

ARTICOL DE CERCETARE

## Aspectele clinice, microbiologice și eficacitatea tratamentului tuberculozei pulmonare rezistente: studiu retrospectiv, comparativ, pe serie de cazuri

Alina Malic<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>*Catedra de pneumoftiziologie, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, Chișinău, Republica Moldova.*

Data primirii manuscrisului: 05.04.2017  
Data acceptării spre publicare: 02.06.2017

### Autor corespondent:

Alina Malic, asistent universitar  
Catedra de pneumoftiziologie  
Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”  
bd. Ștefan cel Mare și Sfânt, 165, Chișinău, Republica Moldova, MD-2004  
e-mail: alina.malic@usmf.md

### Ce nu este cunoscut, deocamdată, la subiectul abordat

În cazul utilizării metodei molecular-genetice (testul *Xpert MTB/RIF*) de diagnostic al tuberculozei, nu au fost descriși, deocamdată, parametri de eficacitate a tratamentului, precum și particularitățile clinice ale bolii.

### Ipoteza de cercetare

Utilizarea testului *Xpert MTB/RIF* oferă posibilitatea instituirii rapide a unui tratament mai exact, comparativ cu metoda tradițională, culturală, de diagnostic a tuberculozei.

### Noutatea adusă literaturii științifice din domeniu

Testul *Xpert MTB/RIF*, datorită rapidității stabilirii diagnosticului de tuberculoză și identificării rezistenței la rifampicină, permite inițierea unui tratament semnificativ mai rapid, cu o rată de succes mai înaltă, comparativ cu metoda tradițională, culturală.

### Rezumat

**Introducere.** Utilizarea metodelor moleculare rapide pentru detectarea rezistenței la medicamente, inclusiv testul *Xpert MTB/RIF*, este esențială pentru inițierea cât mai precoce a unui tratament adecvat al pacienților cu tuberculoză și pentru limitarea transmiterii, în continuare, a tuberculozei multi-drogrezistente (TB MDR).

**Material și metode.** Studiu retrospectiv, comparativ, pe serie de cazuri de tuberculoză pulmonară rezistentă. Eșantionul

RESEARCH ARTICLE

## Clinical, microbiological particularities and treatment effectiveness of resistant pulmonary tuberculosis: retrospective, comparative, case series study

Alina Malic

<sup>1</sup>*Chair of pneumophthysiology, Nicolae Testemitanu State University of Medicine and Pharmacy Chisinau, Republic of Moldova.*

Manuscript received on: 05.04.2017  
Accepted for publication on: 02.06.2017

### Corresponding author:

Alina Malic, assistant professor  
Chair of pneumophthysiology  
Nicolae Testemitanu State University of Medicine and Pharmacy  
165, Ștefan cel Mare și Sfânt ave., Chisinau, Republic of Moldova, MD-2004  
e-mail: alina.malic@usmf.md

### What is not known yet, about the topic

Parameters of treatment efficacy, as well as clinical peculiarities of the disease have not been yet described in cases when *Xpert MTB/RIF* molecular-genetic diagnostic test was used.

### Research hypothesis

The *Xpert MTB/RIF* test offers the possibility of rapid establishment of an exact treatment plan, compared with the traditional cultural diagnostic method of tuberculosis.

### Article's added novelty on the scientific topic

Due to short time required for diagnosis establishment of tuberculosis and detection of rifampicin resistance, the *Xpert MTB/RIF* allows to rapidly start the treatment, with higher success rates, when compared to the traditional cultural method.

### Abstract

**Introduction.** The use of rapid molecular methods for drug resistance detection, including the *Xpert MTB/RIF* test, is essential for early initiation of appropriate tuberculosis treatment and for limiting of continued multi-drug resistant tuberculosis (MDR TB) transmission.

**Material and methods.** A retrospective, comparative study of case series with resistant pulmonary TB. Group 1 – 85 patients with positive resistant test; group 2 – 150 patients with

1 ( $n=85$ ), bolnavi de TB MDR, cu rezultatul testului Xpert MTB pozitiv/RIF rezistent; eşantionul 2 ( $n=150$ ), bolnavi de TB MDR, cu rezultatul culturii rezistente. Comparate duratele de diagnostic, de tratament, factorii de risc pentru rezistență. Datele sunt prezentate sub formă de valori absolute și relative, sau, după caz – drept medie și interval de încredere de 95%. Statistică: testul exact Fisher.

**Rezultate.** Comun pentru ambele eşantioane a constituit: vârsta adultului tânăr, abuzul de alcool, contactul tuberculos intradomiciliar, fiecare al doilea bolnav fiind depistat prin cale pasivă, procese tuberculoase radiologice bilaterale, extinse, în fază de destrucție. Specific bolnavilor cu TB MDR, depistați prin testul *Xpert MTB pozitiv/RIF rezistent*: stabilirea timpurie a diagnosticului și a tratamentului; microscopic, conversia sputei a fost obținută, mai frecvent, în primele 3 luni. S-a constatat o rată sporită de succes al tratamentului TB MDR.

**Concluzii.** (1) Testul *Xpert MTB/RIF* posedă o sensibilitate și specificitate mai înaltă vs. metoda microscopică și culturală în diagnosticarea TB MDR și a rezistenței la rifampicină. (2) Rata succesului tratamentului în eşantionul Xpert MTB/RIF a fost mai înaltă, datorită inițierii mult mai precoce a tratamentului.

**Cuvinte cheie:** test *Xpert MTB/RIF*, metoda culturală, tuberculoza multidrogrezistentă.

## Introducere

Tuberculoza este una dintre cele mai importante provocări pentru ocrotirea sănătății oricărui stat. Începând cu anul 1993, Organizația Mondială a Sănătății (OMS) a declarat tuberculoza o urgență globală [1]. În țările Europei de Est și Asiei Centrale, rata tuberculozei multidrog rezistente (TB MDR) rămâne a fi cea mai înaltă. Republica Moldova se află printre cele 30 de țări cu povară înaltă a TB MDR. În 2014, în Republica Moldova, OMS a estimat 24% de cazuri noi și 62% de cazuri de tratament repetat a TB MDR. Depistarea precoce a cazurilor de TB, în special, de TB MDR, reprezintă una dintre cele mai relevante acțiuni de control asupra tuberculozei. Metodele culturale rămân standardul de aur pentru diagnosticul tuberculozei pulmonare. Microscopia convențională, care este utilizată pentru identificarea bacilului acidorezistent (BAAR), este primul pas în algoritmul de detectare a tuberculozei. Utilizarea testelor moleculare rapide pentru detectarea rezistenței la medicamente, cum ar fi *Xpert MTB/RIF*, este esențială pentru inițierea cât mai precoce a unui tratament adecvat al pacienților cu tuberculoză și pentru limitarea transmiterii în continuare a TB MDR [2]. OMS a stabilit recomandări condiționale pentru utilizarea *Xpert MTB/RIF* la adulți, copii și persoanele cu HIV, care sunt suspecți pentru TB (nu neapărat TB MDR), sau pentru testarea specimenelor extrapulmonare, care vizează diagnosticul de TB extrapulmonară [3, 4].

