

Адамбекова А.Д., Адамбеков Д.А.

ТЕСТ GenoType® MTBDRplus В ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКЕ ТУБЕРКУЛЕЗА И ЕГО ДОСТУПНОСТЬ В КЫРГЫЗСКОЙ РЕСПУБЛИКЕ

A.D. Adambekova, D.A. Adambekov

GenoType® MTBDRplus ASSAY IN THE LABORATORY DIAGNOSIS OF TUBERCULOSIS AND ITS AVAILABILITY IN THE KYRGYZ REPUBLIC

УДК: 616.24-002.5-072.7

Доступность тест-системы GenoType® MTBDRplus (HainLifeScience GmbH, Nehren, Германия), используемой для детекции ТБ и определения резистентности к рифампицину и изониазиду, напрямую связана с существующей транспортной системой, необходимость улучшения которой очевидна.

Ключевые слова: туберкулез, ПЦР, доступ, быстрая детекция

Availability of GenoType® MTBDRplus assay (HainLifeScience GmbH, Nehren, Germany) used for the detection and determination of TB and resistance to rifampin and isoniazid, is directly linked to the existing transport system, the need to improve that obvious.

Key words: tuberculosis, PCR, access, rapid detection.

Введение

В 2010 году, по оценкам Всемирной Организации Здравоохранения (ВОЗ) насчитывалось 650000 случаев МЛУ-ТБ. Согласно последним данным ВОЗ, самые высокие показатели в мире МЛУ-ТБ (более чем 65% у ранее леченных больных) зарегистрированы в странах бывшего СССР [1].

Точное и быстрое выявление туберкулеза и лекарственной устойчивости имеют решающее значение для улучшения выявления пациентов и снижения распространения ТБ [2].

Тест-система GenoType® MTBDRplus (HainLifeScience GmbH, Nehren, Германия) используется для детекции ТБ и определения мутаций в генах как *rpoB*, *katG* и *inhA*, ведущих к развитию резистентности к рифампицину и изониазиду [3]. Преимущество данной тест-системы заключается в том, что они могут дать результат для выявления туберкулеза и лекарственной устойчивости от 1 до 2 дней. Анализы обладают высокой чувствительностью (более 97%) и высокой специфичностью (более 99%), для определения устойчивости к рифампицину и, или изониазиду (чувствительность более чем на 90%); специфичность (более 99%) [4]. Недостатками являются то, что данные анализы являются дорогостоящими и должны быть использованы в референс-лабораториях [5]. Данная тест-система была одобрена ВОЗ для диагностики ТБ и определения устойчивости к рифампицину и изониазиду [6].

Определение устойчивости к рифампицину возможно при детекции наиболее значимых мутаций гена *rpoB*, (кодирующего бета субъединицу РНК полимеразы). Для определения высоко уровня устойчивости к изониазиду, исследуют ген *katG*,

(кодирующий каталазу пироксидазу) и для определения низкого уровня устойчивости к изониазиду, изучается область промотора в гене *inhA* (кодирующего NADH эноил АСР редуктазы) [7, 8].

Внедрение молекулярно-биологических методов в широкую клиническую практику должно привести к повышению эффективности диагностики, сокращению сроков лечения больных туберкулезом, позволит в перспективе осуществить динамическое наблюдение за путями переноса возбудителя туберкулеза в регионе, улучшить систему эпидемиологического надзора за туберкулезом и контроль эффективности лечения [9].

Целью исследования было изучение доступности теста GenoType® MTBDRplus для быстрого выявления ТБ и определения резистентности к изониазиду и рифампицину у лиц с подозрением на туберкулез в Кыргызской Республике.

Материал и методы исследования

За период с 04 октября 2012 года по 15 марта 2013 в Республиканской референс лаборатории (РРЛ) Национального Центра Фтизиатрии тестом GenoType® MTBDRplus (вторая версия) было исследовано 568 образцов патологического материала. В РРЛ патологический материал поступал из НЦФ и других противотуберкулезных учреждений республики, а также учреждений первичной медико-санитарной службы.

Тестировалась мокрота, как с положительным, так и отрицательным результатом микроскопии мазка по Цилю-Нильсену. Также использовались изоляты *M. tuberculosis*, культивированные на плотной среде Левенштейна-Йенсена и автоматизированной системе ВАСТЕСMGIT 960.

Процедура проведения теста подразделяется на три этапа: выделения ДНК из культивируемого материала (плотная/жидкая среда) или из клинических образцов (деконтаминированные положительные образцы мокроты), амплификации и гибридизации.

Тестирование проводилось в соответствии с Руководством по пользованию [10].

Результаты исследования и их обсуждение

Из исследованных 568 образцов положительный результат был получен в 344 случаях (61%), отрицательные результаты выявлены в 188 (33%) и 36 (6%) анализов были с не интерпретируемыми результатами (табл.1).

Результаты исследования тест-системой
GenoTypeMTBDRplus

Таблица 1

Geno Type MTBDRplus положительный	GenoType MTBDR plus отрицательный	Не интерпретируемые результаты	Всего тестов
344 (61%)	188 (33%)	36 (6%)	568

То, что доля отрицательных результатов составила 33%, скорее всего, является свидетельством того, что при назначении данной тест-системы клиницистами не проводится оценка рисков.

