

УДК 161-002.5-079:614.21
DOI: 10.26435/UC.V013(40).362

Е.В. Корж¹, Н.А. Подчос², Л.Н. Родимова², И.В. Ермишина²

¹ГОУ ВПО «Донецкий национальный медицинский университет имени М. Горького», Донецк

²Республиканская клиническая туберкулезная больница, Донецк

ДИАГНОСТИКА ТУБЕРКУЛЕЗА МЕТОДОМ GEENXPRT MTB/RIF У ВИЧ-ИНФИЦИРОВАННЫХ ЛИЦ

В настоящее время во всем мире отмечается рост количества больных химиорезистентным туберкулезом, что негативно влияет на эффективность лечения и ухудшает эпидемиологическую ситуацию. В этой связи становится все более актуальной максимально быстрая идентификация возможной устойчивости микобактерий туберкулеза (МБТ) к применяемым противотуберкулезным препаратам (ПТП), что позволяет своевременно скорректировать лечение и выполнить мероприятия инфекционного контроля. Это имеет особенное значение для ВИЧ-инфицированных лиц, поскольку течение туберкулеза на фоне иммунодефицита носит злокачественный характер, а наличие вовремя не диагностированной резистентности может существенно ухудшить прогноз. Одним из путей решения данной проблемы является использование молекулярно-генетических методов, в частности GeenXpert MTB/Rif (GeenXpert), который обеспечивает одновременное выявление туберкулеза и устойчивости к рифампицину [1, 2]. Применение GeenXpert для диагностики туберкулеза увеличивает число пациентов с бактериологически подтвержденным туберкулезом и сокращает время до начала лечения, в том числе при выявленной устойчивости R [3], однако имеются сообщения, что при высокой точности диагностики туберкулеза в клинических испытаниях метод демонстрирует недостаточную чувствительность у больных с отрицательным мазком [4]. Вместе с тем на сегодняшний день GeenXpert считается важным новым методом диагностики туберкулеза, который способен влиять не только на результаты лечения отдельных пациентов, но и на течение эпидемии туберкулеза в странах с высоким уровнем заболеваемости. При этом одним из ключевых вопросов, требующих решения, является разработка подходов к обследованию ВИЧ-инфицированных лиц [2]. Всемирная организация здравоохранения утвердила GeenXpert в качестве альтернативного теста диагностики туберкулеза в груп-

пах риска у ВИЧ-инфицированных лиц и у пациентов с подозрением на мультирезистентный туберкулез (МРТБ) [1]

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучить эффективность метода GeenXpert MTB/Rif для диагностики туберкулеза у ВИЧ-инфицированных лиц

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Проанализированы данные медицинских карт 102 ВИЧ-инфицированных больных туберкулезом, находившихся на обследовании и лечении в Республиканской клинической туберкулезной больнице (РКТБ) г. Донецка, которым проводили исследование мокроты методом GeenXpert. Всем пациентам выполняли лучевое и рутинное лабораторное обследование, бактериологическое исследование мокроты. Последнее включало двукратную микроскопию мазков мокроты на наличие кислотоустойчивых бактерий (КУБ), посев на жидкую среду Миддлбрук на аппарате ВАСТЕС и твердую среду Левенштейна-Йенсена; при получении культуры проводили тест лекарственной чувствительности (ТЛЧ) микобактерий туберкулеза (МБТ) к противотуберкулезным препаратам (ПТП) 1 и 2 ряда.

Статистический анализ проводили с использованием пакета MedStat, позволяющего оценить правильность распределения (метод гистограмм и критерия Колмогорова-Смирнова), использовать параметрические и непараметрические методы обработки полученных данных [5]. В случае нормального распределения вычисляли средние значения; при распределении, отличном от нормального, данные представляли в виде медианы; частоту встречаемости признака представляли в процентах; различия по частоте

встречаемости изучали с помощью точного метода Фишера [5].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Средний возраст больных составлял (38,8±0,7) лет, преобладали лица мужского пола – 72 (70,6%). В Донецком центре СПИДа проведено иммунологическое обследование 83 больным, содержание CD4 лимфоцитов в процентном отношении находилось в пределах 0,6-45,1% (медиана – 10,5%), в абсолютном – 1-664 кл/мкл (медиана – 86,0 кл/мкл), у 44 больных (53,0%) уровень CD4 был ниже 100 кл/мкл. Течение туберкулезного процесса сопровождалось поражением легких у 99 лиц (97,1%), преобладал диссеминированный туберкулез (см. табл.).

Большой удельный вес пациентов с глубокой иммуносупрессией сопровождался наличием признаков генерализации туберкулезной инфекции у 53,9%, а также частым вовлечением в процесс лимфоидной системы, плевры, менингеальных оболочек. У трех пациентов диагностировали внелегочный туберкулез: лимфоузлов (2 случая) и экссудативный плеврит (1 случай).

