

ТЕРАПІЯ

УДК 616.24-002.5-078:57.088.7

О.О. Говардовська, О.С. Шевченко*, М.Ф. Новохатська***** Харківський національний медичний університет**** Обласний протитуберкульозний диспансер № 1, м. Харків***МОЖЛИВІСТЬ ОЦІНКИ СТУПЕНЯ НЕБЕЗПЕКИ
ВОГНИЩА ТУБЕРКУЛЬОЗНОЇ ІНФЕКЦІЇ
ГЕНОТИПОВИМ МЕТОДОМ**

Проведено порівняння 142 позитивних результатів посіву на щільних середовищах Левенштейна-Йенсена і молекулярно-генетичні дослідження XpertMBT/RIF. Матеріалом для досліджень було мокротиння, зібране для діагностики нового випадку туберкульозу. В 1-шу групу увійшло 52 результати зі скудним, у 2-гу групу – 40 результатів з помірним та в 3-тю групу – 50 результатів з масивним бактеріовиділенням. Оцінювання позитивного тесту МГ за кількістю копій ДНК було наступним: дуже мало, мало, середня кількість, велика кількість. Xpert MBT / RIF: у 1-й групі 26,9% – негативні результати; 23,1% – дуже мало; 38,5% – мало; 7,7% – середня кількість; 3,8% – велика кількість; у 2-й групі 2,5% – негативні результати; 5,0% – дуже мало; 35,0% – мало; 47,5% – середня кількість; 10,0% – велика кількість; у 3-й групі дуже мало і мало мали по 2,0% результатів; 34,0% – середня кількість; 62,0% – велика кількість. Посів на середовища Левенштейна-Йенсена є більш специфічним і дає можливість додатково виявити більше 10% пацієнтів. Результати кореляційного аналізу дозволяють рекомендувати використання даних генотипового дослідження Xpert MBT/RIF із визначенням кількісної характеристики для прогнозування рівня бактеріовиділення, ранньої оцінки ступеня небезпеки вогнища туберкульозної інфекції, планування заходів епідемічного нагляду та інфекційного контролю.

Ключові слова: туберкульоз, молекулярно-генетичне дослідження, бактеріовиділення, інфекційний контроль.

Вступ

Туберкульоз залишається актуальною медико-соціальною проблемою як України, так і багатьох інших країн, що розвиваються. Незважаючи на поступові покращення, епідеміологічні показники нашої країни майже в 10 разів гірші за показники розвинених країн [1]. За даними ВООЗ, наша країна відноситься до країн з високою поширеністю туберкульозу, а у 2014 р. вперше увійшла до п'ятірки країн світу з найвищим тягарем мультирезистентного туберкульозу [2]. Така ситуація вказує на необхідність оптимізації роботи з виявлення, діагностики, лікування та профілактики туберкульозу.

Локалізація та активність туберкульозного процесу, масивність бактеріовиділення міко-

бактерій туберкульозу, їх резистентність до протитуберкульозних препаратів є основними критеріями, що визначають небезпеку хворого. Окрім того, беруться до уваги сімейно-побутові умови пацієнта, його соціальний статус та поведінка, загальна санітарна грамотність [3]. Основним епідеміологічним фактором, що впливає на розвиток захворювання, особливо у дітей раннього віку, залишається контакт з хворим у сім'ї [4, 5]. Ступінь небезпеки вогнища туберкульозної інфекції, тобто місця проживання хворого, впливає на санітарні заходи у житлі пацієнта та на заходи інфекційного контролю в протитуберкульозному чи іншому лікувально-профілактичному закладі, де знаходився хворий. Оптимальною профілактикою «суперін-

© О.О. Говардовська, О.С. Шевченко, М.Ф. Новохатська, 2017

фекції» у стаціонарі є дотримання інфекційного контролю: хворі з різними формами туберкульозу та різними профілями резистентності мікобактерій туберкульозу повинні госпіталізуватися у різні відділення із боксованими палатами. У палатах повинні знаходитись хворі з однаковим профілем резистентності мікобактерій туберкульозу (і відповідно отримувати однакову схему хіміотерапії) та ще й приблизно з однаковим терміном від початку лікування [4].