Steingart K. și coaut. (2013) [5] au analizat o bază de date pentru determinarea acurateței testului *Xpert MTB/RIF*. Sensibilitatea combinată (15 studii, 7517 de participanți) a testului *Xpert MTB/RIF* dintr-o singură probă de spută a constituit 88% și specificitatea – 98%. Sensibilitatea la pacienții cu

MDR TB, with resistant culture lab results. Diagnostic and treatment duration were compared, as well as risk factors for resistance. Data are presented in absolute and relative values, and, when needed – in mean values and 95% confidence intervals. Statistics: Fisher's exact test.

**Results.** Common for both groups were: young adult age, alcohol abuse, tuberculous household contact (every second patient was passively detected), extended and bilateral destructive TB processes. Specific for MDR TB patients diagnosed with the *Xpert MTB positive / RIF resistant* test was: early detection of MDR TB and early initiation of the treatment, sputum conversion was more frequently obtained in the first 3 months.

**Conclusions.** (1) The *Xpert MTB/RIF* test has a higher sensibility and specificity vs. the microscopic and cultural method of MDR TB diagnosis and rifampicin resistance. (2) The rate of treatment success among patients from the *Xpert MTB/RIF* group was higher, due to earlier initiation of treatment.

**Key words:** *Xpert MTB/RIF* test, cultural method, multi-drug resistant tuberculosis.

## Introduction

Tuberculosis is one of the most important challenges for any state health care system. Since 1993, the World Health Organization (WHO) has declared tuberculosis a global emergency [1]. In the countries of Eastern Europe and Central Asia the multidrug resistant tuberculosis (MDR TB) rate remains the highest. The Republic of Moldova is a country among top 30 countries with a high burden of MDR TB. WHO in 2014 in the Republic of Moldova estimated 24% of new cases and 62% of retreatment cases of MDR TB. One of the most relevant tuberculosis control actions is the early detection of TB cases, especially MDR TB cases. Cultural methods remain the gold standard in the diagnosis of pulmonary tuberculosis. Conventional microscopy, which is uses AFB (Acid-Fast Stain), is the first step in the tuberculosis detection algorithm. The use of rapid molecular testing for drug resistance detection such as *Xpert MTB/RIF* is essential for early initiation of appropriate treatment of tuberculosis patients and to limit the further spread of multidrug resistant TB [2]. WHO has established conditional recommendations for the use of *Xpert MTB/RIF* in adults, children and persons living with HIV who are suspected for TB (not MDR TB in particular), or for testing of extra-respiratory specimens targeting the diagnosis of extrapulmonary TB [3, 4].

Steingart K. *et al.* (2013) [5], analyzed through the means of a data base the accuracy of the *Xpert MTB/RIF* test. The combined sensitivity (15 studies, 7517 participants) of the *Xpert MTB/RIF* test from a single sputum sample constituted 88% and the specificity was 98%. Among people living with HIV, the cumulative sensitivity was 80%, and in those without

frotiul pozitiv a fost de 98%. Printre persoanele care trăiesc cu HIV, sensibilitatea cumulată a fost de 80%, iar la cei fără infecție HIV, aceasta a fost de 89% [6]. Un număr mare de studii a fost realizat în țările cu venituri mici și medii; dezavantajul lor a fost efectuarea mai frecventă a testului *Xpert MTB/RIF* în laboratoare de referință, decât în laboratoare periferice sau în alte structuri medicale [5].

Elaborarea unui algoritm rațional de management pentru pacienții identificați prin testarea *Xpert MTB/RIF* cu rezistență la rifampicină (RR), reprezintă o provocare deosebit de importantă, deoarece depistarea RR impune inițierea precoce a tratamentului pentru TB MDR, care va contribui la reducerea riscului de transmitere a infecției și va spori rata succesului terapeutic. Pe de altă parte, efectuarea metodei culturale convenționale rămâne în vigoare [7].

În timp ce testul *Xpert MTB/RIF* reprezintă un progres major, comparativ cu microscopia convențională, costul mare al investigației reprezintă un obstacol în procesul de implementare pe scară largă. Există doar un număr mic de studii, care au confirmat avantajul diagnosticului precoce și durata redusă a tratamentului [8-11]. Micșorarea ratei mortalității, scăderea costurilor asociate cu spitalizarea și, poate, cel mai important, reducerea transmiterii tuberculozei (în special, TB MDR), sunt factorii potențial eficienți [7].

*Xpert MTB/RIF* este un test rapid, automatizat, care poate detecta atât TB, cât și rezistența la rifampicină, în timp real, în termen de două ore, cu implicarea minimă a personalului medical, însă este mult mai costisitor decât microscopia convențională [12].

## Material și metode

Lucrarea reprezintă un studiu retrospectiv, selectiv și descriptiv care a fost efectuată conform modelului liniar. Scopul studiului a fost studierea aspectelor clinice și a eficacității tratamentului bolnavilor de tuberculoză pulmonară în dependență de rezultatele metodelor molecular-genetice și microbiologice. A fost efectuată o cercetare documentată privind cazurile noi de tuberculoză pulmonară investigate și tratate în cadrul Spitalului Clinic Municipal de Ftizio pneumologie, mun. Chișinău, în perioada 01.01.2010-31.12.2014.

Criteriile de includere au constituit:

- vârsta peste 18 ani;
- caz nou de tuberculoză pulmonară MDR (caz nou – pacient, care nu a fost tratat cu remedii antituberculoase sau a fost tratat mai puțin de 1 lună);
- rezultatul *Xpert MTB* pozitiv/RIF rezistent, pentru pacienții eșantionului 1;
- rezultatul culturii rezistente, pentru pacienții eșantionului 2.

