

*Калмамбетова Г., Токтогонова А.А., Такиева К.*

**ТУБЕРКУЛЕЗДУН МИКОБАКТЕРИЯЛАРЫН СЕЗГИЧ ТЕСТТЕРИН  
ХPERT-MTB/RIF МЕНЕН САЛЫШТЫРУУ**

*Калмамбетова Г., Токтогонова А.А., Такиева К.*

**СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ТЕСТОВ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ  
МИКОБАКТЕРИЙ ТУБЕРКУЛЕЗА С ХPERT-MTB/RIF**

*G. Kalmambetova, A. Toktogonova, K. Takieva*

**COMPARATIVE ANALYSIS OF TESTS OF MEDICINAL SENSITIVITY OF  
MYCOBACTERIA OF TUBERCULOSIS**

УДК:616.24-002.5-078:576.809.55

*Хpert-MTB/Rif менен фенотипикалык методдордун туберкулездун микобактерияларынын рифампицинге болгон туруктуулугун аныктоодогу төп келиши жакшы натыйжаларды көрсөттү (90-91%), анын ичинде Хpert-MTB/Rif жана LPA – эң жогорку төп келүүсүн көрсөттү – 94%. Хpert-MTB/Rif туберкулездун микобактерияларынын жана рифампицинге болгон туруктуулугун аныктоодо жакшы төп келүүсүн көрсөттү.*

**Негизги сөздөр:** *Хpert-MTB/Rif, фенотипикалык методдор, туберкулез бактериясынын рифампицин-туруктуулугу.*

*Совпадение ТЛЧ для рифампицин-устойчивости между Хpert-MTB/Rif и фенотипическими методами диагностики ТЛЧ показали хорошую результативность (90-91%), Хpert-MTB/Rif и LPA высокое совпадение обнаружения МБТ – в 94%. Хpert-MTB/Rif показал хорошее совпадение в выявлении как МБТ, так и рифампицин-резистентности туберкулеза легких при рутинной клинической практике.*

**Ключевые слова:** *Хpert-MTB/Rif, фенотипические методы, рифампицин-резистентность МБТ*

*The coincidence of DST for RIF stability between Хpert-MTB / Rif and phenotypic diagnostic methods (culture studies on liquid and solid media - MGIT and LJ) of DST showed good results (90-91%), Хpert-MTB / Rif and LPA high coincidence of MBT detection - in 94%. Хpert-MTB / Rif showed good agreement in the detection of both MBT and rifampicin resistance of pulmonary tuberculosis in routine clinical practice.*

**Key words:** *Хpert-MTB / Rif, phenotypic methods, rifampicin resistance MBT*

**Введение**

Кыргызстан страна в Центральной Азии, население которого составляет 6 млн. [1]. По данным ВОЗ, Кыргызстан является одной из 27 стран мира с высоким бременем МЛУ ТБ. В 2011 году, МЛУ-ТБ составила 26,4% среди вновь зарегистрированных случаев, в то время как МЛУТБ среди ранее леченных больных составила 54,6% [2, 4]. По оценкам ВОЗ, заболеваемость Кыргызстана туберкулеза в 2013 году составил 141 случаев на 100000 человек [3].

Для снижения уровня ТБ и МЛУ ТБ случаев, а также для раннего выявления и раннего начала лечения в 2010 году ВОЗ инициировала и рекомендовала использование быстрого молекулярного диагностического теста - анализ ХpertMTB / RIF, в режиме реального времени методом ПЦР. С тех пор 104 стран, включая Кыргызстан, ввели Хpert в клиническую практику (5). В Кыргызстане технология Хpert была впервые введена в пенитенциарной системе в 2011 г., а в июле 2012 года он был внедрен проектом USAID «Качественное Здравоохранение» на первичный уровень здравоохранения.

Кыргызстан осуществляет сбор данных о результатах исследований Хpert из лабораторий с момента ее реализации. Был сделан анализ экономической эффективности ее реализации [6] и диагностической точности у мигрантов среди населения [7]. Тем не менее, анализ на национальном уровне еще не было выполнено.

**Цели исследования** состояла в том, чтобы проанализировать результаты исследований Хpert, его сравнение с результатами исследований LPA, MGIT и LJ.

**Материалы и методы:** Для анализа результатов тестирования Хpert был разработан ретроспективный протокол исследования и утвержден комитетом по биоэтике Министерства здравоохранения. Данные для исследования были использованы из 8 лабораторий, а также в 2 референс лабораториях. В этих учреждениях анализ Хpert используется в качестве теста параллельно с микроскопией мазка патологического материала.

