ma żadnych sygnałów dotyczących bezpieczeństwa, które mogłyby wpłynąć na wybór między konkretnymi TBST a TST. Grupa zauważyła jednak, że nie była to pełna ocena bezpieczeństwa obejmująca bezpieczeństwo produktu, badania na zwierzętach lub badania przedkliniczne. Przed wdrożeniem jakiegokolwiek produktu TBST konieczna jest ocena regulacyjna pod kątem bezpieczeństwa.

W ośmiu badaniach oceniających test Diaskintest większość oszacowała koszt jednego testu na 1,60 USD. W jednym badaniu oceniono koszty jednostkowe, biorąc pod uwagę czas pracy personelu, materiały eksploatacyjne i koszty laboratoryjne, uzyskując wynik 5,07 USD. W badaniu tym, przy użyciu tych samych czynników kosztowych, oszacowano również koszt jednostkowy testu C-TST na 9,96 USD. W 29 badaniach dotyczących testów IGRA lub

TST (lub obu) oszacowano średni koszt testu TST na 37,84 USD, a testów IGRA na 89,33 USD (z uwzględnieniem różnych składników). Opłacalność testów różniła się między grupami ryzyka i w obrębie tych grup, nie osiągnięto jednoznacznego konsensusu ekonomicznego w sprawie opłacalności testów porównawczych. Na podstawie wyników Drummond'a jakość badań oceniających opłacalność testów C-TST i Diaskintest w niniejszym przeglądzie budziła wątpliwości; tylko jedno z ośmiu badań było wysokiej jakości. Jednak jakość badań oceniających opłacalność testów TST i IGRA była ogólnie wysoka.

Na podstawie wyników przeglądu systematycznego stwierdzono brak wystarczających dowodów dotyczących zarówno kosztów, jak i opłacalności nowych testów TBST. Jakość badań budziła wątpliwości zgodnie z listą kontrolną Drummond dotyczącą ocen ekonomicznych. Potrzebne są dalsze badania wysokiej jakości, uwzględniające różne warunki zdrowotne i grupy ryzyka, aby oszacować opłacalność i prawdopodobny wpływ ekonomiczny tych testów. Podsumowując, wyniki modelowania i jednoczynnikowej analizy wrażliwości pokazują, że w Brazylii i RPA stosowanie testu Diaskintest potencjalnie pozwoliłoby obniżyć koszty na pacjenta i przyniosłoby większe korzyści zdrowotne (QALY na pacjenta) w porównaniu z testem TST i testami IGRA. W Wielkiej Brytanii test Diaskintest przynosi korzyści zdrowotne, ale jest droższy pod względem oczekiwanych kosztów na pacjenta niż testy IGRA. Nasze wyniki pokazują również, że w Brazylii i RPA testy IGRA są droższe w realizacji niż test TST, ale przyniosłoby korzyści zdrowotne. Jednak w Wielkiej Brytanii testy IGRA są tańsze w realizacji i bardziej opłacalne niż test TST.

Perspektywa użytkownika. Perspektywa użytkownika dotycząca wartości, wykonalności, użyteczności i akceptowalności technologii diagnostycznych jest ważna przy wdrażaniu takich technologii. Jeśli nie uwzględni się perspektywy personelu laboratoryjnego, lekarzy, pacjentów i personelu programu zwalczania gruźlicy, istnieje ryzyko, że technologie te będą niedostępne i niewykorzystywane przez osoby, dla których są przeznaczone.

Aby odpowiedzieć na pytania związane z perspektywą użytkownika, podjęto następujące działania:

- W dwóch przeglądach systematycznych, w których zebrano wyniki badań jakościowych dotyczących wartości i preferencji użytkowników końcowych w zakresie stosowania określonych testów TBST do wykrywania zakażenia gruźlicą, porównano je z istniejącymi testami (IGRA i TST). Jakość badań i wiarygodność dowodów oceniono zgodnie z metodą GRADE-CERQual.
- Dwadzieścia częściowo ustrukturyzowanych wywiadów z różnymi lekarzami, personelem laboratoryjnym, pracownikami programowymi i osobami zakażonymi gruźlicą (określanymi w niniejszym raporcie jako „konsumenci”).
- Ankieta z wykorzystaniem eksperymentu wyboru dyskretnego (DCE), oparta na tematach wywodzących się z przeglądów systematycznych i wywiadów częściowo ustrukturyzowanych. Metodologia DCE została wykorzystana w celu uzyskania od uczestników (użytkowników końcowych) informacji na temat deklarowanych wartości i preferencji bez bezpośredniego pytania ich o preferowane opcje.

Zidentyfikowano cztery badania, które spełniały kryteria włączenia do obu przeglądów systematycznych. W przeglądzie dotyczącym konkretnych testów TBST zidentyfikowano tylko jedno źródło danych (z Federacji Rosyjskiej), które pochodziło z publicznego zaproszenia WHO do zgłaszania danych dotyczących wykonalności i akceptowalności testów TBST. Uczestnikami byli rodzice dzieci i młodzieży zakażonych gruźlicą. W przeglądzie

dotyczącym aktualnych testów IGRA i TST znaleziono trzy recenzowane artykuły spełniające kryteria włączenia; te trzy artykuły pochodziły z Holandii, Republiki Południowej Afryki i Stanów Zjednoczonych Ameryki (USA). Uczestnikami byli różni pracownicy służby zdrowia zajmujący się opieką nad chorymi na gruźlicę (Holandia, Republika Południowej Afryki i USA) oraz osoby żyjące z HIV (Republika Południowej Afryki). Ogólna pewność co do jakości dowodów pochodzących z badań była niska do umiarkowanej w oparciu o oceny GRADE-CERQual, ponieważ dane były ubogie, a większość badań zawierała jedynie streszczenia wypowiedzi uczestników lub ograniczone bezpośrednie cytaty. Wszystkie badania zostały przeprowadzone na określonych podgrupach (np. osoby żyjące z HIV lub rodzice dzieci i młodzieży zakażonych gruźlicą).