Criteriile de excludere au fost următoarele:

- cazuri de retratament (recidivă, eșec terapeutic, pierdut din supraveghere);
- alte rezultate ale testului *Xpert MTB/RIF* (negativ, sensibil);
- alte rezultate ale metodei culturale (negativ, sensibil, monorezistență, polirezistență).

HIV infecția a fost de 89% [6]. Several studies have been conducted in low and middle income countries; a disadvantage of these studies is that the *Xpert MTB/RIF* test was performed in the reference laboratories more frequently than in peripheral laboratories or other medical facilities [5].

Developing a rational management algorithm for patients identified with RR TB (rifampicin resistant tuberculosis) by the means of *Xpert MTB/RIF* test is a special challenge, because the detection of RR contributed to the early treatment start, which helps to reduce the risk of infection transmission and increase the therapeutic success rate. On the other hand, the conventional cultural method remains valid [7].

While the *Xpert MTB/RIF* test represents a major breakthrough compared to conventional microscopy, its high cost is a major obstacle to the widespread use of the test. There is only a small number of studies that confirmed the benefit of early diagnosis and the reduced duration of treatment [8-11]. Decreasing the mortality rate, lowering the costs associated with hospitalization and, most importantly, reducing the transmission of tuberculosis (especially MDR TB) are potentially effective factors [7].

*Xpert MTB/RIF* is a rapid, automated test that can detect both TB and resistance to rifampicin in real time within two hours, with minimal involvement of medical staff, but is much more costly than conventional microscopy [12].

## Material and methods

The research is a retrospective, selective and descriptive study, which was conducted according to the linear model. The aim was to study the clinical aspects and the efficacy of the treatment of patients with pulmonary tuberculosis in dependence on the results of the molecular-genetic and microbiological methods. A documented research has been carried out on new cases of pulmonary tuberculosis investigated and treated within the Municipal Clinical Hospital of Phthysio-pneumology, Chisinau, during 01.01.2010 – 31.12.2014.

The inclusion criteria were:

- age above 18 years;
- new case of MDR pulmonary tuberculosis (new case – patient not treated or treated less than 1 month with anti-tuberculous remedies);
- *Xpert MTB* positive/RIF resistant result, for patients from 1<sup>st</sup> group;
- culture resistant result, for patients from 2<sup>nd</sup> group.

The exclusion criteria were:

- retreatment cases (relapse, treatment failure, lost to follow-up);
- other results of *Xpert MTB/RIF* test (negative, sensitive);
- other results of culture method (negative, sensitive, monoresistance, polyresistance).

Were selected 235 clinical cases, which met the inclusion and exclusion criteria. In order to describe, analyze and compare the clinical and paraclinical particularities of pulmonary tuberculosis, depending on the results of the molecular-ge-

Au fost selectate 235 de cazuri clinice, care au corespuns criteriilor de includere și excludere. Pentru a descrie, a analiza și compara particularitățile clinice și paraclinice ale tuberculozei pulmonare în funcție de rezultatele metodei molecular-genetice, pacienții au fost distribuiți în 2 eșantioane: eșantionul 1 – de 85 pacienți, care au fost incluși în tratamentul tuberculozei MDR după obținerea rezultatului metodei molecular-genetice (*Xpert MTB pozitiv/RIF rezistent*) și eșantionul 2 – 150 de bolnavi, care au urmat tratamentul pentru TB MDR după primirea rezultatului metodei culturale.

## Rezultate

În eșantionul bolnavilor cu rezultatul *Xpert MTB pozitiv/RIF rezistent*, au predominat persoanele de gen masculin – 60 (70,6%) de cazuri, raportul bărbați/femei fiind de 2,4/1. La pacienții incluși în studiu după rezultatul culturii rezistente, distribuția după gen a fost similară, cu predominarea bărbaților – 107 (71,3%) de cazuri și raport bărbați/femei – de 2,5/1.

Distribuind pacienții pe grupuri de vârstă, după criteriile recomandate de OMS, s-a stabilit predominarea în eșantionul cu rezultatul *Xpert MTB pozitiv/RIF rezistent* al bolnavilor din grupul de vârstă 35-44 de ani, 23 (27,1%) de cazuri, care au prezentat 1/4 din acest eșantion. Eșantionul cu rezultatul culturii rezistent, a fost similar, majoritar prezentat din pacienții din grupul de vârstă 35-44 de ani, 43 (28,7%) de cazuri.

Fiecare al 4-lea pacient a fost migrant: 39 (26,0%) de cazuri – în eșantionul cu cultura rezistentă și 22 (25,9%) de cazuri – în eșantionul cu rezultatul *Xpert MTB pozitiv/RIF rezistent*.

La persoanele cu tuberculoză rezistentă, din ambele eșantioane, au fost depistați următorii factorii de risc: istoric de detenție, etilism cronic și utilizarea intravenoasă a drogurilor. Diferențele dintre eșantioane nu au atins pragul de semnificație statistică. Totodată, consumul abuziv de alcool a fost apreciat, mai frecvent, la pacienții cu rezultatul culturii rezistente. Fumatul a fost constatat, în egală măsură, în ambele eșantioane (Tabelul 1).

**Tabelul 1.** Repartizarea cazurilor conform factorilor de risc.

Grupuri de risc	Xpert poz/RIF rez (n=85)		Cultură rezistentă (n=150)		p
	abs	%	abs	%	
Migranții	22	25,9	39	26,0	0,13
Foști deținuți	13	15,3	28	18,7	0,12
Fumători	63	74,1	117	7,0	0,10
Abuz de alcool	47	55,3	98	65,3	0,07
Utilizatori droguri i.v.	4	4,7	3	2,0	0,16

Notă: aplicat testul statistic Fisher exact.

Factorul de risc epidemiologic major de îmbolnăvire de tuberculoză reprezintă contactul tuberculos. La bolnavii din eșantionul cu rezultatul *Xpert MTB pozitiv/RIF rezistent*, un contact tuberculos a fost stabilit în 25 (29,4%) de cazuri, dintre care, un contact intradomiciliar au avut 11 (44,0%) pacienți, iar 14 (56,0%) – au fost în contact apropiat cu rude, cunoscuți, prieteni sau cu colegii, la locul de muncă. La pacienții

netic method, the patients were distributed in two groups: 1<sup>st</sup> group – 85 patients who were included in the MDR TB treatment after the molecular-genetic result (*Xpert MTB pozitiv/resistant RIF*) and 2<sup>nd</sup> group – 150 patients who started their treatment after the results of the cultural method.