Как видно из табл. 2, из 344 положительных результатов теста 32% штаммов были с сохраненной чувствительностью к изониазиду (H) и рифампицину (R). Суммарная доля штаммов с различными видами устойчивости составила 67%, среди которых 38% были штаммы с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ ТБ). Данная тест-система предназначена для быстрого определения резистентных к H и R и доля таковых среди положительных результатов должна быть выше, что опять свидетельствует о нерациональном использовании данного метода детекции устойчивости M. Tuberculosis.

Заслуживает внимания факт низкого выявления штаммов с монорезистентностью к рифампицину – 2%, что совпадает с результатами тестирования лекарственной чувствительности M. Tuberculosis традиционными методами.

Характеристика положительных результатов тест-системы GenoTypeMTBDRplus

Таблица 2

Положительные результаты *	GenoTypeMTB D Rplus положительный	
	n	%
Штаммы с сохраненной чувствительностью к H и R	110	32
МЛУ ТБ штаммы× (устойчивые к H и R)	132	38
× из них вновь выявленные	53	-
×из них ранее леченные	70	-
× из них категория ТБ больного не определена	9	-
Штаммы монорезистентные к H	91	27
Штаммы монорезистентные к R	7	2
МБТ определена, но резистентность не детерминирована	4	1
Всего результатов	344	100

*Расшифровку аббревиатур см. в тексте.

Так по данным РРЛ за последние десять лет, при проведении ТЛЧ методом пропорций на среде Левенштейна-Йенсена доля монорезистентных к рифампицину штаммов составила менее 2%. Такие данные важны с точки зрения более широкого использования молекулярно-генетических методов определения резистентности МБТ для раннего назначения соответствующих схем лечения.

568 образцов, исследованных данной тест-системой, были распределены по административным регионам в зависимости от направления, сопровождающего патологический материал, при этом не учитывалось деление на противотуберкулезные учреждения или ПМСП.



Рис. 1. Количество протестированных образцов по регионам.

Как видно из рис.1, в РРЛ НЦФ наибольшее количество протестированных образцов приходится на медицинские учреждения Чуйской области (181). На втором месте находится г. Бишкек, из лечебных учреждений которого поступило 128 образцов. Примерно одинаковое количество образцов было принято РРЛ из Нарынской и Жалалабадской областей, соответственно по 55 и 54.

Полученные данные свидетельствуют, о том, что доступность данного метода исследования напрямую связана с существующей транспортной системой и стоимостью проезда. Это подтверждается и тем, что наименьшее количество образцов было получено из Баткенской области (19), наиболее удаленной и труднодоступной в стране.

Возвращаясь к количеству выявленных данным методом как чувствительных, так и устойчивых штаммов M. tuberculosis необходимо отметить, потребность в более широком использовании теста, как быстрого метода определения возбудителя заболевания.

Заключение

Тест GenoTypeMTBDRplus (вторая версия) был разработан как быстрый метод выявления ТБ и МЛУ ТБ, призванный улучшить выявление устойчивых форм заболевания, раннего назначения соответ-

вующего лечения и уменьшения трансмиссии ТБ в обществе. Но полученные данные свидетельствуют, что доступность данного метода зависит от существующей системы транспортировки патологического материала в лаборатории, где он используется.

Литература:

1. Zignol M, van Gemert W, Falzon D, Sismanidis C, Glaziou P, Floyd K, et al. Surveillance of anti-tuberculosis drug resistance in the world: an updated analysis, 2007-2010. *Bulletin of the World Health Organization* 2012; 90(2): 111–119D.
2. World Health Organization. Policy framework for implementing new tuberculosis diagnostics. Geneva: World Health Organization, 2011.
3. Boyle D, Pai M. UNITAID: Tuberculosis diagnostic technology landscape. Geneva: WHO, 2012.
4. Ling DI, Zwerling AA, Pai M. GenoType MTBDR assays for the diagnosis of multidrug-resistant tuberculosis: a meta-analysis. *European Respiratory Journal* 2008; 32(5):1165–74.
5. Nahid P, Kim PS, Evans CA, Alland D, Barer M, Diefenbach J, et al. Clinical research and development of tuberculosis diagnostics: moving from silos to synergy. *Journal of Infectious Disease* 2012; 205(Suppl 2):S159–68.
6. World Health Organization. Molecular line probe assays for rapid screening of patients at risk of multidrug-resistant tuberculosis (MDR-TB). Geneva: World Health Organization, 2008.
7. Исакова Ж.Т., Гончарова З.К., Юсупова Э.У. и др. Эффективность применения биочип-анализа для быстрого молекулярно-генетического определения мульти-резистентных штаммов *M. Tuberculosis*// Молекулярная медицина. – 2008. -№1. – С.51-55.
8. Crudu V, Stratan E, Romanenco E, Allerheiligen V, Hillemann A, Moraru N. First evaluation of an improved assay for molecular genetic detection of tuberculosis as well as RMP and INH resistances. *J Clin Microbiol* 2012; Epub ahead of print, doi: 10. 1128/JCM. 05903-11.
9. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Updated guidelines for the use of nucleic acid amplification tests in the diagnosis of tuberculosis. *Morbidity and Mortality Weekly Report* 2009; 58(1):7–10.
10. GenoType® MTBDRplus.. Руководство к пользованию. IFU-304A-02. Молекулярно-генетическое исследование для идентификации комплекса *M. Tuberculosis* и определение его устойчивости к Рифампицину и Изониазиду в клинических образцах и культивированных образцах. 02.2012. 14 стр.

Рецензент: д.м.н. Китаев М.Н.