Dane jakościowe pochodzące z przeglądów systematycznych i wywiadów z użytkownikami końcowymi oraz dane ilościowe pochodzące z DCE wskazały, że konsumenci i dostawcy usług zdrowotnych mieli podobne wartości i preferencje w zakresie testów na zakażenie gruźlicą. Kluczowe wartości dla użytkowników końcowych obejmowały dokładność testu, wygodę, pozytywne doświadczenia pacjentów, koszty i wymagania dotyczące zasobów. W szczególności użytkownicy końcowi cenili testy o wysokiej dokładności, takie jak TBST i IGRA (tj. o niskim odsetku wyników fałszywie dodatnich i fałszywie ujemnych), ponieważ zmniejszają one ryzyko konsekwencji związanych z wynikami fałszywie dodatnimi i fałszywie ujemnymi (np. niepokój i konieczność wykonania dodatkowych badań lub niepotrzebnego leczenia). Użytkownicy końcowi preferowali również testy, które były wygodne w stosowaniu i dostępne. Obejmowało to docenianie testów, które są dostępne w środowisku lokalnym lub w placówkach podstawowej opieki zdrowotnej, nie wymagają wizyt kontrolnych w celu odczytania wyników testów i mogą być stosowane bez konieczności opracowywania dodatkowych systemów lub infrastruktury. Wyniki te zostały początkowo zidentyfikowane na podstawie tematów pojawiających się w przeglądach systematycznych i wywiadach z użytkownikami końcowymi, a następnie potwierdzone wynikami DCE.

Na podstawie danych jakościowych uzyskanych z przeglądów i wywiadów stwierdzono, że wszystkie opcje testów na obecność zakażenia gruźlicą mają swoje zalety i ograniczenia pod względem wygody. Użytkownicy końcowi cenili sobie pozytywne doświadczenia konsumentów. Oznaczało to, że preferowano testy wywołujące mniej skutków psychologicznych (np. niepokój, piętno i stres) i fizycznych (np. dyskomfort). Testy, które były bardziej dokładne, kojarzyły się zazwyczaj z lepszymi doświadczeniami konsumentów, chociaż niektóre aspekty doświadczeń konsumentów były gorsze w przypadku testów skórnych (np. piętno związane z prężeniem i dyskomfort) w porównaniu z testami nieskórnymi. Preferowano testy niskokosztowe ze względu na większą dostępność w warunkach ograniczonych zasobów (np. TBST i TST). Testy wymagające mniejszych zasobów były preferowane w warunkach ograniczonych zasobów (np. TBST i TST), jednak wydawało się to mieć mniejsze znaczenie w krajach o wysokim dochodzie. Użytkownicy końcowi wykazywali preferencję dla testów na zakażenie gruźlicą, które wykorzystywały istniejącą infrastrukturę w ich placówkach opieki zdrowotnej. Dane z DCE potwierdziły, że brak konieczności osobistej wizyty kontrolnej oraz brak konieczności posiadania wyspecjalizowanego personelu lub sprzętu do interpretacji lub przeprowadzenia testu były ważnymi preferencjami użytkowników końcowych w zakresie testów na gruźlicę.

Jakościowe dane pochodzące z przeglądów i wywiadów z użytkownikami końcowymi wskazują, że konkretne testy TBST prawdopodobnie nie spowodują żadnych nowych problemów związanych z równością. Testy TBST mogą raczej poprawić równość w zakresie zdrowia poprzez zapewnienie dokładniejszych i tańszych testów w środowiskach o ograniczonych zasobach, w których stosuje się już test TST. Ponadto ich przenośność i niski koszt

sprawiają, że nadają się one do stosowania w programach badań przesiewowych na dużą skalę w wrażliwych, trudno dostępnych społecznościach. Możliwe jest jednak, że testy TBST nie będą miały wpływu na równość w zakresie zdrowia w środowiskach o ograniczonych zasobach, w których nie stosuje się jeszcze testu TST, ponieważ istnieją bariery w dostępie do badań skórnych i innych badań zdrowotnych w tych, które należy najpierw usunąć, niezależnie od rodzaju dostępnego testu na gruźlicę. Jeśli chodzi o dostępność testów, dane z DCE wykazały, że konsumenci zdecydowanie preferowali testy wykonywane w społecznościach i placówkach podstawowej opieki zdrowotnej w porównaniu z placówkami szpitalnymi; wynik ten może mieć wpływ na równość w zakresie zdrowia.