## Results

In the group of patients with the positive *Xpert MTB/RIF resistant* males predominate – 60 males (70.6%), males/females ratio – 2.4/1. Among patients included in the investigation, according to the result of resistant culture, gender distribution was similar: males – 107 (71.3%) cases, males/females ratio – 2.5/1.

Distributing the patients into the age groups according to criteria recommended by WHO, in the group with positive *Xpert MTB/RIF resistant* result it was revealed that patients of 35-44 y.o. predominate, 23 (27.1%) cases, that made 1/4 of this group. In the group with the resistant result of the culture the majority was also represented by the patients with the age between 35 and 44 years old, 43 (28.7%) cases.

It was established that about every 4<sup>th</sup> the patients was a migrant: 39 (26%) cases in the group with the resistant culture, and 22 (25.9%) cases in the group with positive *Xpert MTB/RIF resistant* result were.

The following risk factors were found in patients with resistant TB, from both groups: imprisonment, chronic alcoholism, intravenous use of drugs. Statistically significant differences were not revealed. Meanwhile, abusive consumption of alcohol was more frequently found in the patients with the resistant result of the culture. Smoking was revealed in an equal measure among the investigated patients in both groups (Table 1).

**Table 1.** Distribution of cases according to risk factors.

Risk groups	Xpert pos/RIF res (n=85)		Resistant culture (n=150)		p
	abs	%	abs	%	
Migrants	22	25.9	39	26.0	0.13
Former prisoners	13	15.3	28	18.7	0.12
Smokers	63	74.1	117	7.0	0.10
Alcohol abuse	47	55.3	98	65.3	0.07
IV drug users	4	4.7	3	2.0	0.16

Note: Fisher's exact test was applied.

The major epidemiologic risk factor of falling ill with tuberculosis is tuberculosis contact. It was revealed that in the group with positive *Xpert MTB/RIF resistant* result, the number of the patients that had a TB contact was 25 (29.4%), 11 (44.0%) of which had household contact and 14 (56.0%) were in contact with relatives, acquaintants, friends, coworkers. The patients from the group with resistant culture were in contact with TB in 68 (45.3%) cases, out of them prevailed close contacts in 41 (60.3%) cases, contact in the family in 27 (39.7%) cases.

eșantionului cu cultură rezistentă, contactul tuberculos a fost stabilit în 68 (45,3%) de cazuri, dintre care, au predominat cei cu contactul apropiat – 41 (60,3%) de cazuri. Un contact intra-domiciliar a fost stabilit la 27 (39,7%) dintre pacienți.

Pentru aprecierea factorilor de risc și influența lor asupra dezvoltării tuberculozei active, a fost calculat riscul relativ (RR). Conform datelor prezentate în Tabelul 2, s-a constatat că pentru persoanele cu TB MDR, cel mai mare risc pentru dezvoltarea tuberculozei l-a prezentat fumatul.

**Tabelul 2.** Factorii de risc pentru dezvoltarea tuberculozei active multidrog rezistente.

Factori de risc	Riscul Relativ
Fumatul	3,913 (0,298 – 0,669)
Comorbidități somatice	1,659 (1,561 – 3,563)
Abuz de alcool	1,112 (0,346 – 0,718)
Contact TB	0,699 (2,485 – 5,454)
Detinut	0,222 (0,548 – 1,756)
Migrant	0,119 (2,402 – 16,891)
Utilizatori droguri i.v.	0,0032 (0,97 – 65,201)

Notă: datele sunt prezentate drept medie și interval de încredere de 95%.

Metoda pasivă a predominat la depistarea pacienților cu tuberculoză în ambele eșantioane. La bolnavii cu *Xpert pozitiv/RIF rezistent*, prin calea pasivă au fost depistate 68 (80,0%) de cazuri, iar prin calea activă – 17 (20,0%). În eșantionul cu cultură rezistentă, prin adresare (calea pasivă), au fost depistați 115 (76,7%) pacienți, iar prin control profilactic (calea activă) – 35 (23,3%) bolnavi.

Conform formelor clinice ale tuberculozei, în ambele eșantioane au predominat pacienții cu tuberculoză pulmonară infiltrativă: 75 (88,2%) de pacienți cu rezultatul *Xpert MTB pozitiv/RIF rezistent* și 137 (91,3%) de bolnavi cu cultură rezistentă. Tuberculoza pulmonară diseminată a fost stabilită la 6 (7,2%) persoane din eșantionul cu rezultatul *Xpert MTB pozitiv/RIF rezistent* și la 7 (4,7%) pacienți cu cultură rezistentă. Cu tuberculoză pulmonară nodulară, au fost înregistrați mai mulți pacienți în eșantionul cu cultură rezistentă – 5 (3,3%), pe când în eșantionul cu *Xpert MTB pozitiv/RIF rezistent* – în 2 (2,3%) cazuri. Tuberculoza pulmonară fibro-cavitară a fost identificată la 2 (2,3%) bolnavi cu rezultatul *Xpert MTB pozitiv/RIF rezistent* și la 1 (0,7%) pacient – cu rezultatul culturii rezistente. Diferențele între eșantioane nu au fost statistic semnificative.

Studiind aspectele radiologice, s-a constatat că procesul tuberculos în fază distructivă a predominat la bolnavii eșantionului cu rezultatul culturii rezistent. La pacienții cu *Xpert pozitiv/RIF rezistent*, au predominat procese bilaterale – 133 (88,7%) de cazuri și extinse – 136 (90,7%) de cazuri. O repartizare similară a manifestărilor procesului tuberculos a fost înregistrată la bolnavii cu cultură rezistentă: proces bilateral – la 74 (87,1%) de pacienți și un proces extins – în 80 (94,1%) dintre cazuri.

În eșantioanele studiate, au predominat pacienții cu micro-

In order to assess the risk factors and their influence on the development of active tuberculosis, Relative Risk (RR) was calculated. According to data presented in Table 2, it was found that for MDR TB patients, the highest risk for the development of TB was smoking.

**Table 2.** Risk factors for active MDR TB development.

Risk factors	Relative risk
Smoking	3.913 (0.298 – 0.669)
Comorbidities (somatic)	1.659 (1.561 – 3.563)
Alcohol abuse	1.112 (0.346 – 0.718)
TB contact	0.699 (2.485 – 5.454)
Former prisoner	0.222 (0.548 – 1.756)
Migrant	0.119 (2.402 – 16.891)
IV drug user	0.0032 (0.97 – 65.201)

Note: data are presented as mean values and 95% confidence intervals.