Применение всех методов бактериологического исследования мокроты позволило об-

наружить бактериовыделение у 72,5% пациентов, при этом полости распада в легких определялись менее чем у половины больных. Из трех больных с диагностированным внелегочным туберкулезом у двух лиц при посеве мокроты на питательные среды получен рост культуры МБТ. Такое несоответствие было замечено и ранее, его связывали с наличием небольших участков инфильтрации легочной ткани с микродеструкциями, вовлечением в процесс бронхов как при гематогенном распространении инфекции, так и в результате перехода воспаления с туберкулезно измененных внутригрудных лимфатических узлов [6].

Для выявления бактериовыделения наибольшую ценность имел метод посева на питательные среды (см. табл.). Исследование методом GeenXpert было информативным в 58 (56,9%) случаях, положительные результаты молекулярно-генетического метода в 52 случаях (89,7%) были подтверждены ростом культуры МБТ из тех же образцов мокроты. В общей группе обследованных частота выявления ДНК туберкулезных микобактерий методом GeenXpert несколько превышала результаты прямой микроскопии, но уступала культуральным методам, однако различия не достигали статисти-

Таблица.

Клинико-рентгенологическая характеристика туберкулезного процесса у ВИЧ-инфицированных больных

Показатели	ВИЧ-инфицированные, n = 102	
	Случаи	%
Туберкулез легких, в том числе	99	97,1
Диссеминированный	67	67,7
Инфильтративный	31	31,3
Фиброзно-кавернозный	1	1
Деструкции в легких	48	48,5
Поражение лимфатических узлов (внутригрудных, внутрибрюшных, периферических)	88	86,3
Экссудативный плеврит	25	24,5
Менингит	8	7,8
Позвоночника и суставов	5	4,9
Экссудативный перикардит	3	2,9
Кишечника	3	2,9
Генерализованный	55	53,9
Выявлено бактериовыделение (всеми методами):	74	72,5
в том числе микроскопией мокроты	50	49
Методом посева	65	63,7
Методом GeenXpert	58	56,9

ческой значимости. Применение GeenXpert у 52 больных с отрицательным мазком позволило выявить МБТ у 12 лиц (23,1%), а из 32 пациентов с отрицательными результатами мазка, и культуры молекулярно-генетическое исследование выявило МБТ у четырех (12,5%) лиц.

Полученные результаты молекулярно-генетического метода GeenXpert не только увеличивали количество случаев бактериологически верифицированного туберкулеза, но и позволяли провести необходимую коррекцию режимов химиотерапии. Так, из 58 пациентов с положительным результатом GeenXpert устойчивость к рифампицину была обнаружена у 23 человек (39,7%), что дало основание зарегистрировать их в категорию риска МРТБ и своевременно назначить стандартную схему с антимикобактериальными препаратами 2-го ряда. Из 17 больных с установленной в дальнейшем мультирезистентностью (одновременная устойчивость минимум к изониазиду и рифампицину, подтвержденная ТЛЧ) предварительное исследование мокроты методом GeenXpert было положительным у 15 пациентов, у всех обнаружена устойчивость к рифампицину. При этом сокращалась длительность неадекватного лечения: медиана продолжительности приема ПТП 1-го ряда до получения результатов GeenXpert составляла 5 доз, а у 18 человек была менее 10 доз.

Во всех 65 случаях роста культуры МБТ был проведен ТЛЧ. По данным теста, чувствительность МБТ ко всем препаратам 1-го ряда была сохранена у 30 больных (46,1%), у 17 лиц (26,1%) выявлена мультирезистентность, у девяти лиц (13,8%) – изониазид-устойчивость (с сохраненной чувствительностью к рифампицину) и у трех лиц – рифампицин-устойчивость (с сохра-

ненной чувствительностью к изониазиду). Наличие резистентности к рифампицину, выявленное у 23 пациентов методом GeenXpert, у 18 (78,3%) было подтверждено результатами ТЛЧ, в остальных пяти случаях роста культуры МБТ не получено, поэтому при отрицательной культуре для выбора схемы лечения мы ориентировались только на результаты GeenXpert.

Из 44 пациентов с отрицательным результатом GeenXpert у 13 человек (29,5%) на жидкой среде Миддлбрук выделена культура МБТ и проведен ТЛЧ. По данным теста, в двух случаях установлена мультирезистентность, больные до коррекции лечения приняли 32 и 37 доз ПТП 1-го ряда, продолжительность неэффективного лечения существенно превышала таковую при применении GeenXpert с выявлением риска МРТБ.