Dane jakościowe pochodzące z systematycznych przeglądów i wywiadów z użytkownikami końcowymi sugerują, że testy TBST były postrzegane jako bardziej specyficzne i czułe niż testy TST. Wyższa dokładność testów była uważana za pożądaną, aby uniknąć negatywnych konsekwencji wyników fałszywie dodatnich lub fałszywie ujemnych. Oczekiwano jednak, że testy TBST będą miały wiele takich samych ograniczeń jak testy skórne pod względem doświadczeń pacjentów (np. konieczność ponownej wizyty, dyskomfort, ślady na ramieniu i piętno) w porównaniu z testami IGRA. Sugestie dotyczące poprawy akceptowalności testów TBST obejmowały staranne informowanie podczas wdrażania tego testu, poparte przez pracowników kadry medycznej. Dane z DCE wykazały silne i spójne preferencje zarówno wśród pracowników kadry medycznej, jak i konsumentów w zakresie testów, które minimalizują wyniki fałszywie dodatnie i fałszywie ujemne. DCE wykazało również, że konsumenci zdecydowanie preferowali testy przeprowadzane w społeczności i placówkach podstawowej opieki zdrowotnej w porównaniu z placówkami szpitalnymi.

Wyniki jakościowej syntezy dowodów (przeglądy i wywiady z użytkownikami końcowymi) potwierdzają wykonalność stosowania testów TBST, ale tylko w warunkach, w których test TST jest już stosowany, a wymagane zasoby i szkolenia są już dostępne. TBST są prawdopodobnie niedrogimi, przenośnymi testami, które mogą być dobrze dostosowane do placówek opieki zdrowotnej o ograniczonych zasobach, które mogą nie być w stanie wspierać IGRA ze względu na większe koszty i zasoby wymagane do wdrożenia IGRA. Jeśli jednak placówki opieki zdrowotnej dysponują już infrastrukturą niezbędną do wdrożenia testów IGRA, są one bardziej realną opcją niż jakiegokolwiek testy skórne, ponieważ nie wymagają ponownej wizyty w celu odczytania wyniku (etap, na którym pacjenci mogą zostać utraceni do dalszej obserwacji). Wyniki DCE wykazały, że brak konieczności osobistej wizyty kontrolnej lub specjalistycznego personelu lub sprzętu do interpretacji lub przeprowadzenia testu były ważnymi preferencjami dotyczącymi testów na gruźlicę, które miałyby wpływ na wykonalność. Pojawiły się sugestie, że dostawcy preferowali droższe testy (gdy oferowano im wybór oparty na hipotetycznym koszcie 50 USD w porównaniu z 25 USD), chociaż koszt testu był najmniej istotnym czynnikiem decydującym o wyborze testu.

Kwestie wdrożeniowe

Kwestie związane z wdrożeniem były następujące:

- przed wdrożeniem testów diagnostycznych in vivo wymagane jest uzyskanie zgody krajowych organów regulacyjnych lub innych właściwych organów;
- konieczne jest odpowiednie poinformowanie o nowej klasie testów, podkreślając różnicę między testem TST a testami TBST;

- wdrożenie testów TBST wymaga łańcucha chłodniczego;
- do przeprowadzania i interpretacji tej klasy testów potrzebny jest dobrze wyszkolony, wykwalifikowany personel;
- fiolki wielokrotnego użytku będą wymagały skutecznego planowania operacyjnego i podziału na partie; dlatego preferowane są fiolki jednorazowego użytku lub fiolki zawierające mniejszą liczbę dawek, dostosowane do dziennych potrzeb;
- należy wziąć pod uwagę aspekty związane z zaopatrzeniem i zarządzaniem zapasami, tak jak w przypadku wdrażania każdej nowej klasy testów;
- ponieważ odczyt wyników TBST wymaga drugiej wizyty pacjenta, należy wzmocnić powiązania z opieką medyczną, aby zmniejszyć liczbę przypadków utraty kontaktu z pacjentem;
- należy wziąć pod uwagę dostępność na rynku światowym i niezbędne ilości nowej klasy testów; oraz
- należy ujednoczyć pomiary wielkości reakcji TBST i ich interpretację.

Monitorowanie

Czynniki, które będą wymagały monitorowania i oceny, są następujące:

- monitorowanie zdarzeń niepożądanych stanowi lukę w obecnym stosowaniu TST; w związku z tym przy wdrażaniu nowych testów należy wprowadzić systemy rejestrowania i zgłaszania wyników oraz zdarzeń niepożądanych; oraz
- istnieje potrzeba monitorowania powiązania między wynikami nowej klasy testów a liczbą osób objętych TPT.

3.6.2. Testy skórne na gruźlicę i testy uwalniania interferonu gamma do diagnostyki zakażenia gruźlicą

Badania w kierunku zakażenia gruźlicą zwiększają pewność, że osoby zakwalifikowane do leczenia odniosą z niego korzyści. Nie istnieje jednak złoty standard w diagnostyce zakażenia gruźlicą. Oba obecnie dostępne testy – TST i IGRA – są testami pośrednimi i wymagają odpowiedniej odpowiedzi immunologicznej, aby zidentyfikować osoby zakażone gruźlicą. Dodatni wynik testu wykonanego którąkolwiek z tych metod nie jest sam w sobie wiarygodnym wskaźnikiem ryzyka rozwoju aktywnej postaci choroby. W niniejszym rozdziale omówiono dowody naukowe i rekomendacje dotyczące badań w kierunku zakażenia gruźlicą.