Passive way of detection of tuberculosis prevails in both groups. Among patients with the *positive Xpert MTB/RIF resistant* results, 68 (80.0%) patients were revealed passively, and only 17 (20.0%) patients – actively. In the group with resistant culture 115 (76.7%) patients were revealed during self-show, during prophylactic control – 35 (23.3%) patients.

In both groups, patients with infiltrative tuberculosis prevailed: 75 (88.2%) patients with *Xpert MTB positive/RIF resistant* result and 137 (91.3%) patients with resistant culture. Disseminated pulmonary tuberculosis was established in 6 (7.2%) patients in the *Xpert MTB positive/RIF resistant* group and in 7 (4.7%) patients with resistant culture results. Nodular pulmonary tuberculosis was recorded in the group with resistant culture result – in 5 (3.3%) patients, and in the group with *Xpert MTB positive/RIF resistant* – in 2 (2.3%) cases. Fibro-cavitary pulmonary tuberculosis was identified in 2 (2.3%) patients with *Xpert MTB positive/RIF resistant* result and in 1 (0.7%) patient with resistant culture result. Differences between groups were not statistically significant.

Studying radiological aspects of the patients included in the investigation, it was revealed that destructive phase of the tuberculosis process was predominant in patients with resistant culture result. In the patients with the *Xpert MTB positive/RIF resistant* result bilateral process prevailed in 133 (88.6%) patients and extensive – in 136 (90.7%) cases. Similar processes were revealed in patients with resistant culture: bilateral processes – in 74 (87.1%) cases and extensive – in 80 (94.1%) cases.

In the investigated groups, predominated patients with AFB positive sputum microscopy. In the group of patients with resistant culture, AFB sputum microscopy was positive in 126 (84%) cases. In patients with *positive Xpert MTB/RIF resistant* result, sputum microscopy was positive only in 58 (68.2%) cases.

In patients with the *positive Xpert MTB/RIF resistant* result,

scopia sputei la BAAR pozitivă. La bolnavii cu cultură rezistentă, microscopia sputei la BAAR a fost pozitivă în 126 (84,0%) de cazuri. La pacienții depistați cu *Xpert pozitiv/RIF rezistent*, microscopia sputei a fost pozitivă numai în 58 (68,2%) dintre cazuri.

La pacienții cu rezultatul *Xpert pozitiv/RIF rezistent*, durata medie de la examinare prin testul molecular-genetic și până la inițierea tratamentului TB MDR, a constituit 10 zile.

În eșantionul cu rezultatul culturii rezistente, au predominat bolnavii care au inițiat tratamentul TB MDR de la 3 până la 5 luni după examinare prin cultură.

La pacienții incluși în cohorta pentru tratamentul TB MDR, după rezultatul culturii, conversia sputei prin metoda bacteriologică a fost constatată mai târziu, mai mulți bolnavi au rămas cu rezultatul pozitiv al sputei la *M. tuberculosis*. La pacienții incluși în cohorta pentru tratamentul TB MDR, după rezultatul *Xpert pozitiv/RIF rezistent*, conversia sputei prin metoda culturală a fost identificată mai precoce și mai puține persoane au rămas cu rezultatul pozitiv al sputei la *M. tuberculosis*. Rezultatele sunt prezentate în Tabelul 3.

**Tabelul 3.** Conversia sputei prin cultură.

Abacilarea prin cultură	<i>Xpert MTB poz/RIF rez (n=85)</i>		Cultură rezistentă (n=150)		p
	abs	%	abs	%	
La 2 luni	33	38,8	21	14,0	1,42E-05
La 3 luni	15	17,6	21	14,0	0,11
La 4 luni	11	12,9	38	25,3	0,01
La 5 luni	8	9,4	9	6,0	0,13
La 6 luni	1	1,2	7	4,7	0,12
La 9 luni	1	1,2	2	1,3	0,44
La 12 luni	-	-	1	0,7	-
La 15 luni	-	-	1	0,7	-
A rămas bacilifer	6	7,1	26	17,3	0,01
Neevaluat	10	11,8	24	16,0	0,11

Notă: test statistic aplicat – Fisher exact.

Durata tratamentului la pacienții incluși în cohorta pentru tratamentul TB MDR, după rezultatul *Xpert pozitiv/RIF rezistent*, a constituit 24 de luni la 54 (68,4%) de bolnavi; 16 (20,3%) pacienți au urmat tratamentul 18 luni, datorită evoluției clinico-radiologice pozitive a procesului tuberculos.

În eșantionul bolnavilor cu cultură rezistentă, durata terapiei, la 44 (29,3%) de pacienți a constituit 26 de luni, la 37 (24,7%) de bolnavi – 24 de luni, la 23 (15,3%) de bolnavi – 28 de luni, iar la 9 (6%) persoane, durata tratamentului a fost de peste 30 de luni; 18 luni au urmat tratamentul 21 (14%) de bolnavi, dintre ei doar două cazuri au fost calificate drept „vindecat”. Ceilalți, au eșuat tratamentul sau au fost pierduți din supraveghere. Toți bolnavii, care au urmat tratamentul până la 6 luni – 16 (10,7%) cazuri – fie au suferit eșec terapeutic, fie au fost pierduți din supraveghere.

Bolnavii tratați cu succes (vindecați + tratament încheiat) au predominat semnificativ în eșantionul pacienților cu rezultatul *Xpert MTB pozitiv/RIF rezistent* – 69,6% (55 de cazuri), comparativ cu pacienții eșantionului cu cultură rezistentă –

the mean period of time from examining through *Xpert MTB/RIF* test until initiation of the MDR TB treatment is 10 days.

In the group with the result of resistant culture, prevailed patients who initiated MDR TB treatment from 3 to 5 months after examination by means of culture.

Among patients included in the cohort of MDR TB treatment, according to the result of culture, it was revealed that negativity of the sputum takes place later, the period of sputum conversion gets longer and more people remain sputum positive for *M. tuberculosis*. Among patients included in cohort of MDR TB treatment according to the *Xpert positive/RIF resistant* result sputum conversion through the cultural method takes place earlier, the period of conversion is shorter and less people remain sputum positive for *M. tuberculosis*. Results are presented in Table 3.