ВЫВОДЫ

1. Исследование мокроты методом GeenXpert было информативным у 58 (56,9%) ВИЧ-инфицированных больных, из них у 52 (89,7%) положительные результаты были подтверждены ростом культуры МБТ. В случае отрицательных результатов микроскопии мазка метод GeenXpert позволял повысить частоту бактериовыделения на 23,1%, при отрицательных результатах и мазка, и культуры – на 12,5%, что увеличивало количество случаев бактериологически верифицированного туберкулеза.

2. Применение молекулярно-генетического исследования GeenXpert с определением чувствительности МБТ к рифампицину позволяло провести необходимую коррекцию режимов химиотерапии в течение короткого времени у 39,7% больных ко-инфекцией туберкулез/ВИЧ.

Е.В. Корж¹, Н.А. Подчос², Л.Н. Родимова², И.В. Ермишина²

¹ГОО ВПО «Донецкий национальный медицинский университет имени М. Горького», Донецк

²Республиканская клиническая туберкулезная больница, Донецк

ДИАГНОСТИКА ТУБЕРКУЛЕЗА МЕТОДОМ GEENXPRT МВТ/RIF У ВИЧ-ИНФИЦИРОВАННЫХ ЛИЦ

Цель исследования. Изучить эффективность метода GeenXpert МВТ/Rif для диагностики туберкулеза у ВИЧ-инфицированных лиц

Материал и методы. Анализировали медицинские карты 102 ВИЧ-инфицированных стационарных больных туберкулезом, которым исследовали мокроту методом GeenXpert, выполняли микроскопию мазка и посев на жидкую Миддлбрук и твердую Левенштейна-Йенсена питательную среду. При росте культуры туберкулезных микобактерий проводили тест лекарственной чувствительности.

Результаты и обсуждение. Применение всех мето-

дов бактериологического исследования мокроты позволило обнаружить бактериовыделение у 74 (72,5%) больных, из них наибольшую ценность имел метод посева на питательные среды – у 65 (63,7%) лиц. Исследование GeenXpert было информативным в 58 (56,9%) случаях. Из 58 пациентов с положительным результатом GeenXpert устойчивость к рифампицину обнаружена у 23 пациентов (39,7%), что позволило в короткие сроки (медиана – 5 доз) назначить пациентам схемы лечения препаратами 2-го ряда. Наличие устойчивости к рифампицину, выявленное у 23 пациентов методом GeenXpert, у 18 (78,3%) было

подтверждено данными ТЛЧ, в остальных случаях роста культуры МБТ не получено, при выборе схем лечения учитывались только результаты GeenXpert. По данным тестирования культуры МБТ в двух случаях установлена мультирезистентность, больные до коррекции лечения приняли 32 и 37 доз ПТП 1-го ряда, что существенно превышало длительность неэффективной терапии при сравнении с методом GeenXpert.

Выводы

1. Исследование мокроты методом GeenXpert было информативным у 58 (56,9%) ВИЧ-инфицированных больных, из них у 52 (89,7%) положительные результаты были подтверждены ростом культуры МБТ. В случае отрицательных результатов микроскопии маз-

ка метод GeenXpert позволял повысить частоту бактериовыделения на 23,1%, при отрицательных результатах и мазка, и культуры – на 12,5%, что увеличивало количество случаев бактериологически верифицированного туберкулеза.

2. Применение молекулярно-генетического исследования МБТ к рифампицину позволяло провести необходимую коррекцию режимов химиотерапии в течение короткого срока времени у 39,7% больных ко-инфекцией туберкулез/ВИЧ.

Ключевые слова: ко-инфекция туберкулез/ВИЧ, GeenXpert МТВ/Rif.

E.V. Korzh¹, N.A. Podchos², L.N. Rodimova², I.V. Irmishina²

¹SEI HPE «M. Gorky Donetsk National Medical University», Donetsk

²Republican Clinical Tuberculosis Hospital, Donetsk

TUBERCULOSIS DIAGNOSTICS IN HIV-INFECTED PERSONS BY GEENXPRT MBT/RIF METHOD

At present, the problem of multiply drug resistance is becoming more urgent and is widely discussed in all regions of the world. Purpose of the study was to assess the effectiveness of the GeenXpert MTB/Rif method for the diagnosis of tuberculosis in HIV-infected persons

Material and methods. Medical cards of 102 HIV-infected patients with tuberculosis, who was diagnosed for tuberculosis in hospital department. All patients were examined with the GeenXpert method, smear microscopy and culture method on liquid Middelbrook and Levenshtein-Yensen nutrition media. At growth of the tuberculosis culture a drug sensitivity test was performed

Results and discussion. Using all methods of bacteriological examination bacterial excretion was revealed in 74 (72.5%) patients. Culture method was the most valuable – 65 (63.7%). The GeenXpert study was informative in 58 (56.9%) cases. Among of 58 patients with a positive GeenXpert result, rifampicin resistance was identified in 23 patients (39.7%)/ It made possible to prescribe patients second-line treatment regimens in a short time (median – 5 doses).