Rekomendacja 20

Do wykrywania zakażenia gruźlicą można zastosować test tuberkulinowy (TST) lub testy uwalniania interferonu gamma (IGRA). (Silna rekomendacja, bardzo niski poziom pewności dowodów)

Uzasadnienie rekomendacji

W ramach systematycznego przeglądu porównano skuteczność diagnostyczną testów IGRA i TST w wykrywaniu aktywnej gruźlicy w krajach, w których częstość występowania gruźlicy przekracza 100 przypadków na 100 000 mieszkańców. Uwzględniono wyłącznie badania, w których test TST porównano z testami IGRA w tej samej

populacji. Oszacowano względne współczynniki ryzyka gruźlicy dla osób, które uzyskały wynik pozytywny, oraz dla osób, które uzyskały wynik negatywny w testach TST i IGRA.

Zidentyfikowano pięć prospektywnych badań kohortowych, w których wzięło udział łącznie 7 769 uczestników. Łączny szacunkowy współczynnik ryzyka dla testu TST wyniósł 1,49 (95% CI: 0,79–2,80), a dla testów IGRA – 2,03 (95% CI: 1,18–3,50). Chociaż szacunkowy współczynnik dla testów IGRA był nieco wyższy niż dla testu TST, 95% CI dla szacunków dotyczących testu TST i testów IGRA pokrywały się i były nieprecyzyjne.

GR stwierdziła, że porównanie testu TST i testów IGRA w tej samej populacji nie dostarcza mocnych dowodów na to, że jeden test powinien być preferowany nad drugim w przewidywaniu progresji do aktywnej postaci gruźlicy. Test TST może wymagać znacznie mniej zasobów niż testy IGRA i może być bardziej znany lekarzom w środowiskach o ograniczonych zasobach; jednak powtarzające się globalne niedobory i braki zapasów testu TST zmniejszają perspektywy na rozszerzenie stosowania tego testu i programowe zarządzanie TPT. GR zauważyła również, że równość i dostępność mogą mieć wpływ na wybór i rodzaj stosowanego testu. GR zdecydowanie zaleciła stosowanie obu testów jako równoważnych opcji, o stosunkowo podobnych zaletach i wadach. GR ostrzegła, że niedoskonała skuteczność tych testów może prowadzić do fałszywie ujemnych wyników, szczególnie u małych dzieci i osób z obniżoną odpornością, takich jak osoby żyjące z HIV o niskiej liczbie komórek CD4. GR zwróciła uwagę na znaczenie testów w identyfikacji niedawnej zmiany wyniku z ujemnego na dodatni, szczególnie wśród osób mających kontakt z chorymi na gruźlicę płuc, co jest dobrą praktyką przy rozpoczynaniu TPT. Niemniej jednak ostatnie badania przeprowadzone wśród kadry medycznej w USA, którzy byli poddawani seryjnym testom na zakażenie gruźlicą, wykazały, że zmiany wyniku z ujemnego na dodatni oraz z dodatniego na ujemny są częściej identyfikowane za pomocą testów IGRA niż TST. W związku z tym nadal konieczne jest stosowanie oceny klinicznej w celu interpretacji wyników seryjnych testów na obecność zakażenia gruźlicą.

Przeanalizowane dowody i przedstawione rekomendacje dotyczą wyłącznie stosowania dwóch dostępnych na rynku testów IGRA (QuantiFERON-TB Gold In-Tube i T-Spot).

3. Czy test IGRA może być stosowany jako alternatywa dla testu TST w celu identyfikacji osób najbardziej narażonych na przejście z infekcji gruźlicą do aktywnej gruźlicy w środowiskach o wysokiej zapadalności na gruźlicę?

Zidentyfikowano pięć prospektywnych badań kohortowych, w których wzięło udział łącznie 7 769 uczestników; cztery z tych badań zostały zidentyfikowane po raz pierwszy. Trzy badania przeprowadzono w Republice Południowej Afryki, a dwa w Indiach. Badania obejmowały osoby żyjące z HIV, kobiety w ciąży, młodzież, pracowników służby zdrowia i osoby mające kontakt z chorymi w gospodarstwie domowym. Łączny szacunkowy współczynnik ryzyka dla TST wyniósł 1,49 (95% CI: 0,79–2,80), a dla IGRA – 2,03 (95% CI: 1,18–3,50). Chociaż szacunkowy współczynnik ryzyka dla testów IGRA był nieco wyższy niż dla testu TST, 95% CI dla szacunków dotyczących testu TST i testów IGRA pokrywały się i były nieprecyzyjne. Ponadto dowody na przydatność tych testów w przewidywaniu ryzyka w określonych populacjach zagrożonych były ograniczone.

Testy IGRA są droższe niż testy TST i wymagają odpowiednich usług laboratoryjnych. Testy TST są tańsze i można je wykonywać w terenie, ale wymagają łańcucha chłodniczego, dwóch wizyt w placówce opieki zdrowotnej oraz szkolenia w zakresie wykonywania wstrzyknięć śródskórnych, odczytywania i interpretacji wyników. Na przyrostową opłacalność testów IGRA i TST wydaje się mieć wpływ głównie ich dokładność.

Preferencje osób poddawanych badaniom i programów zależą od kilku czynników, takich jak wymóg posiadania odpowiednio wyposażonego laboratorium (np. w przypadku testów IGRA) oraz ewentualne dodatkowe koszty dla osób poddawanych badaniom (np. koszty podróży) i programów (np. koszty infrastruktury i badań).