**Table 3.** Sputum conversion according to culture.

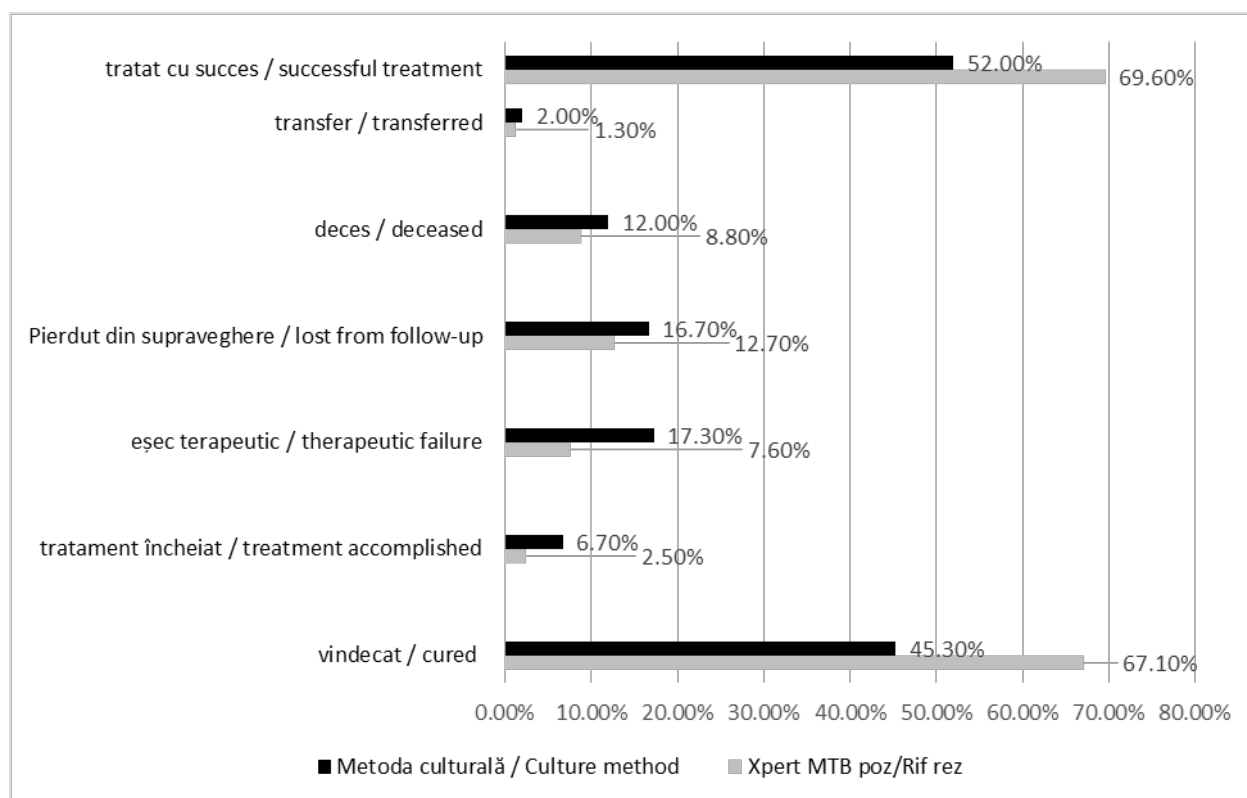
No mycobacteria found in culture	<i>Xpert MTB pos/RIF res (n=85)</i>		Resistant culture (n=150)		p
	abs	%	abs	%	
At 2 months	33	38.8	21	14.0	1.42E-05
At 3 months	15	17.6	21	14.0	0.11
At 4 months	11	12.9	38	25.3	0.01
At 5 months	8	9.4	9	6.0	0.13
At 6 months	1	1.2	7	4.7	0.12
At 7 months	1	1.2	2	1.3	0.44
At 8 months	-	-	1	0.7	-
At 9 months	-	-	1	0.7	-
Remained bacteria positive	6	7.1	26	17.3	0.01
Not evaluated	10	11.8	24	16.0	0.11

Note: applied statistic test: Fisher's exact test.

The duration of the treatment of the patients included in the cohort of MDR TB treatment according to the result *Xpert positive/RIF resistant* was 24 month in 54 (68.4%) patients, 16 (20.3%) patients received treatment for 18 month due to the positive clinical and radiologic evolution of the tuberculosis process.

In the group of the patients with resistant culture, the majority of the patients 44 (29.3%) got treatment for 26 month, followed by 37 (24.7%) patients that got treatment for 24 month, 28 month for 28 (15.3%) patients, the length of the treatment in 9 (6%) patients was more than 30 month, 21 (14%) patients followed the treatment for 18 months, out of them only 2 were qualified as cured, the rest of the patients failed the treatment or went loss to follow-up. Everybody who followed the treatment up to 6 month 16 (10.7%) patients finished the treatment with a therapeutic failure or loss to follow-up.

Treatment success (cured + finished treatment) of the patients from the *Xpert MTB positive/RIF resistant* group was revealed in 55 (69.6%) of cases, and in 78 (52.0%) of cases among patients with the resistant culture, the data obtained are statistically significant. The amount of the patients with



**Fig. 1** Eficacitatea tratamentului antituberculos în funcție de loturile de studiu.

**Fig. 1** Efficacy of antituberculosis treatment according to the study groups.

52,0% (78 de cazuri). Ponderea pacienților cu eșec terapeutic și pierduți din supraveghere a fost semnificativ mai mare la bolnavii incluși în eșantionul cu cultură rezistentă. Datele sunt prezentate în Figura 1.

## Discuții

Conform unui studiu recent, efectuat de către Belousova X. și coaut., rezultatele identificării *M. tuberculosis* în materialul patologic prin metodele molecular-genetice corelează cu cele obținute prin metodele bacteriologice convenționale, procentul de coincidență fiind de 87,3% (95CI: 76,5% – 94,4%). Pentru rifampicină, rezultatele au coincis în 85,8% (95CI: 74,7% – 93,3%) de cazuri. Rezultate similare au fost obținute, anterior, de către Skotnikova O. și coaut., care au stabilit că rezultatele determinării multidrogrezistenței *M. tuberculosis* din izolatele din spută prin testul *Xpert MTB/RIF* au coincis cu metoda culturală în 88,8% din cazuri [13].

