

Материалы международной научно-практической конференции «Мультирезистентный туберкулез: новые научные достижения и их практическое применение» (г. Минск, 17-18 ноября 2016 года), Минск, 2016. С.78-83.

Оценка эффективности ускоренных бактериологических и молекулярно-генетических методов в диагностике и лечении туберкулеза с множественной лекарственной устойчивостью

Яцкевич Н.В., Суркова Л.К., Скрыгина Е.М., Николенко Е.Н., Залуцкая О.М.
ГУ «Республиканский научно-практический центр пульмонологии и фтизиатрии», г. Минск

Туберкулез с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ-ТБ) микобактерий туберкулеза (МБТ) является серьезной проблемой здравоохранения в Республике Беларусь и во многих регионах мира и представляет серьезную угрозу в борьбе с туберкулезом в национальном и глобальном масштабе. В последние годы широкое внедрение в республике быстрых бактериологических и молекулярно-генетических методов диагностики МЛУ-ТБ требуют оценки вклада этих методов в отношении своевременной диагностики, начала адекватного лечения, длительности и результатов лечения.

Цель работы – оценить вклад ускоренных бактериологических и молекулярно-генетических методов в своевременность диагностики и лечения МЛУ-ТБ.

Материалы и методы. У 108 пациентов с туберкулезом (медиана возраста 45,0 [25; 75 перцентиль 31,0; 54,0] лет, 39 женщин, 69 мужчин), находившихся на учете в противотуберкулезных учреждениях Республики Беларусь, изучены данные Государственного регистра «Туберкулез». Проведена сравнительная оценка своевременности, длительности диагностики и лечения пациентов с МЛУ-ТБ, эффективности бактериологического (в том числе ускоренного с использованием автоматизированной бактериологической системы Bactec MGIT 960) и молекулярно-генетических (тест Xpert MTB/Rif, амплификации и гибридизации с линейными зондами (LPA) методов исследования клинического материала в диагностике МЛУ-ТБ.

Все пациенты были разделены на 3 группы. Основную группу 1 составили 29 пациентов, которым выполнялись исследования клинического материала с использованием автоматизированной бактериологической системы Bactec MGIT 960 и традиционных бактериологических методов. Основную группу 2 составили 62 пациента, которым выполнялись исследования клинического материала с использованием молекулярно-генетических методов (LPA и/или Xpert MTB/Rif) и традиционных бактериологических методов. Контрольная группа состояла из 17 пациентов, которым выполнялись только традиционные бактериологические методы исследования клинического материала.

Статистическая обработка материала исследования выполнялась на персональном компьютере с помощью пакета Statistica for Windows 10, USA.

Результаты. При проведении анализа данных анамнеза, показателей клинического обследования пациентов с туберкулезом легких установлено, что изменения в легких у 39 пациентов были выявлены при обращении за медицинской помощью, у 69 пациентов – при проведении профилактической флюорографии.

Клинические формы туберкулеза легких у пациентов в основных и контрольной группе представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Клинические формы туберкулеза легких у пациентов в основных и контрольной группе, абс. число (% [95% ДИ])

Группы пациентов	Кол-во пациентов/мужчин	Клиническая форма туберкулеза						Фаза распада
		Инфильтративный	Очаговый	Подострый диссеминированный	Милиарный	Туберкулема	Казеозная пневмония	
Основная группа 1	29/19 (65,5 [45,7; 82,1])	25 (86,2 [68,3; 96,1])	0 (0)	2 (6,9 [0,9; 22,8])	0 (0)	1 (3,4 [0,1; 17,7])	0 (0)	6 (20,7 [8,0; 39,7])
Основная группа 2	62/39 (62,9 [49,7; 74,8])	52 (83,9 [72,3; 92,0])	3 (4,8 [1,0; 13,5])	4 (6,5 [1,8; 15,7])	1 (1,6 [0,04; 8,7])	1 (1,6 [0,04; 8,7])	1 (1,6 [0,04; 8,7])	30 (48,4 [35,5; 61,4])
Контрольная группа	17/11 (64,7 [38,3; 87,4])	13 (76,5 [50,1; 93,2])	2 (11,8 [1,5; 36,4])	1 (5,9 [0,2; 28,7])	0 (0)	1 (5,9 [0,2; 28,7])	0 (0)	4 (23,5 [6,8; 49,9])
Всего	108/69 (63,9 [54,1; 72,9])	90 (83,3 [74,9; 89,8])	5 (4,6 [1,5; 10,5])	7 (6,5 [2,7; 12,9])	1 (0,9 [0,02; 5,1])	3 (2,8 [0,6; 7,9])	1 (0,9 [0,02; 5,1])	40 (37,0 [27,9; 46,9])

Как видно из таблицы 1, основные и контрольная группы были сопоставимы по клиническим формам туберкулеза, а так же по полу и возрасту.

Медиана и процентиля возраста в основной группе 1, основной группе 2 и контрольной группе оставила 47 [32; 51], 46,5 [31; 56] и 39 [30; 45] соответственно. В 83,3% случаев у пациентов был выявлен инфильтративный туберкулез легких.