Kwestie związane z wdrożeniem

W miarę możliwości wskazane jest przeprowadzenie badań w kierunku zakażenia gruźlicą, aby zidentyfikować osoby najbardziej narażone na rozwój aktywnej gruźlicy. Nie jest to jednak wymagane w przypadku osób żyjących z HIV lub osób mających kontakt z chorym w wieku poniżej 5 lat. W przypadku osób z gospodarstwa domowego w wieku powyżej 5 lat, które nie są zakażone wirusem HIV, oraz w innych grupach ryzyka zaleca się wykonanie testów na obecność zakażenia gruźlicą, ale ich niedostępność nie powinna stanowić przeszkody w leczeniu osób uznanych za bardziej narażone na ryzyko. GR zauważyła, że dostępność i przystępność cenowa testów może decydować o tym, który test na obecność zakażenia gruźlicą zostanie zastosowany. Inne czynniki, które należy wziąć pod uwagę, to struktura systemu opieki zdrowotnej, wykonalność wdrożenia i wymagania infrastrukturalne.

Przy podejmowaniu decyzji o wyborze testu należy wziąć pod uwagę trudności operacyjne. Na przykład testy IGRA wymagają pobrania krwi, co może być trudne, szczególnie w przypadku małych dzieci; wymagają one również infrastruktury laboratoryjnej, wiedzy technicznej i kosztownego sprzętu, a ich czułość jest zmniejszona u dzieci poniżej 2 roku życia i osób żyjących z HIV. Jednak do wykonania testu IGRA wystarczy jedna wizyta (choć pacjenci mogą być zmuszeni do ponownej wizyty w celu uzyskania wyniku). Test TST wymaga łańcucha chłodniczego, dwóch wizyt w placówce opieki zdrowotnej oraz szkolenia w zakresie wykonywania wstrzyknięć śródskórnych, odczytywania i interpretacji wyników. Inną praktyczną zaletą testów IGRA w porównaniu z testem TST jest to, że testy IGRA nie są podatne na reakcję przypominającą, która sprawia, że w sytuacjach, gdy reaktywność na test TST osłabła od czasu zakażenia, konieczne jest zastosowanie dwuetapowego podejścia w przypadku testu TST.

Szczepienie BCG odgrywa decydującą rolę w zmniejszeniu swoistości testu TST, chociaż GDG zauważyło, że wpływ szczepienia BCG na swoistość testu TST zależy od szczepu szczepionki, wieku, w którym szczepionka jest podawana, oraz liczby podanych dawek. Gdy szczepionka BCG jest podawana po urodzeniu, jak ma to miejsce w większości części świata, ma ona zmienny, ograniczony wpływ na swoistość testu TST.

GDG uzgodniło, że historia szczepień BCG ma ograniczony wpływ na interpretację wyników TST w późniejszym życiu; w związku z tym szczepienie BCG nie powinno być czynnikiem decydującym przy wyborze testu. Ani TST, ani IGRA nie powinny być stosowane do diagnozowania aktywnej gruźlicy; nie powinny być również stosowane do diagnostyki dorosłych, u których podejrzewa się aktywną gruźlicę.

3.6.3. Testy skórne na gruźlicę i testy uwalniania interferonu gamma w diagnostyce gruźlicy

Rekomendacja 21

Testy uwalniania interferonu gamma (IGRA) (oraz test tuberkulinowy [TST]) nie powinny być stosowane w krajach o niskim i średnim dochodzie do diagnozowania gruźlicy płucnej lub pozapłucnej ani do diagnostyki dorosłych (w tym osób żyjących z HIV) podejrzanych o aktywną gruźlicę w tych warunkach. (Silna rekomendacja)

GR stwierdziła, że zarówno czułość, jak i swoistość testów IGRA w wykrywaniu aktywnej gruźlicy u osób, u których podejrzewa się gruźlicę, były nieoptymalne, a jakość dowodów jest niska. Zalecono również, aby testy te nie były stosowane jako zamiennik konwencjonalnej diagnostyki mikrobiologicznej gruźlicy płucnej i pozapłucnej.

GR uważa, że aktualne dowody nie przemawiają za stosowaniem testów IGRA lub TST w ramach diagnostyki dorosłych, u których podejrzewa się aktywną gruźlicę, niezależnie od statusu HIV. W zaleceniu tym dużą wagę przywiązano do uniknięcia konsekwencji niepotrzebnego leczenia (ze względu na dużą liczbę wyników fałszywie dodatnich), biorąc pod uwagę niską specyficzność testów IGRA i TST w tych warunkach.

- 1. Jaka jest dokładność diagnostyczna komercyjnych testów IGRA w wykrywaniu gruźlicy płuc u dorosłych osób z podejrzeniem gruźlicy płuc i potwierdzonymi przypadkami gruźlicy w krajach o niskim i średnim dochodzie w porównaniu z diagnostyką mikrobiologiczną (hodowla lub badanie mikroskopowe rozmazu) lub diagnostyką kliniczną gruźlicy płuc?**

