

АНАЛИЗ XPERTMTB/RIF В ДИАГНОСТИКЕ ВНЕЛЕГОЧНЫХ ФОРМ ТУБЕРКУЛЕЗА В КЫРГЫЗСКОЙ РЕСПУБЛИКЕ

Адамбекова А.Д., Адамбеков Д.А., Калмамбетова Г.И.

Кыргызско-Российский Славянский университет,
Кыргызская государственная медицинская академия им. И.К. Ахунбаева,
Бишкек, Кыргызская Республика

Резюме: В Республиканской референс лаборатории НЦФ при помощи анализа XpertMTB/RIF протестировано 87 внелегочных образцов патологического материала. Мы выявили ДНК M.Tuberculosis в 21 случае (25%). ДНК M.Tuberculosis мутацией в гене rpoB, ведущей к развитию резистентности к рифампицину, была выявлена у 4 больных (5%). ТБ с сохраненной чувствительностью к рифампицину обнаружен в 17 случаях (20%).

Ключевые слова: анализ XpertMTB/RIF, M. tuberculosis, ПЦР в реальном времени; внелегочной туберкулез

**КЫРГЫЗ РЕСПУБЛИКАСЫНДА XPERT MTB/RIF АНАЛИЗДИ
ӨПКӨДӨН ТЫШКАРЫ ӨРГАНДАРДЫН КУРГАК УЧУК
ООРУСУН АНЫКТОГОО КОЛДОНУ**

Адамбекова А.Д., Адамбеков Д.А., Калмамбетова Г.И.

Кыргыз-Россия Славян университети,
И.К. Ахунбаев атындагы Кыргыз мамлекеттик медициналык академиясы,
Бишкек, Кыргыз Республикасы

Кыскача мазмуну: Улуттук Фтизиатрия Борборунун Республикалык референс лабораториясында өпкөдөн тышкары органдарынын кургак учугун аныктоого 87 молекула-ген изилдөөсү XpertMTB/RIF өткөрүлдү.

Негизги сөздөр: өпкөдөн тышкары органдарынын кургак учугу, ПЦР, XPERT MTB/RIF.

**XPERT MTB/RIF ASSAY IN DIAGNOSIS OF EXTRA-PULMONARY
TUBERCULOSIS IN THE KYRGYZ REPUBLIC**

Adambekova A.D., Adambekov D.A., Kalmambetova G.I.

Kyrgyz-Russian Slavonic University,
Kyrgyz State Medical Academy named after Ahunbaev I.K.,
Bishkek, Kyrgyz Republic

Summary: The Republican Reference Laboratory by the Xpert MTB/RIF analysis has tested 87 samples of extra-pulmonary pathological materials. We identified the DNA of M. tuberculosis in 21 cases (25%). DNA of M.tuberculosis with a mutation in the gene rpoB, leading to the development of resistance to rifampicin, was found in 4 patients (5%). TB with preserved sensitivity to rifampicin was found in 17 cases (20%).

Key words: Xpert MTB/RIF assay; extra-pulmonary tuberculosis; real-time PCR

Введение

Учитывая, что 9 миллионов новых случаев заболевания и 2 миллиона смертей регистрируется каждый год, заболеваемость туберкулезом (ТБ) остается одной из ведущих проблем здравоохранения во всем мире [1]. В большинстве случаев болезнь поражает легкие, но есть и незначительное количество случаев, около 15%, с внелегочным поражением в странах с низкой заболеваемостью. Есть даже более высокие показатели в регионах с высокой заболеваемостью. У ВИЧ-инфицированных больных часто развивается внелегочный туберкулез, который быстро прогрессирует, если диагноз не поставлен вовремя и не назначено

соответствующее лечение [2].

В Кыргызстане эпидемиологическая ситуация по туберкулезу стабилизировалась, отмечается тенденция к снижению показателей заболеваемости. Как и во многих странах бывшего Советского Союза высока доля внелегочного туберкулеза в структуре заболеваемости, что требует улучшения подхода к диагностике заболевания и улучшения доступа к новейшим методам выявления [3].

За последние 5 лет произошли значительные сдвиги в молекулярных методах выявления туберкулеза и определения устойчивости к противотуберкулезным препаратам. Сейчас во всем мире внедряется и

Таблица 1.

*Расшифровку аббревиатур см. в тексте

	Количество		MTB+/RIF устойчивые		MTB+/RIF чувствительные		MTB -		Не интерпретируемые результаты		RIF неопределенные результаты	
				%		%		%		%		%
Количество внелегочных образцов	87	4	5		17	20	59	68	4	5	3	2

тестируется автоматизированная, работающая на картриджах система, известная под названием Xpert MTB/RIF, использующая метод полимеразной цепной реакции (ПЦР), что позволяет выявить возбудителей туберкулеза определить устойчивость к рифампицину в течение двух часов [4].

Обнаружение микобактерий туберкулеза с использованием нового коммерческого теста, проводимого в режиме реального времени ПЦР (XpertMTB/RIF) рекомендовано для образцов мокроты [5]. За последние 5 лет произошли значительные сдвиги в молекулярных методах выявления туберкулеза и устойчивости к определенным противотуберкулезным препаратам.