Методом бактериоскопии мокроты и другого клинического материала по Цилю-Нильсену при выявлении пациентов с туберкулезом удалось обнаружить КУМ у 35 (32,41%) человек. С использованием теста Xpert MTB/Rif ДНК микобактерий обнаружена у 27 из 44 пациентов с туберкулезом, что составило 61,36%. При этом одновременно у 24 из 27 пациентов получен результат лекарственной устойчивости к рифампицину, у 3 - устойчивость либо чувствительность не определена (таблица 2).

Таблица 2 - Сравнительный анализ эффективности и средней скорости выделения возбудителя туберкулеза при использовании разных методов исследования

Метод исследования	Количество пациентов	Положительный результат		Отрицательный результат		Медиана сроков выделения МБТ [25; 75 процентиля]	Медиана сроков выполнения ГЛЧ [25; 75 процентиля]
		абс	% [95% ДИ]	абс	% [95% ДИ]		
Посев	108	104	96,3 [92,7; 99,7]	4	3,7 [0,1; 7,3]	32 [23; 40]**	57 [49;66] **
Bactec MGIT 960	106	88	83,0 [75,9; 90,2]	16	15,1 [8,3; 21,9]	19 [23; 29]**	34 [27;46] **
Xpert MTB/Rif	44	27	61,3 [47,0; 75,8]	17	38,7 [24,3; 53,0]	1 [1; 1]**	1 [1; 1] **
Бактериоскопия	108	35	32,4 [23,6; 41,2]	72	66,7 [57,8; 75,6]	1 [1; 1]	-

Примечание - достоверность различий показателей медианы сроков выявления в посевах, при использовании Bactec MGIT 960 и Xpert MTB/Rif: ** - $p < 0,01$

При культуральном исследовании с использованием плотной среды рост возбудителя туберкулеза получен у 104 (96,3%) из 108 пациентов. В системе Bactec MGIT 960 выделена культура МБТ у 88 (83,02%) пациентов из 106, у 2 пациентов результат не оценен из-за контаминации образца.

Медиана длительности выделения возбудителя на жидкой питательной среде Bactec MGIT 960 составила 19 суток, культивирования на плотной питательной среде Левенштейна-Йенсена - 32 дня. Медиана

продолжительности теста лекарственной чувствительности (ТЛЧ) МБТ культуральным методом составила 57 суток, ТЛЧ в системе Bactec MGIT 960 - 34 дня.

Оценка эффективности Xpert MTB/Rif у пациентов с туберкулезом с положительным и отрицательным мазком мокроты с окраской по Цилю-Нильсену представлена в таблице 3.

Таблица 3 - Оценка эффективности Xpert MTB/Rif у пациентов с туберкулезом с положительным и отрицательным мазком мокроты с окраской по Цилю-Нильсену, абс. число (% [95% ДИ])

Число пациентов	Выполнено Xpert MTB/Rif		Результат исследований			
			КУМ+ GX+	КУМ- GX-	КУМ- GX+	КУМ+ GX-
Число пациентов (человек)						
108	абс	44	10	15	17	2
	%	40,7 [31,4; 50,6]	22,7 [11,5; 37,8]	34,1 [20,5; 49,9]	38,6 [24,4; 54,5]	4,5 [0,6; 15,5]

Как видно из таблицы 3, КУМ+ в мазках клинического материала было установлено у 12 пациентов из 44, что составило 27,3%.

Xpert MTB/Rif оказался положительным у 27 (61,4%) из 44 пациентов, совпадение результатов бактериоскопии и Xpert MTB/Rif составило 56,8%. У 2 пациентов при отрицательных результатах теста Xpert MTB/Rif обнаружены в мазках мокроты КУМ, у 17 пациентов с положительным результатом выделения ДНК МБТ, в мазках мокроты КУМ не обнаружены.

Преимущество использования теста Xpert MTB/Rif для диагностики МЛУ-ТБ очевидно. Медиана срока получения результата составила 1 день.

Срок назначения адекватного лечения при проведении культурального исследования составил 86,9 дней, с использованием системы Bactec MGIT 960 71,4 дня (таблица 4).

Сроки с момента выявления пациента до регистрации исхода излечен в основной группе 1 составили 656,36, в основной группе 2 - 622,59, в контрольной группе – 663,78 дня.

Применение молекулярно-генетических методов позволяет сократить сроки наблюдения пациентов на 41,2 дня.

Таблица 4 – Сроки установления диагноза МЛУ-ТБ, начала лечения, наблюдения пациентов с зарегистрированным исходом – излечен, среднее± стандартная ошибка среднего

Группы пациентов	Количество пациентов	Среднее время с момента сдачи мокроты до результата ТЛЧ, дни	Среднее время с момента сдачи мокроты до начала лечения, дни	Среднее время с момента выявления МЛУ-ТБ до исхода, дни
Основная группа 1	14	54,29±4,88*	71,43±7,81	656,36±13,50
Основная группа 2	29	36,83±3,46**	52,38±5,06**	622,59±16,28
Контрольная группа	9	80,56±11,34	86,89±10,72	663,78±21,85

Примечание - достоверность различий показателей в основных и контрольной группе: *- $p < 0,05$, ** - $p < 0,01$

Как видно из таблицы 4, при использовании ускоренных и молекулярно-генетических методов сокращаются сроки с момента выявления пациента (сдачи мокроты) до получения ТЛЧ (в 1,5 и 2,2 раза), а так же сокращаются сроки с момента сдачи мокроты до начала адекватного лечения (в 1,2 и 1,7 раза соответственно).