Badania oceniające skuteczność testów IGRA są utrudnione przez brak złotego standardu pozwalającego rozróżnić obecność lub brak zakażenia gruźlicą. Ponieważ nie można było bezpośrednio ocenić dokładności diagnostycznej w przypadku zakażenia gruźlicą, opracowano hierarchię standardów referencyjnych i uzgodniono ją wcześniej z autorami przeglądów systematycznych, aby ocenić rolę testów IGRA w zależności od poszczególnych tematów (tj. nie wszystkie przeglądy systematyczne koniecznie wykorzystywały tę hierarchię). Pierwotne wyniki zostały z góry określone dla każdego przeglądu systematycznego jako istotne; na przykład wartość predykcyjna testów IGRA dla rozwoju aktywnej gruźlicy, czułość testów IGRA u osób z potwierdzoną hodowlą aktywną gruźlicą (jako zastępczy standard referencyjny dla zakażenia gruźlicą) oraz korelacja między wynikami testów IGRA i TST. Oprócz pierwotnych wyników, w stosownych przypadkach oceniono również specyficzne cechy testów IGRA, które mogły mieć wpływ na ich ogólną użyteczność; na przykład odsetek nieokreślonych wyników testów IGRA (tj. niemożliwych do zinterpretowania ze względu na wysoką odpowiedź IFN- γ w kontroli negatywnej lub niską odpowiedź IFN- γ w kontroli pozytywnej), wpływ immunosupresji związanej z HIV (tj. liczba komórek CD4+) na wyniki testów, jeśli były one dostępne, oraz korelacja wyników testów IGRA z gradientem ekspozycji (zazwyczaj stosowany w badaniach kontaktowych i badaniach dotyczących ognisk choroby).

Wykorzystanie testów IGRA w diagnostyce aktywnej gruźlicy

W badaniu uwzględniono badania oceniające skuteczność technologii będących przedmiotem zainteresowania w diagnostyce gruźlicy u osób dorosłych (powyżej 15 roku życia) z podejrzeniem gruźlicy lub u osób z gruźlicą w krajach o niskim i średnim dochodzie.

Wstępne wyszukiwanie dało 789 wyników. Po przejrzaniu pełnych tekstów 185 artykułów oceniających testy IGRA w diagnostyce aktywnej gruźlicy, 22 z nich uznano za spełniające kryteria kwalifikacyjne. Obejmowały one 33 badania dotyczące jednego lub więcej testów IGRA w 19 opublikowanych i trzech nieopublikowanych raportach. Spośród 33 badań 10 (30%) pochodziło z krajów o niskim dochodzie, a 23 (70%) z krajów o średnim dochodzie. Siedemnaście badań (52%) obejmowało osoby żyjące z HIV (n=1057), a 27 badań (82%) dotyczyło pacjentów ambulatoryjnych (pacjentów ambulatoryjnych oraz hospitalizowanych). Testy IGRA przeprowadzono u osób, u których podejrzewano aktywną gruźlicę w 19 badaniach (58%), oraz u osób z rozpoznaną aktywną gruźlicą w 14 badaniach (42%). Ze względu na skupienie się na dokładności diagnostycznej w przypadku aktywnej gruźlicy i wysokiej częstości występowania zakażeń gruźlicą w środowiskach o wysokim obciążeniu gruźlicą, swoistość testów IGRA oszacowano wyłącznie na podstawie badań obejmujących osoby z podejrzeniem gruźlicy, u których badania diagnostyczne ostatecznie nie wykazały oznak aktywnej choroby.

Wyniki wykazały, co następuje w krajach o niskim i średnim dochodzie:

- Czułość testów IGRA w wykrywaniu aktywnej gruźlicy wśród osób podejrzanych o gruźlicę wynosiła od 73% do 83%, a swoistość od 49% do 58%. W związku z tym można oczekiwać, że średnio jeden na czterech pacjentów z potwierdzoną hodowlą aktywnej gruźlicą będzie miał wynik IGRA ujemny w krajach o niskim i średnim dochodzie, co będzie miało poważne konsekwencje dla pacjentów pod względem zachorowalności i śmiertelności.
- Nie stwierdzono, aby testy IGRA miały dodatkową wartość w stosunku do konwencjonalnych testów mikrobiologicznych w diagnostyce aktywnej gruźlicy. W badaniach, w których uczestniczyły osoby z podejrzeniem gruźlicy (tj. pacjenci z niepewną diagnozą), oba testy IGRA wykazały nieoptymalne wartości „wykluczające” gruźlicę.
- Mimo że dane były ograniczone, czułość obu testów IGRA była niższa wśród osób żyjących z HIV (około 60–70%), co sugeruje, że prawie jedna na trzy osoby żyjące z HIV z aktywną gruźlicą uzyskaby wynik negatywny w teście IGRA.
- Nie było spójnych dowodów na to, że którykolwiek z dwóch testów IGRA był bardziej czuły niż test TST w diagnostyce aktywnej gruźlicy, chociaż porównania z połączonymi szacunkami czułości testu TST były trudne do interpretacji ze względu na znaczną heterogeniczność.
- Nieliczne dostępne bezpośrednie porównania między QFT-GIT a T-Spot wykazały wyższą czułość platformy T-Spot, chociaż różnica ta nie osiągnęła istotności statystycznej.
- Specyficzność obu testów IGRA w przypadku aktywnej gruźlicy była niska, niezależnie od statusu HIV, a wyniki sugerowały, że jeden na dwóch pacjentów bez aktywnej gruźlicy uzyskałby wynik IGRA-dodatni, co miałyby niekorzystne konsekwencje dla pacjentów z powodu niepotrzebnego leczenia gruźlicy i pominięcia diagnostyki różnicowej.
- W dwóch niepublikowanych raportach nie odnotowano żadnej dodatkowej wartości wyników testów IGRA w połączeniu z ważnymi cechami wyjściowymi pacjentów (np. danymi demograficznymi, objawami lub wynikami badań radiograficznych klatki piersiowej). Raporty te nie potwierdziły zatem znaczącego wkładu testów IGRA w diagnostykę aktywnej gruźlicy poza łatwo dostępnymi danymi pacjentów i konwencjonalnymi testami.