Ustian A. și coaut., au relatat că în anul 2014, la Spitalului Clinic Municipal de Ftiziopneumologie din Chișinău, au fost examinați prin testul *Xpert MTB/RIF* 361 de bolnavi de tuberculoză pulmonară (toate fiind cazuri noi). Un rezultat pozitiv al testului a fost stabilit la 174 (48,2%) dintre pacienți. Cu rezultatul testului „sensibil” au fost 123 (70,7%) de pacienți, iar cu rezultat „rezistent” – 51 (29,3%) de cazuri. Microscopia la BAAR a fost pozitivă la 103 (59,2%) persoane, iar negativă – la 71 (40,8%) de pacienți. La bolnavii cu testul *Xpert MTB/RIF* sensibil, microscopia negativă a fost la 51 (41,5%) de pacienți.

therapeutic failure and lost to follow-up was significantly higher among patients included in the cohort with results of the resistant culture. Data are shown in Figure 1.

## Discussion

According to a recent study by Belousova X. *et al.* the results of identification of *M. tuberculosis* in the pathological material by molecular-genetic methods, correlate with those obtained by conventional bacteriological methods, the coincidence percentage being 87.3% (95%CI: 76.5% – 94.4%). For rifampicin, the results coincided in 85.8% (95%CI: 74.7% – 93.3%) of cases. Similar results have been previously obtained by Skotnikova O. *et al.*, which established that the results of the multidrug resistance determination of tuberculosis causal agent from sputum isolates, by the *Xpert MTB/RIF* test coincided with the culture method in 88.8% cases [13].

Ustian A. and coauthors, pointed out that, in 2014, in the Municipal Clinical Hospital of Phthysiopneumology, Chișinău, 361 patients (new cases), with pulmonary tuberculosis, were examined using the *Xpert MTB/RIF* test. A positive test result was established in 174 (48.2%) patients. „Sensitive” test results had 123 (70.7%) patients, and „resistant” – in 51 (29.3%) cases. AFB microscopy was positive in 103 (59.2%) patients, and negative – in 71 (40.8%) patients. In patients with the *Xpert MTB positive/RIF sensitive* test results, negative microscopy was obtained in 51 (41.5%) patients. In patients with *Xpert MTB positive/RIF resistant* result, positive micro-

La bolnavii cu *Xpert MTB/RIF rezistent*, microscopia pozitivă a fost identificată în 31 (60,8%) din cazuri, iar microscopia negativă – în 20 (39,%) de cazuri [14].

Datele unui studiu, efectuat în Ucraina în 2015, denotă că testul *Xpert MTB/RIF* reprezintă o metodă eficientă și utilă pentru diagnosticarea precoce a tuberculozei. Utilizarea *Xpert MTB/RIF*, în asociere cu metoda microbiologică (creștere pe medii de cultură) la începutul tratamentului, permite scurta durata tratamentului inadecvat al cazurilor noi de tuberculoză și a recidivelor, și împiedică răspândirea tulpinilor rezistente de *M. tuberculosis* [15].

Într-un studiu retrospectiv, efectuat în India în 2016, a fost comparativ evaluat randamentul diagnostic al testului *Xpert* în detectarea MTB în probele respiratorii (lavajul bronhoalveolar și spută) și a metodei microbiologice (creștere pe medii de cultură) [16]. În Sensibilitatea generală și specificitatea testului *Xpert MTB/RIF* au constituit, respectiv, 86,8% și 93,4%. Rezultatele obținute au fost comparabile cu cele din alte studii [17-20].

Algoritmul istoric, bazat pe frotiu/cultură, a fost la fel de eficace în identificarea cazurilor de TB, ca și algoritmul nou, bazat pe testul *Xpert MTB/RIF* [21, 22]. Însă, sunt necesare studii suplimentare pentru evaluarea factorilor care vor spori aderența la algoritm, în special, pentru cazurile cu rezultatul *Xpert negativ*, sau pentru persoanele care trăiesc cu HIV. Astfel, sunt create premise pentru studierea posibilității utilizării, în perspectivă, a testului *Xpert MTB/RIF* în zonele cu resurse limitate, în care algoritmul eficient, bazat pe frotiu/cultură este în vigoare [23].

În cel mai amplu studiu, efectuat până în prezent, dedicat evaluării rezultatelor utilizării testului *Xpert MTB/RIF* în zonele cu prevalență de TB scăzută, indicatorii de diagnostic în Statele Unite au fost similari cu cei ale regiunilor mai afectate din Brazilia și Africa de Sud, și comparabili cu indicatorii din alte zone cu prevalență înaltă de tuberculoză [24].

În studiul de față, o testare *Xpert MTB/RIF* a identificat 96% dintre cazurile de tuberculoza BAAR pozitivă / cultură pozitivă, iar două testări – a permis identificarea tuturor cazurilor. Este important de menționat că un test *Xpert MTB/RIF* a fost semnificativ mai sensibil decât trei froțiuni microscopice la BAAR, din subgrupul pentru care trei froțiuni au fost disponibile (82,0% vs. 61,5%,  $p < 0,001$ ).

Luând în considerație faptul, că nu a fost realizată nicio analiză sistematică, rezultatele din două studii de evaluare a impactului testului *Xpert MTB/RIF* asupra rezultatelor tratamentului, au fost prezentate și discutate. Primul studiu a fost o cercetare multinațională – TB-NEAT 20, efectuată în Africa de Sud, Zambia, Zimbabwe și Tanzania. Celălalt, a fost un studiu randomizat, pe clustere controlate, încorporate în implementarea testului *Xpert MTB/RIF* în Africa de Sud (*Xtend*). Utilizarea testului *Xpert MTB/RIF* nu a redus morbiditatea asociată cu tuberculoza, posibil, în mare parte din cauza utilizării pe scară largă a examenului radiologic a cutiei toracice pentru diagnosticarea tuberculozei și a tratamentului empiric, administrat bolnavilor de tuberculoză cu froțiuni negative [25]. Acest studiu a fost efectuat într-un stadiu incipient al implementării testului *Xpert MTB/RIF*, efectuat cu scop de diagnostic inițial

scopie was identified in 31 (60.8%) cases, and negative microscopy – in 20 (39.%) cases [14].

Data from a one study in Ukraine in 2015 denote that the *Xpert MTB/RIF* test is an effective and useful method for early diagnosis of tuberculosis. The *Xpert MTB/RIF* test using in association with the microbiological method (cultivation on culture media) at the beginning of treatment allows shorter duration of inadequate treatment of patients in new cases of tuberculosis and relapses and prevents the spread of *M. tuberculosis* resistant strains [15].