Ряд авторов при исследовании образцов ткани, мочи, кала, спинномозговая жидкость (СМЖ) получили подтверждение результатов теста XpertMTB/RIF культуральными методами [6]. Несмотря на то, что в многочисленных публикациях представлены данные о высокой чувствительности и специфичности теста для внелегочных образцов, использование данного метода для выявления ТБ требует валидации [7].

Целью нашего исследования явилось изучение эффективности применения теста XpertMTB/RIF для диагностики внелегочных форм ТБ в условиях Кыргызской Республики.

Материал и методы.

Материалом исследования явились

плевральная жидкость, моча, асцитическая жидкость, спинномозговая жидкость (СМЖ), гной из операционных ран и мазок из зева, взятые у пациентов с внелегочными формами туберкулеза. Поступивший в лабораторию патологический материал, в шкафу биологической безопасности 2-го класса переносился в стерильную полипропиленовую пробирку высокой плотности, после чего подвергался гомогенизации, деконтаминации и концентрации NALC-NaOH модифицированным методом [8]. В полученный осадок объемом 0,5 мл добавляли 1,5 мл реагента (samplereagent) из набора XpertMTB/RIF. Далее тест XpertMTB/RIF был проведен в соответствии с инструкциями производителя - компании Cepheid, Sunnyvale, США [9].

Полученные данные обработаны общепринятыми методами медико-биологической статистики.

Результаты исследования и их обсуждение
В Республиканской референс лаборатории (РРЛ) НЦФ при помощи анализа XpertMTB/RIF протестировано 87 образцов патологического материала. Из которых - 40 образцов плевральной жидкости, 23 мазка из зева, 9 образцов гноя полученных из операционных ран, 8 образцов мочи, 5 образцов СМЖ и 2 образца асцитической жидкости.

Результаты тестирования внелегочных образцов патологического материала тестом

XpertMTB/RIF.

Как видно из табл. 1, в наших исследованиях дезоксирибонуклеиновая кислота (ДНК) *M. Tuberculosis* была обнаружена в 21 случае, что составило 25% от общего количества анализов. ДНК *M. Tuberculosis* мутацией в гене *rpoB*, ведущая к развитию резистентности к рифампицину (MTB+/RIF устойчивые) была выявлена у 4 больных (5%). ДНК *M. Tuberculosis* сохраненной чувствительностью к рифампицину (MTB+/RIF чувствительные) обнаружена в 17 случаях (20%). Количество анализов с не интерпретируемыми результатами составило 5%, что, возможно, объясняется фактом использования материала, контаминированного кровью, который является ингибитором полимеразно-цепной реакции (ПЦР), лежащей в основе XpertMTB/RIF. ДНК *M. Tuberculosis* была определена, но резистентность к рифампицину не детерминирована в 2 случаях, что требует дальнейшего углубленного изучения штамма *M. Tuberculosis*, циркулирующего в регионе.

Заключение

Проведенные нами исследования позволяют сделать заключение, что тест XpertMTB/RIF, являясь высокочувствительным и специфичным методом детекции ДНК *M. Tuberculosis*, может шире применяться для диагностики внелегочных форм туберкулеза.

Литература

1. Dye C., Global epidemiology of tuberculosis. *Lancet*. 367:938-940. 2006.
2. Elmer J. J., The emergence of extensively

drug-resistant tuberculosis: a global health crisis requiring new interventions: Part II: scientific advances that may provide solutions. *Clin. Transl. Sci.* 2:80-84. 2009.

3. О.Н. Отс, Н.Я. Самохин, В.Р. Стрельцов, и др. Видеоторакоскопия в диагностике и лечении экссудативных плевритов. *Проблемы туберкулеза*, №9,- 2001,- С. 34-36.

4. Rapid implementation of the Xpert MTB/RIF diagnostic test: technical and operational „How-to; practical considerations. WHO. 2011.

5. Boehme CC, Nabeta P, Hillemann D, Nicol MP, Shenai S, Krapp F, et al. Rapid molecular detection of tuberculosis and rifampin resistance. *The New England Journal of Medicine*, 2010; Sep; 363(11):1005-15.

6. Doris Hillemann, Sabine Ruesch-Gerdes, Catharina Boehme, Elvira Richter. Rapid molecular detection of extra pulmonary tuberculosis by automated GeneXpert® MTB/RIF system. *J. Clin. Microbiol.* doi:10.1128/JCM.02268-10 JCM Accepts, published online ahead of print on 26 January 2011.

7. B. Malbruny, G. Le Marrec, K. Courageux, R. Leclercq, V. Cattoir. Rapid and efficient detection of *Mycobacterium tuberculosis* in respiratory and non-respiratory samples. *INT J TUBERC LUNG DIS* 15(4):553-555

8. Salman H. Siddiqi, Sabine Rusch-Gerdes. Руководство по работе с Системой BACTEC MGIT 960. FIND, 2006.

9. GeneXpertDxSystem. OperatorManual. SoftwareVersion 4.0. Cepheid 2010.