Mocne strony i ograniczenia były następujące:

- Zróżnicowanie było znaczne w przypadku głównych wyników dotyczących czułości i swoistości. Działania podjęte w celu zminimalizowania zróżnicowania obejmowały empiryczne ważenie efektów losowych, wykluczenie badań obejmujących mniej niż 10 kwalifikujących się osób oraz oddzielną syntezę danych dotyczących obecnie produkowanych testów IGRA.
- Nie istnieją standardowe kryteria definiowania krajów o wysokiej zapadalności na gruźlicę, a klasyfikacja dochodów Banku Światowego jest niedoskonałym substytutem krajowej zapadalności na gruźlicę; niemniej jednak wyniki pozostały zasadniczo niezmienione, gdy ograniczono je do krajów o arbitralnie wybranej rocznej zapadalności na gruźlicę wynoszącej co najmniej 50 na 100 000 mieszkańców.
- Możliwe, że pomimo systematycznych poszukiwań pominięto niektóre trwające badania. Możliwe jest również, że badania, w których stwierdzono słabą skuteczność testów IGRA, były rzadziej publikowane. Biorąc pod uwagę brak metod statystycznych pozwalających uwzględnić tendencyjność publikacji w metaanalizach diagnostycznych, rozsądne byłoby założenie pewnego stopnia przeszacowania szacunków z powodu tendencyjności publikacji.
- Systematyczny przegląd skupiał się na dokładności testów (tj. czułości i swoistości) oraz pośredniej ocenie wpływu na pacjentów (wyniki fałszywie dodatnie i fałszywie ujemne). Żadne z przeanalizowanych badań nie dostarczyło informacji na temat wyników istotnych dla pacjentów (tj. wykazujących, że testy IGRA stosowane w danej sytuacji spowodowały klinicznie istotną poprawę opieki nad pacjentami lub wyników leczenia). Ponadto nie były dostępne żadne informacje na temat wartości i preferencji pacjentów.

Aspekty operacyjne stosowania testów IGRA

Aspekty operacyjne stosowania testów IGRA były następujące:

- Koszt testów IGRA został wspomniany w czterech badaniach, w których stwierdzono, że testy są zbyt drogie, co stanowi ograniczenie ich stosowania.
- Tylko w jednym badaniu poruszono kwestię powtarzalności testu T-Spot poprzez ocenę zgodności między obserwatorami; wykazano doskonałą korelację. Żadne inne badanie nie wspominało o kwestii powtarzalności testu.
- W dwunastu badaniach podano dopuszczalny czas transportu próbek do laboratorium, który wynosił głównie mniej niż 6 godzin (tj. mieścił się w granicach dopuszczalnych przez producentów testów). W jednym badaniu dopuszczalny czas transportu wynosił 16 godzin, a w innym 24 godziny. W żadnym badaniu nie podano wpływu czasu transportu (tj. opóźnienia między pobraniem krwi a rozpoczęciem testu IGRA) na wyniki lub skuteczność testu IGRA.
- Żadne badanie nie zawierało informacji na temat czasu oczekiwania na wyniki testów IGRA.
- W czterech badaniach opisano wpływ testów IGRA na leczenie gruźlicy. W dwóch badaniach wyniki testów IGRA zostały przekazane lekarzom; w jednym badaniu nie omówiono konsekwencji, a w drugim badaniu dzieci i młodzież z dodatnim wynikiem testu QFT otrzymały profilaktyczną chemioterapię. W pozostałych dwóch badaniach zwrócono uwagę na zmniejszenie liczby pacjentów wymagających leczenia profilaktycznego, gdyby testy IGRA były częścią algorytmu diagnostycznego.
- Podkreślono następujące aspekty związane z wykonalnością testów IGRA:

- wymagana ilość krwi może stanowić problem; jednakże w niektórych badaniach testy przeprowadzono przy użyciu mniej niż 2 ml krwi (T-Spot);
- silna reakcja interferonu w próbkach kontrolnych z wynikiem ujemnym (wysokie wyniki tła) w teście QFT może odzwierciedlać wpływ innych współwystępujących chorób;
- standaryzacja i generowanie zautomatyzowanych, ilościowych wyników powinno sprawić, że testy IGRA będą bardziej obiektywne niż test TST; oraz
- do wykonania testu IGRA potrzebne jest dobrze wyposażone laboratorium, drogi sprzęt i szkolenia, co może powodować problemy logistyczne.