Згідно Наказу МОЗ України від 21.05.07 р. № 250 бактеріовиділення оцінюють за результатами культурального дослідження на щільні середовища Левенштейна-Йенсена, що вже багато десятиліть залишається «золотим стандартом» діагностики туберкульозу. Посів є високочутливим і специфічним методом, що дає позитивний результат при наявності від 20 до 100 мікробних життєздатних клітин в 1 мл матеріалу. Основним недоліком даного методу є довготривалий період росту культури (2–3 місяці), а отже, очікування результатів є тривалим.

Молекулярно-генетичні (МГ) дослідження – найсучасніші методи, що використовуються у фтизіатрії. В Україні найбільш широко застосовується Xpert Mycobacterium tuberculosis (MBT)/RIF, що оснований на полімеразній ланцюговій реакції та має аналітичну чутливість 5 геномних копій очищеної ДНК в 1 мл мокротиння. Згідно з результатами досліджень, частка хворих з позитивною культурою, що виявлена за допомогою однократного прямого тесту Xpert MBT/RIF, склала 92,2%. Специфічність і чутливість Xpert MBT/RIF тесту коливається в залежності від результатів мікроскопії та культурального дослідження від 72 до 98%. Xpert MBT/RIF також визначає резистентність до одного з основних протитуберкульозних препаратів – рифампіцину. Основною перевагою тесту є швидкість отримання результатів – 2 год [7]. У літературі не знайдено джерел, які б описували можливість використання Xpert MBT/RIF для прогнозування масивності бактеріовиділення або оцінки ступеня небезпеки хворого та його місця проживання.

Мета роботи – порівняння результатів культурального дослідження мокротиння на щільних середовищах Левенштейна-Йенсена та тесту Xpert MBT/RIF, оцінка ступеня небезпеки вогнища туберкульозної інфекції.

Матеріал і методи

Проведено порівняльний аналіз 142 позитивних результатів культурального дослід-

ження на щільних середовищах Левенштейна-Йенсена та молекулярно-генетичного тесту Xpert MBT/RIF. Матеріалом для дослідження служило мокротиння, зібране для діагностики нового випадку туберкульозу, оцінювалися результати однієї першої порції. Дослідження проводилося на базі бактеріологічної лабораторії Обласного протитуберкульозного диспансеру № 1 (м. Харків). Стандартне оцінювання було наступним:

Результат	Число колоній
одиночні колонії	1–19
1+	20–100
2+	100–200
3+	200–500
4+	>500 (суцільний газонний ріст)

Згідно Наказу МОЗ України від 21.05.07 р. № 2 бактеріовиділення оцінюють: одиночні колонії – скудне; від 20 до 100 колоній (1+) – помірне; від 100 та більше (2+, 3+, 4+) – масивне. Така оцінка важлива для вогнищ туберкульозної інфекції. Так, місце проживання пацієнтів з масивним і помірним бактеріовиділенням належить до найбільш небезпечних вогнищ (I категорія), зі скудним – до менш небезпечних (II категорія). Оцінювання позитивного молекулярно-генетичного дослідження за кількістю копій ДНК: дуже мало, мало, середня кількість, велика кількість. Результати були розділені на групи згідно оцінки масивності виділення мікобактерій туберкульозу з мокротинням. Так, в 1-шу групу увійшли 52 результати зі скудним, у 2-гу групу – 40 з помірним, у 3-тю групу – 50 результатів з масивним бактеріовиділенням. Кореляційний аналіз (за Спірменом і Кендаллом) проведено в статистичній програмі SPPS.

Результати

У 1-й групі, в якій за результатом культурального дослідження визначалися одиночні колонії мікобактерій туберкульозу, 26,9% мали негативний результат за методом Xpert MBT/RIF, що підтверджує високу специфічність посіву. Дуже мала кількість генетичного матеріалу була визначена у 23,1% результатів, мала – у 38,5%. Лише 7,7% мали середню кількість ДНК мікобактерій туберкульозу та 3,8% – велику. У 2-й групі, у якій методом посіву визначалося від 20 до 100 колоній мікобактерій туберкульозу, був 1 негативний результат, що склало 2,5%. Результат дуже мала кількість мали 5,0% результатів, мала кількість – 35,0%, середня кількість – 47,5%, велика кількість – 10,0%. У 3-й групі,

де визначалося масивне бактеріовиділення методом культурального дослідження, не відмічено жодного негативного результату, дуже мала і мала кількість генетичного матеріалу мали по 2,0% результатів, середня кількість – 34,0%, велика кількість – 62,0% (таблиця).