**Исследуемая популяция:** Исследование включал в себя результаты испытаний пациентов > 18 лет, которые прошли через диагностический алгоритм ТБ, утвержденный НТП. По данным клинического протокола НТП по ТБ (8)к тестированию по Хpert направляются следующие пациенты: с кашлем более двух недель с лихорадкой; ночные поты и потеря веса; с ТБ с (+) результатом мазка мокроты или с (-) результатом, но подозрительными рентгенологическими признаками на ТБ; повторно леченые случаи ТБ; контакты ТБ или больными МЛУТБ; с

тяжелыми клиническими состояниями; ВИЧ-инфицированные или с неизвестным ВИЧ-статусом, но в состоянии высокого риска, мигранты и заключенные.

Одновременно были проведены исследования образцов мокроты микроскопией мазка, анализом Xpert, культуральным исследованием генотип MTBDRplus анализом (LPA или Хайн-тест), фенотипическими тестами лекарственной чувствительности (ТЛЧ) к препаратам в твердой (LJ) и жидкой (MGIT) средах. ТЛЧ для первого и второго ряда препаратов были проведены в национальных референс лабораториях страны, которые участвуют в сети ВОЗ по обеспечению качества, предоставляемых супранациональными лабораториями (СНЛ) в Борстель и Гаутинг в Германии.

**Статистический анализ:** Сравнение выявления МТВ и ТЛЧ были рассчитаны между анализом Xpert и методом LPA. Чувствительность и специфичность были рассчитаны для определения результатов МБТ и времени с использованием обычных культуральных методов (методы MGIT и LJ). Мы также рассчитывали 95% доверительные интервалы с использованием биномиального метода Вильсона. Графики и статистические анализы были выполнены в программном обеспечении STATA, версия 14.0 (STATA Corporation LP, CollegeStation, TX) и MS Excel 2010.

**Результаты:** Сравнение между анализом Xpert и существующими методами (LPA, MGIT и LJ) проводили для каждого отдельного пациента, связывая Xpert и основные наборы данных из двух референс лабораторий. Проанализированы результаты исследований Xpert, сравнение Xpert с результатами исследований LPA (Hain-test), MGIT и LJ, а также использование Xpert для начала лечения ЛУ ТБ (табл.1). Сравнение между анализом Xpert и

существующими методами (LPA, MGIT и LJ) проводили для каждого отдельного пациента.

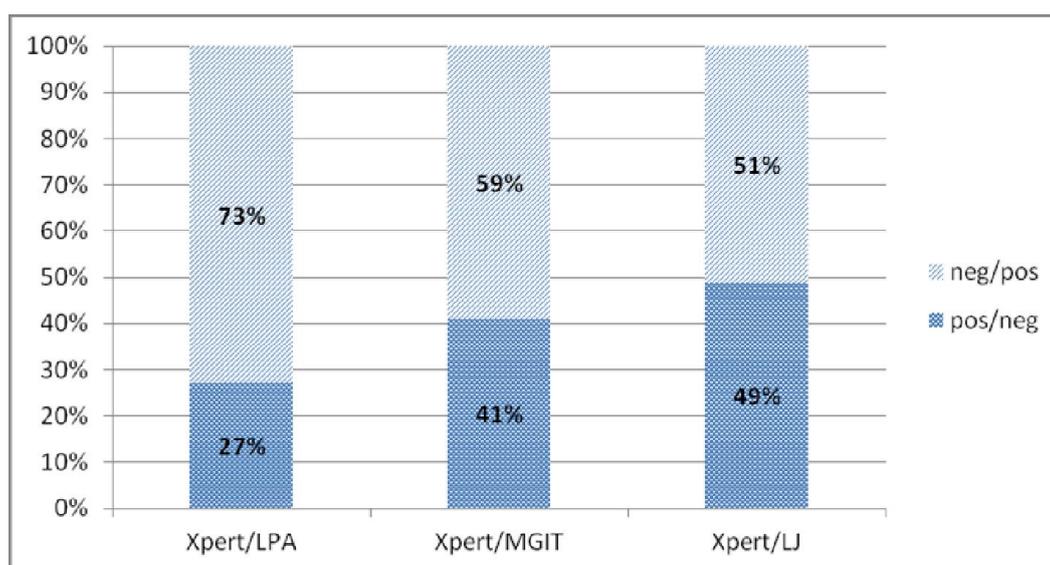
Ретроспективные исследования включали результаты исследований 2743 (60,2%) мужчин и 1817 (39,8%) женщин, чей средний возраст составлял 36 лет (МКИ: 25-49). Больные были с ТБ легких, чьи образцы мокрот были представлены в период с июля 2012 по декабрь 2014 г. В общей сложности были доступны и анализировали на наличие МБТ результаты исследований 5612 пациентов на Xpert, LPA, MGIT и LJ методами. Результаты ТЛЧ на рифампицин анализировали у 2330 пациентов, прошедших в дополнение к результатам тестов Xpert исследования методами LPA, MGIT и LJ.