Проведена оценка эффективности и длительности лечения пациентов, основных и контрольной группах пациентов.

Результат лечения пациентов с туберкулезом в основных и контрольной группе представлен в таблице 5.

Таблица 5 – Результат лечения пациентов с туберкулезом в основных и контрольной группе, абс. число (% [95% ДИ])

Группы пациентов	Кол-во пациентов	Излечен	Лечение завершено	Неудача	Отрыв	Смерть от туберкулеза	Смерть от других причин	Выбыл за пределы РБ
Основная группа 1	29	14 (48,3 [29,5; 67,5])	7 (24,1 [10,3; 43,5])	1 (3,4 [0,1; 17,7])	2 (6,9 [0,9; 22,8])	2 (6,9 [0,9; 22,8])	1 (3,4 [0,1; 17,7])	2 (6,9 [0,9; 22,8])
Основная группа 2	62	29 (46,8 [34,0; 60,0])	12 (19,4 [10,4; 31,3])	5 (8,1 [2,7; 17,8])	7 (11,3 [4,7; 21,9])	5 (8,1 [2,7; 17,8])	4 (6,5 [1,8; 15,7])	0
Контрольная группа	17	9 (52,9 [27,8; 66,0])	3 (17,6 [3,8; 43,4])	1 (5,9 [0,2; 28,7])	2 (11,8 [1,5; 36,4])	0	2 (11,8 [1,5; 36,4])	0
Всего	108	51 (47,2 [37,5; 57,1])	22 (20,4 [13,2; 29,2])	7 (6,5 [2,7; 12,9])	12 (11,1 [5,9; 18,6])	7 (6,5 [2,7; 12,9])	7 (6,5 [2,7; 12,9])	2 (1,9 [0,2; 6,5])

Как видно из таблицы 5, в основной группе 1 исходы лечения – излечен и лечение завершено зарегистрировано у 21 (72,4%) пациента из 29, в основной группе 2 – у 41 (66,1%) из 62, в контрольной группе – у 12 (70,6%) из 17. Существенного различия по показателю успешности лечения (излечен и лечение завершено) в обследуемых группах не отмечено. Обращает внимание высокий процент отрыва от лечения (в целом 11,1%).

При проведении сравнительного анализа результатов ТЛЧ МБТ с использованием плотной питательной среды, системы Bactec MGIT 960, метода LPA установлено, что при ТЛЧ МБТ из одного образца с использованием плотной питательной среды, системы Bactec MGIT 960 результаты чувствительности/устойчивости к изониазиду и рифампицину совпали в 36 (100%) случаев из 36, результаты чувствительности/устойчивости к этамбутолу - в 23 (63,9%) случаев из 36.

При проведении ТЛЧ МБТ из разных образцов с использованием плотной питательной среды, системы Bactec MGIT 960 результаты чувствительности/устойчивости к изониазиду и рифампицину совпали в 21 (95,5%) случаев из 22, результаты чувствительности/устойчивости к этамбутолу - в 15 (68,2%) случаев из 22.

При оценке совпадения результатов теста лекарственной чувствительности МБТ с использованием плотной питательной среды и методом LPA установлено, что результаты чувствительности/устойчивости к изониазиду совпали в 37 (100%) случаев из 37, чувствительности/устойчивости к рифампицину - в 36 (97,3%) случаев из 37, чувствительности/устойчивости к этамбутолу - в 16 (43,2%) случаев из 37.

Сравнительный анализ совпадения результатов ТЛЧ МБТ с использованием системы Bactec MGIT 960 и методом LPA показал высокий процент совпадения чувствительности/устойчивости к изониазиду и рифампицину (в 100%, 29 случаев из 29), результаты чувствительности/устойчивости к этамбутолу совпали в 19 (65,5%) случаев из 29.

Заключение. Таким образом, применение молекулярно-генетических методов позволяет сократить сроки наблюдения пациентов на 41,2 дня. При использовании ускоренных и молекулярно-генетических методов сокращаются сроки с момента выявления пациента (сдачи мокроты) до получения ТЛЧ (в 1,5 и 2,2 раза), а так же сокращаются сроки с момента сдачи мокроты до начала адекватного лечения (в 1,2 и 1,7 раза соответственно). Частота совпадений результатов ТЛЧ МБТ к противотуберкулезным лекарственным средствам при проведении ускоренного бактериологического и молекулярно-генетических методов по сравнению с классическим высокая и составляет при определении чувствительности к изониазиду 98,3% и 100,0%, рифампицину - 98,3% и 97,3% соответственно. Частота совпадений результатов ТЛЧ МБТ к этамбутолу при проведении ускоренного бактериологического и молекулярно-генетических методов по сравнению с классическим составляет 65,5% и 43,2% соответственно.