Висновки

1. При порівнянні методів посіву на щільні середовища та молекулярно-генетичного дослідження Xpert MBT/RIF виявлено, що посів є більш специфічним і дає можливість додатково виявити більш ніж 10% пацієнтів.

Результати Xpert MBT/RIF

Група	n	Негативний результат	Дуже мала кількість	Мала кількість	Середня кількість	Велика кількість
1-ша	52	14 (26,9)	12 (23,1)	20 (38,5)	4 (7,7)	2 (3,8)
2-га	40	1 (2,5)	2 (5,0)	14 (35,0)	19 (47,5)	4 (10,0)
3-тя	50	0 (0)	1 (2,0)	1 (2,0)	17 (34,0)	31 (62,0)

Таким чином, у 1-й групі найбільшу частку зайняли результати дуже мала та мала кількість – 61,6% разом; у 2-й групі – мала і середня кількість – 82,5% разом, у 3-й групі – середня та велика кількість – 96,0% разом. Негативні результати Xpert MBT/RIF встановлено у 15 випадках – 10,5% від загальної кількості позитивних культуральних досліджень.

Кореляційний аналіз показав тісний взаємозв'язок між вказаними результатами, оскільки кореляція за Спірменом становить 0,75, за Кендаллом – 0,66, рівень достовірності $p < 0,01$.

Обговорення результатів

Отримані результати вказують на взаємозв'язок між інтенсивністю росту мікобактерій туберкульозу на щільних середовищах, масивністю бактеріовиділення мікобактерій туберкульозу та кількістю ДНК мікобактерій туберкульозу в мокротинні хворого на туберкульоз легень. Неповна відповідність результатів культурального та молекулярно-генетичного досліджень може бути пов'язана з тим, що методика Xpert MBT/RIF є повністю автоматизованою, а достовірність результатів посіву на щільних середовищах залежить від якості реактивів, умов приготування середовища та інших чинників.

Список літератури

1. Петренко В.І., Процюк Р.Г. Проблема туберкульозу в Україні // Туберкульоз, легеневі хвороби, ВІЛ-інфекція. 2015. № 2 (21). С. 16–29.
2. WHO Global Tuberculosis Report 2015//World Health Organization, Geneva (2015).
3. Наказ МОЗ України від 21.05.07 р. № 250 «Про затвердження методичних рекомендацій «Організація, проведення епідеміологічного нагляду та дезінфекційних заходів у протитуберкульозних закладах і вогнищах туберкульозу».
4. Аксютіна Л.П. Влияние источников инфекции из эпидемических очагов на заболеваемость туберкулезом у детей. Сибирское медицинское обозрение, 2011. <https://cyberleninka.ru/article/n/vliyanie-istochnikov-infektsii-iz-epidemicheskikh-ochagov-na-zabolevaemost-tuberkulezom-u-detej>.

5. Grzybowski S., Barnett G.D., Styblo K. Contacts of cases of active pulmonary tuberculosis // Bulletin International Union Against Tuberculosis. 1975. V. 50. P. 90–106.

6. Фещенко Ю.І., Литвиненко Н.А., Погребна М.В. та ін. Амбулаторне лікування хворих на туберкульоз: «за» та «проти» // Українськ. пульмонол. журнал. 2017. № 2. С. 5–10.

7. WHO «Xpert MTB/RIF implementation manual. Technical and operational “how-to”: practical considerations», World Health Organization, Geneva (2014).

References

1. Petrenko V.I., Protsyuk R.H. (2015). Problema tuberkul’ozu v Ukraini. Tuberkul’oz, lehenevi khvoroby, VIL-infektsiya. 2 (21), 16–29 [in Ukrainian].

2. WHO Global Tuberculosis Report 2015//World Health Organization, Geneva (2015).

3. Nakaz MOZ Ukrainy № 250 vid 21.05.07 r. «Pro zatverdzhennya metodychnykh rekomendatsiy «Orhanizatsiya, provedennya epidemiolohichnoho nahlyadu ta dezinfektsiynykh zakhodiv u protytuberkul’oznykh zakladakh i vohnyshchakh tuberkul’ozu».

4. Aksyutyna L.P. (2011). Vliyanye ystochnykov ynfektsyy yz epydemicheskyykh ochahov na zaboлеваemost’ tuberkulezom u detey. Sybyrskoe medytsynskoe obozrenye, 2011 https://cyberleninka.ru/article/n/vliyanie_istochnikov_infektsii_iz_epidemicheskikh_ochagov_na_zaboлеваemost_tuberkulezom_u_detey [in Russian].