**Таблица 1 – Результаты исследований пациентов Xpert МТВ / RIF в сравнении с другими методами выявления ЛУ ТБ**

Лабораторные тесты на период исследования	n МТВ (+/-)	n Rif(+/-)
Xpert МТВ/RIF	2217	1165
Xpert МТВ/RIF + LPA*	661	387
Xpert МТВ/RIF + MGIT*	1554	414
Xpert МТВ/RIF + LJ*	1180	364
Итого	5612	2330

Примечание: \* методы, выполняемые в дополнение к Xpert  
n – количество исследований

**Сравнение МБТ:** Сравнение результатов Xpert теста с методом LPA, было обнаружено, что 530 из 559 оказались положительными на обоих методах на наличие МБТ, следовательно, совпадение достигнуто на 93,9%.



**Рис.1.** Дискордантные результаты при диагностике МБТ

Из 102 результатов 91 были отрицательными при обоих методах исследования, и совпадение составило 89,2%. Несовпадение результатов исследований на обоих методах составила 6,05% (40/661) в целом. "Ложноотрицательные" результаты наблюдались в основном при Xpert - 72,5% (29/40), в то время как "ложноположительных" случаев были в 27,5% (11/40) (рис.1).

Результаты 2734 пациентов Xpert MTB также сравнивали с MGIT и LJ методами на наличие микобактерий. Когда Xpert сравнивали с MGIT, то Xpert правильно определил 922 положительных результатов из 1000 (92,2%) и подтвердили 499 отрицательные результаты из 554 (90,1%) микобактерий культур. Что касается LJ, чувствительность Xpert составила 93,4% (655/701) и специфичность - 90,8% (435/479). Xpert и MGIT в целом несовпадения на наличие микобактерии показал 8,5% (133/1554) и Xpert с LJ - 7,6% (90/1180) (табл. 2).

**Таблица 2 - Сравнение Xpert-MTB/RIF с MGIT и LJ по обнаружению МБТ**

методы	n	Чувствительность % (n)	Специфичность % (n)	Совпадение в целом % (n)
MGIT	1554	92.2% (922/1000)	90.0% (499/554)	91.4% (1421/1554)
LJ	1180	93.4% (655/701)	90.8% (435/479)	92.4% (1090/1180)

Для сравнения ТЛЧ, в общей сложности 2330 образцов, которые были протестированы Xpert, также были протестированы с помощью LPA, и / или MGIT и LJ для рифампицин-устойчивости. 131 из 150 Xpert рифампицин-устойчивых результатов исследований, совпадающих с LPA (87,3%) и 220 из 237 были рифампицин-чувствительными (92,8%). Методы Xpert и LJ продемонстрировали чувствительность 90,9% (120/132) и специфичность 91,4% (212/232) для устойчивости к рифампицину. В случае MGIT, то Xpert продемонстрировал чувствительность 89,3% (108/121) и специфичность 90,1% (264/293).

Доля рифампицин различных результатов исследований между Xpert и LPA было 6,05% (40/661) от общего ТЛЧ имеющихся результатов, где в качестве Xpert и MGIT несовпадения составила 8,5% (133/1554) и Xpert с LJ - 7,6% (90/1180). В основном наблюдались различия между методами Xpert и MGIT 69,0% (29/42) от всех несоответствующих результатов, представленных как «ложно-резистентный».

Высокая доля не совпадающих образцов микроты 32,7% (36/110) были представлены в пределах 4 – 10 дней от Xpert для культуры и ТЛЧ в референс-лабораториях.

**Обсуждение:** Выводы из исследований многоцентровой реализации, которые включали ТБ эндемичных стран, как Южная Африка, Перу, Индии, Азербайджана, Уганды и Республика Филиппины продемонстрировали отличную производительность анализа Xpert-MTB/Rif [9].