The rifampicin resistance, detected in 23 patients by the GeenXpert method, was confirmed in 18 (78.3%) per-

sons by drug susceptibility test, in other cases there was no MBT culture growth, only the GeenXpert results were used in choosing treatment regimens. Multiply drug resistance was revealed in two patients in the drug susceptibility test, these patients took 32 and 37 doses of 1st-line antituberculous medications before treatment correction, which significantly exceeded duration of ineffective therapy at comparison with the GeenXpert method.

Conclusions. GeenXpert sputum examination was informative in 56.9% of HIV-infected patients, positive results were confirmed by positive culture MBT in 52 (89,7%) from them. In case of negative microscopy results, the GeenXpert method increased the revealing of bacterial excretion on 23.1%, in case of negative results of smear and culture – on 12.5%, which increased the number of bacteriologically verified tuberculosis

2. Use of the molecular genetic study GeenXpert for test of rifampicin sensitivity to made it possible to perform the necessary correction of antituberculous chemotherapy for a short period of time in 39.7% of tuberculosis/HIV co-infected patients.

Key words: tuberculosis/HIV co-infection, GeenXpert MTB/Rif.

ЛИТЕРАТУРА

1. Automated real-time nucleic acid amplification technology for rapid and simultaneous detection of tuberculosis and rifampicin resistance: Xpert MTB/RIF system: policy statement. World Health Organization. 2011. 36. URL: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/44586>
2. Nicol M.P., Whitelaw A., Stevens W. Using Xpert MTB/RIF. Current Respiratory Medicine Reviews. 2013; 9 (3): 187-192. doi: 10.2174/1573398X113099990015
3. Разнатовская Е.Н., Михайлова А.А., Костенко И.А. Эффективность GeenXpertMBT/Rif у больных с новыми случаями и рецидивами туберкулеза легких. Актуальная инфектология. 2015; 2 (7): 55-57.
4. Cox H.S., Mbhele S., Mohess N., Whitelaw A., Muller O. et al. Impact of Xpert MTB/RIF for TB Diagnosis in a Primary Care Clinic with High TB and HIV Prevalence in South Africa: A Pragmatic Randomised Trial. PLOS Medicine. 2014;

REFERENCES

1. Automated real-time nucleic acid amplification technology for rapid and simultaneous detection of tuberculosis and rifampicin resistance: Xpert MTB/RIF system: policy statement. World Health Organization. 2011. 36. URL: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/44586>
2. Nicol M.P., Whitelaw A., Stevens W. Using Xpert MTB/RIF. Current Respiratory Medicine Reviews. 2013; 9 (3): 187-192. doi: 10.2174/1573398X113099990015
3. Raznatovskaya E.N., Mikhailova A.A., Kostenko I.A. Effektivnost' GeenXpertMBT/Rif u bol'nykh s novymi sluchayami i retsidivami tuberkuleza legkikh. Aktual'naya infektologiya. 2015; 2 (7): 55-57 (in Russian).
4. Cox H.S., Mbhele S., Mohess N., Whitelaw A., Muller O. et al. Impact of Xpert MTB/RIF for TB Diagnosis in a Primary Care Clinic with High TB and HIV Prevalence in South Africa: A Pragmatic Randomised Trial. PLOS Medicine. 2014;

- 11 (11): e1001760. doi: 10.1371/journal.pmed.1001760
5. Лях Ю.Е., Гурьянов В.Г., Хоменко В.Н., Панченко О.А. Основы компьютерной биостатистики. Анализ информации в биологии, медицине и фармации статистическим пакетом MedStat. Донецк; 2006. 214.
6. Корж О.В., Павенко О.В., Тлустова Т.В. Клінічні особливості перебігу ко-інфекції туберкульоз/ВІЛ у осіб з різним ступенем імуносупресії. Укр. пульмонологічний журнал. 2012; (1): 13-16.

- 11 (11): e1001760. doi: 10.1371/journal.pmed.1001760
5. Lyakh Yu.E., Gur'yanov V.G., Khomenko V.N., Panchenko O.A. Osnovy komp'yuternoi biostatistiki. Analiz informatsii v biologii, meditsine i farmatsii statisticheskim paketom MedStat. Donetsk; 2006. 214(in Russian).
6. Korzh O.V., Pavenko O.V., Tlustova T.V. Klinichni osoblivosti perebigu ko-infektsii tuberkul'oz/VIL u osib z riznim stupenem imunosupresii. Ukr. pul'monologichnii zhurnal. 2012; (1): 13-16(in Ukrainian).