5. Grzybowski S., Barnett G.D., Styblo K. (1975). Contacts of cases of active pulmonary tuberculosis. Bulletin of the International Union Against Tuberculosis. 50, 90–106.

6. Feshchenko Yu.I., Lytvynenko N.A., Pohrebna M.V. та in. (2017) Ambulatorne likuvannya khvorykh na tuberkul’oz «za» та «proty» // Ukrayins’ky pul’monolohichnyy zhurnal. 2, 5–10 [in Ukrainian].

7. WHO «Xpert MTB/RIF implementation manual. Technical and operational ‘how-to’: practical considerations», World Health Organization, Geneva (2014).

О.А. Говардовская, О.С. Шевченко, М.Ф. Новохатская

ВОЗМОЖНОСТЬ ОЦЕНКИ СТЕПЕНИ ОПАСНОСТИ ОЧАГА ТУБЕРКУЛЕЗНОЙ ИНФЕКЦИИ ГЕНОТИПИЧЕСКИМ МЕТОДОМ

Проведены сравнение 142 положительных результатов посева на плотных средах Левенштейна–Йенсена и молекулярно-генетические исследования Xpert MBT/RIF. Материалом для исследований служила мокрота, собранная для диагностики нового случая туберкулеза. В 1-ю группу вошло 52 результата со скудным, во 2-ю – 40 результатов с умеренным и в 3-ю группу – 50 результатов с массивным бактериовыделением. Оценивание положительного теста МГ по количеству копий ДНК: очень мало, мало, среднее количество, большое количество. Xpert MBT/RIF: в 1-й группе 26,9% – отрицательные результаты; 23,1% – очень мало; 38,5% – мало; 7,7% – среднее количество; 3,8% – большое; во 2-й группе 2,5% – отрицательные результаты; 5,0% – очень мало; 35,0% – мало; 47,5% – среднее количество; 10,0% – большое количество; в 3-й группе очень мало и мало имели по 2,0% результатов; 34,0% – среднее количество; 62,0% – большое количество. Посев на среды Левенштейна–Йенсена является более специфичным и дает возможность дополнительно выявить более 10% пациентов, результаты корреляционного анализа позволяют рекомендовать использование данных генотипического исследования Xpert MBT/RIF с указанием количественной характеристики для прогнозирования уровня бактериовыделения, ранней оценки степени опасности очага туберкулезной инфекции, планирования мероприятий эпидемиологического надзора и инфекционного контроля.

Ключевые слова: туберкулез, молекулярно-генетическое исследование, бактериовыделение, инфекционный контроль.

О.О. Hovardovska, O.S. Schevchenko, M.F. Novohatska

ABILITY OF GENOTYPICAL METHOD TO MAKE ASSESSMENT OF TUBERCULOSIS INFECTION HOTBED

A comparison of 142 positive results of culture test on L-Y media and Xpert MBT / RIF test was performed. The material for research was sputum collected for the diagnosis of a new TB case. In group 1 there were 52 results with scanty, in group 2 – 40 results with moderate, in group 3 – 50 results with massive bacterial excretion. Evaluation of the positive Xpert MBT / RIF test make according to the number of copies of DNA: very small, small, medium quantity, great quantity. Correlation analysis was

performed in the statistical program SPSS. Xpert MBT / RIF: in group 1 26.9% – negative results, 23.1% – very small, 38.5% – small, 7.7% – medium, 3.8% – great quantity; in the 2nd group 2.5% – negative results, 5.0% – very small, 35.0% – small, 47.5% – the medium quantity, 10.0% – a great quantity; in group 3 very small and small had 2.0% of the results, 34.0% – the medium quantity, 62.0% – a great quantity. Culture test on the L-Y media is more specific and allows to detect additionally more than 10% of patients, the result of correlation analysis gives an opportunity to recommend the use of the data of genotyping test Xpert MBT / RIF with indication of quantitative characteristics for prediction of level of bacterial excretion, early assessment of the danger of the hotbed of tuberculosis infection for planning of epidemiological surveillance and infection control.

Keywords: *tuberculosis, Xpert MBT/RIF, infection control, bacterial excretion.*

Надійшла до редакції 14.09.17