**Таблица 3 - Сравнение различных результатов исследований по Xpert MTB/RIF к рифампицину, n=2330**

Методы ТЛЧ	Xpert MTB/RIF		Совпадение в целом, %
	Rif-устойчивость	Rif-чувствительность	
LPA	87.3% (131/150)	92.8% (220/237)	90.7% (351/387)
95% ДИ %	81.0 – 91.7	88.8 – 95.4	87.3 – 93.2
MGIT	89.3% (108/121)	90.1% (264/293)	89.8% (372/414)
95% ДИ %	82.4 – 93.6	86.1 – 93.0	86.5 – 92.4
LJ	90.9% (120/132)	91.4% (212/232)	91.2% (332/364)
95% ДИ %	84.7 – 94.7	87.0 – 94.3	87.8 – 93.7

Что касается обнаружения МБТ, результаты нашего исследования показали более высокие результаты (чувствительность 91,4% MGIT / Xpert-MTB/Rif и 92,4% для LJ) по сравнению с результатами 89%, которые сообщили Марлоу Е.М. и др. [11].

Совпадение ТЛЧ для РИФ-устойчивости между Xpert-MTB/Rif и фенотипическими методами диагностики (культуральные исследования на жидких и твердых средах – MGIT и LJ) ТЛЧ показали хорошую результативность (90-91%). Это было установлено близко к результатам исследования, проведенные в Индонезии [13], где было сообщено как 89,3%.

Большинство несоответствующих случаев при обнаружении устойчивости к рифампицину с помощью Xpert-MTB / RIF и фенотипических методов (MGIT и LJ) были обнаружены устойчивость к рифампицину с помощью Xpert-MTB/Rif, но сохранение чувствительности МБТ фенотипическими методами. Аналогичные данные были найдены и в других исследованиях, где ДНК-последовательность гена groV выявлена низкая устойчивость на уровне, так называемых "молчащих мутаций", которые не могут быть обнаружены с помощью фенотипических методов, с использованием стандартных концентраций противотуберкулезных препаратов [14, 15, 16, 17].

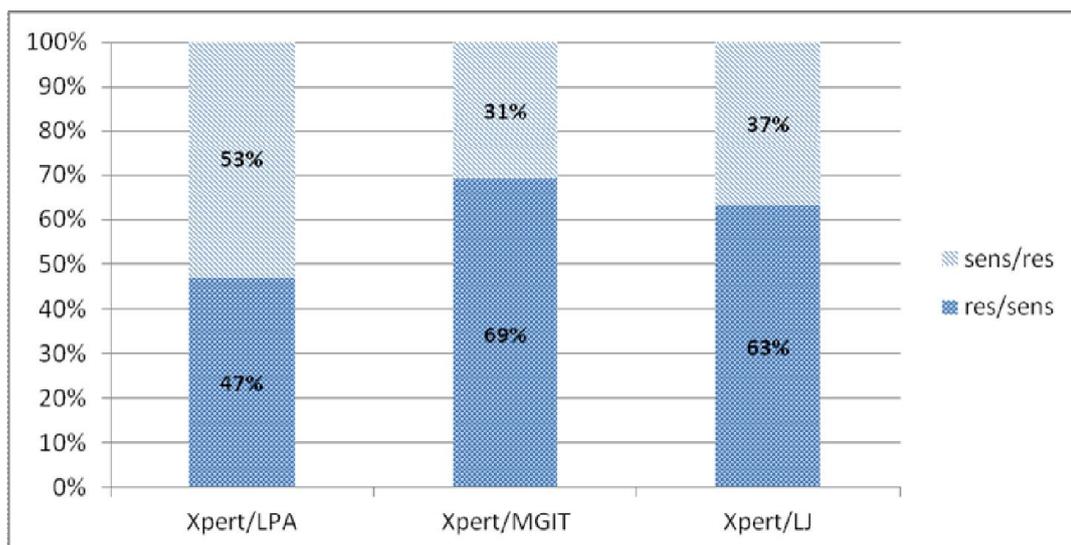


Рис. 2. Дискордантные результаты ТЛЧ по выявлению рифампицина

**Вывод.** Наше исследование показывает, что анализ Xpert-MTB/Rif показал хорошее совпадение в выявлении как МБТ, так и рифампицин-резистентности туберкулеза легких при рутинной клинической практике. Хотя Xpert-MTB/Rif показал большую разницу в инициации времени до лечения в течение рассматриваемого периода, необходимы дальнейшие усилия для сокращения задержек в иницировании лечения МЛЮ / ТБ на один-два дня. Образцы Xpert-MTB/Rif мокроты, которые должны проверяться подтверждающим тестом должны быть направлены НРЛ в тот же день. Рифампицина-противоречивые случаи Xpert-MTB/Rif нуждаются в дальнейшем углубленном исследовании.