Spis tabel

Tabela 1. Klasy i produkty testów TB służących do wykrywania gruźlicy, gruźlicy lekoopornej i zakażenia gruźlicą uwzględnione w aktualnych wytycznych	22
Tabela 2. Ramy opracowania rekomendacji i stanowisk zgodnie z metodyką Evidence to Decision (EtD).	25
Tabela 3. Określanie pewności dowodów w systemie Grading of Recommendations, Assessment, Development and Evaluation (GRADE).....	26
Tabela 4. Przyjęta perspektywa oraz opis siły rekomendacji.....	26
Tabela 5. Stężenia krytyczne i kliniczne leków stosowanych w fenotypowych testach lekooporności dla prątków gruźlicy [].	30
Tabela 6. Test genotype MTBDRPLUS – wyniki dla szczepów lekoopornych, ich interpretacja i implikacje kliniczne.....	32
Tabela 7. Test genotype MTBDRSL – wyniki dla szczepów lekoopornych, ich interpretacja i implikacje kliniczne	33
Tabela 8. Kryteria klasyfikacji LC-aNAAT	36
Tabela 9. Kryteria klasyfikacji dla MC-aNAAT	43
Tabela 10. Kryteria klasyfikacji LC-mNAAT	51
Tabela 11. Kryteria klasyfikacji testów LPA.....	82
Tabela 12. Dokładność i pewność dowodów uzyskanych dzięki ukierunkowanemu NGS w wykrywaniu oporności na leki przeciwgruźlicze wśród potwierdzonych bakteriologicznie przypadków gruźlicy płuc....	98
Tabela 13. Dokładność i pewność dowodów uzyskanych dzięki ukierunkowanemu NGS w wykrywaniu oporności na leki przeciwgruźlicze wśród potwierdzonych bakteriologicznie przypadków gruźlicy płuc opornej na ryfampicynę	99

Referencje

- 1 Global tuberculosis report 2024. Geneva: World Health Organization; 2024 (<https://www.who.int/teams/global-tuberculosis-programme/tb-reports/global-tuberculosis-report-2024>)
- 2 Implementing the End TB Strategy: the essentials. Geneva: World Health Organization; 2015 (<https://apps.who.int/iris/handle/10665/206499>).
- 3 WHO consolidated guidelines on tuberculosis. Module 3: diagnosis. Geneva: World Health Organization; 2025. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.
- 4 Gruźlica i choroby układu oddechowego w Polsce w 2023 roku - Instytut Gruźlicy i Chorób Płuc, https://www.igichp.edu.pl/wp-content/uploads/2024/08/Biuletyn_2024.pdf
- 5 Gruźlica i choroby układu oddechowego w Polsce w 2024 roku - Instytut Gruźlicy i Chorób Płuc, https://www.igichp.edu.pl/wp-content/uploads/2025/07/Biuletyn_2025.pdf
- 6 Manual for selection of molecular WHO-recommended rapid diagnostic tests for detection of tuberculosis and drug-resistant tuberculosis. Dostęp: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240042575> (22.1.2026).
- 7 Manual for selection of molecular WHO-recommended rapid diagnostic tests for detection of tuberculosis and drug-resistant tuberculosis. Dostęp: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240042575> (22.1.2026).
- 8 OBWIESZCZENIE MINISTRA ZDROWIA z dnia 4 maja 2023 r. w sprawie ogłoszenia jednolitego tekstu rozporządzenia Ministra Zdrowia w sprawie zgłaszania podejrzeń i rozpoznań zakażeń, chorób zakaźnych oraz zgonów z ich powodu (Dz. U. poz. 1045) .
- 9 Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 24 czerwca 2020 roku w sprawie zgłaszania wyników badań w kierunku biologicznych czynników chorobotwórczych u ludzi (Dz.U. 2020 poz. 1118
- 10 Guyatt GH, Oxman AD, Schünemann HJ, et al. GRADE guide lines: a new series of articles in the Journal of Clinical Epidemiology. *J Clin Epidemiol* 2011; 64: 380–382, DOI: 10.1016/j.jclinepi. 2010.09.011.
- 11 Schünemann HJ, Wiercioch W, Brozek J, et al. GRADE Evidence to Decision (EtD) frameworks for adoption, adaptation, and de novo development of trustworthy recommendations: GRADE-ADOLOPMENT. *J Clin Epidemiol* 2017; 81: 101–110, DOI: 10.1016/j.jclinepi.2016.09.009.
- 12 Alonso-Coello P, Schünemann HJ, Moher J, et al. GRADE Evidence to Decision (EtD) frameworks: a systematic and transparent approach to making well informed healthcare choices. 1: Introduction. *BMJ* 2016; 353: i2016, DOI: 10.1136/bmj.i2016. 9.
- 13 Shea BJ, Reeves BC, Wells G, et al. AMSTAR 2: a critical appraisal tool for systematic reviews that include randomised or non-randomised studies of healthcare interventions, or both. *BMJ* 2017; 358: j4008, DOI: 10.1136/bmj.j4008.
- 14 WHO operational handbook on tuberculosis: module 3: diagnosis: rapid diagnostics for tuberculosis detection, 3rd ed. Dostęp: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240089501> (22.1.2026).
- 15 Line probe assays for detection of drug-resistant tuberculosis: interpretation and reporting manual for laboratory staff and clinicians. Dostęp: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240046665> (22.1.2026).
- 16 Catalogue of mutations in Mycobacterium tuberculosis complex and their association with drug resistance. Dostęp: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240028173> (22.1.2026).
- 17 WHO consolidated guidelines on tuberculosis. Module 4: Treatment – drug-resistant tuberculosis treatment. Geneva: World Health Organization; 2020 (<https://www.who.int/publications/i/item/9789240007048>).
- 18 Technical Report on critical concentrations for drug susceptibility testing of isoniazid and the rifamycins (rifampicin, rifabutin and rifapentine). Dostęp: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240017283> (22.1.2026).