**Литература:**

- World Health Organization. Global tuberculosis report, 2015. WHO/HTM/TB/2015.22. Geneva, Switzerland: WHO, 2015.
- United Nations Statistics Division. World Statistics Pocketbook: Kyrgyzstan. New York, NY, USA: UN, 2016.
- Ошибка! Недопустимый объект гиперссылки.** Accessed November 2016.
- World Health Organization. Towards universal access to diagnosis and treatment of multidrug-resistant and extensively drug-resistant tuberculosis by 2015: WHO progress report 2011. WHO/HTM/TB/2011.3. Geneva.
- World Health Organization. TB profile: Kyrgyzstan. Geneva: WHO, 2014. [http:// apps. who. int/ iris/ bitstream/ 10665/ 191102/ 1/ 9789241565059\\_eng](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/191102/1/9789241565059_eng).
- World Health Organization. Rapid implementation of the Xpert MTB/RIF diagnostic test: technical and operational 'how-to' practical considerations. WHO/HTM/TB/2011.2. Geneva, Switzerland: WHO, 2011.
- Barmankulova A, Higuchi M, Sarker M A B, Alim M A, Hamajima N. TB and rifampicin resistance among migrants in Kyrgyzstan: detection by a new diagnostic test. Nagoya J Med Sci 2015; 77: 41–49.
- Ministry of Health of Kyrgyz Republic. Summary of clinical protocols on tuberculosis. Bishkek, Kyrgyzstan: National Center of Phthisiatry, 2014.

- Boehme C. C., Nicol M. P., Nabeta P., et al. Feasibility, diagnostic accuracy, and effectiveness of decentralized use of the Xpert-MTB/RIF test for diagnosis of TB and MDR TB: a multicenter implementation study. Lancet 2011; 377: 1495–1505.
- Steingart K. R., Sohn H., Schiller I., et al. Xpert MTB/RIF assay for pulmonary tuberculosis and rifampicin resistance in adults. Cochrane Database Syst Rev 2013; (1): 1–131.
- Boyles T H, Hughes J, Cox V, et al. False-positive Xpert MTB/RIF assays in previously treated patients: need for caution in interpreting results. Int J Tuberc Lung Dis 2014; 18: 876–878.
- Van Kampen S C, Susanto N H, Simon S, et al. Effects of introducing Xpert MTB/RIF on diagnosis and treatment of DR TB patients in Indonesia: a pre-post intervention study. PLOS ONE 2015; 10: e0123536.
- Ho J, Jelfs P, Sintchenko V. Phenotypically occult MDR TB dilemmas in diagnosis and treatment. J Antimicrob Chemother 2013; 68: 2915–2920.
- Ocheretina O., Escuyer V.E., Mabou M.M., et al. Correlation between genotypic and phenotypic testing for resistance to rifampin in Mycobacterium tuberculosis clinical isolates in Haiti: investigation of cases with discrepant susceptibility results. PLOS ONE 2014; 9: e90569.
- Van Kampen S C, Tursynbaeva A, Koptleuova A. Effect of introducing Xpert MTB/RIF to test and treat individuals at risk of MDR TB in Kazakhstan: a prospective cohort study. PLOS ONE 2015; 10: e0132514.
- Narasimooloo R, Ross A. Delay in commencing treatment for MDR TB at a specialized TB treatment centre in KwaZulu-Natal. S Afr Med J 2012; 102: 360–362.
- Van Rie A, Mellet K, John M A, et al. False-positive rifampicin resistance on Xpert MTB/RIF: case report and clinical implications. Int J Tuberc Lung Dis 2012; 16: 206–208.
- Lawn S D, Brooks S V, Kranzer K, et al. Screening for HIV associated tuberculosis and rifampicin resistance before antiretroviral therapy using the Xpert MTB/RIF assay: a prospective study. PLOS MED 2011; 8: e1001067.

Рецензент: к.м.н. Азыкова А.Б.