In the retrospective study conducted in India in 2016, the diagnostic performance of the *Xpert* test in the detection of MTB in respiratory samples (bronchial and sputum lavage) and the microbiological method (cultivation on culture media) were compared [16]. The study looked at the general sensitivity and specificity of the *Xpert MTB/RIF* test, which constituted 86.8% and 93.4%, respectively. The obtained results were comparable to those from other studies [17-20].

The historical algorithm based on smear/culture was as effective in identifying TB cases as the new algorithm based on the inclusion of the *Xpert MTB/RIF* test [21, 22]. Additional studies are needed to evaluate factors that increase adherence to the algorithm, especially for cases with negative *Xpert* result, or people living with HIV. Thus, prerequisites are created for the prospective use of the *Xpert MTB/RIF* test in areas with limited resources where the effective smear/culture algorithm is used [23].

In the largest study until now, dedicated to evaluate the use of the *Xpert MTB/RIF* test in areas with low TB prevalence, the *Xpert MTB/RIF* diagnostic indicators in the United States were similar to those with the higher tuberculosis prevalence regions in Brazil and South Africa, and were comparable to other studies in areas with high prevalence of tuberculosis [24].

In the present stud, one *Xpert MTB/RIF* test identified 96% of AFB positive/culture positive tuberculosis cases, and two *Xpert MTB/RIF* tests identified all AFB positive/culture positive TB cases. It is important to note that one *Xpert MTB/RIF* test was significantly more sensitive than three microscopic smears for AFB, in the subgroup for which three smears were available (82.0% vs. 61.5%,  $p < 0.001$ ).

Until now, no systemic analysis was performed, the results from two *Xpert MTB/RIF* test evaluations on treatment outcomes were presented and discussed. The first study was a multinational research – TB-NEAT 20, conducted in South Africa, Zambia, Zimbabwe and Tanzania. The other one was a randomized controlled cluster study embedded in implementation of the *Xpert MTB/RIF* test in South Africa (*Xtend*). The use of the *Xpert MTB/RIF* test did not reduce tuberculosis-related morbidity, possibly largely due to widespread use of the chest X-ray to diagnose tuberculosis and to empiric treatment for tuberculosis in patients with negative smears [25]. This study was conducted at an early stage during the *Xpert MTB/RIF* test implementation as an initial diagnostic investigation for all people in South Africa. The authors concluded, that if the link between diagnostic and treatment services is not optimal, the



pentru toate persoanele din Africa de Sud. Autorii au ajuns la concluzia că introducerea unui test nou într-un sistem de sănătate, în cazul în care legătura dintre serviciile de diagnostic și tratament nu este optimală, nu are impactul scontat. Autorii, de asemenea, au ajuns la concluzia că lipsa unui impact asupra mortalității pacienților ar putea fi atribuită utilizării pe scară largă a tratamentului antituberculos empiric în Africa de Sud [26].

### Concluzii

- 1) Pacientul cu TB MDR este, cel mai probabil, un bărbat de 35-44 de ani, fumător, care face abuz de alcool, muncitor necalificat, cu contact apropiat cu bolnavi de TB și, preponderent, depistat prin adresare.
- 2) Testul *Xpert MTB/RIF* a avut o sensibilitate mai înaltă față de metoda microscopică și a permis diagnosticarea rapidă a pacienților cu tuberculoză, inclusiv, rezistentă la rifampicină.
- 3) Durata medie de la testarea cu *Xpert MTB/RIF* și până la inițierea tratamentului antituberculos a constituit 10 zile, fapt care a permis oprirea răspândirii infecției tuberculoase rezistente.
- 4) Rata de succes al tratamentului, inițiat după testarea *Xpert* este mai mare, datorită inițierii lui precoce și a faptului, că pacienții sunt abacilați mai rapid. Ponderea bolnavilor care au eșuat tratamentul sau celor care au fost pierduți din supraveghere a fost mai redusă din contul scăderii semnificative a duratei tratamentului.

### Declarația de conflict de interese

Autorul declară lipsa conflictului de interese.

### Referințe / references

1. World Health Organization. Policy statement: automated real-time nucleic acid amplification technology for rapid and simultaneous detection of tuberculosis and rifampicin resistance: *Xpert MTB/RIF* system. Geneva, 2011.
2. Banada P., Sivasubramani S., Blakemore R. Containment of bio-aerosol infection risk by the *Xpert MTB/RIF* assay and its applicability to point-of-care settings. *J. Clin. Microbiol.*, 2010; 48 (10): 3551-7.
3. Ignatyeva O., Kontsevaya I., Kovalyov A. Detection of resistance to second-line antituberculosis drugs by use of the genotype MTBDRsl assay: a multicenter evaluation and feasibility study. *J. Clin. Microbiol.*, 2012; 50 (5): 1593-7.
4. Kontsevaya I., Ignatyeva O., Nikolayevskyy V. Diagnostic accuracy of the genotype MTBDRsl assay for rapid diagnosis of extensively drug-resistant tuberculosis in HIV-coinfected patients. *J. Clin. Microbiol.*, 2013; 51 (1): 243-8.
5. Steingart K., Sohn H., Schiller I. *Xpert MTB/RIF* assay for pulmonary tuberculosis and rifampicin resistance in adults. *Cochrane Database Syst. Rev.*, 2013; 1: CD009593.
6. Boehme C., Nabeta P., Hillemann D. Rapid molecular detection of tuberculosis and rifampin resistance. *N. Engl. J. Med.*, 2010; 363 (11): 1005-15.
7. Menzies N., Cohen T., Lin H., Murray M., Salomon J. Population health impact and cost-effectiveness of tuberculosis diagnosis with *Xpert MTB/RIF*: a dynamic simulation and economic evaluation. *PLoS Medicine*, 2012; 9 (11): e1001347.
8. Helb D., Jones M., Story E. Rapid detection of *M. tuberculosis* and rifampin resistance by use of on-demand near-patient technology. *J. Clin. Microbiol.*, 2010; 48 (1): 229-37.
9. El-Hajj H., Marras S., Tyagi S., Kramer F., Alland D. Detection of rifampin resistance in *M. tuberculosis* in a single tube with molecular beacons. *J. Clin. Microbiol.*, 2001; 39 (11): 4131-7.
10. Lawn S., Nicol M. *Xpert MTB/RIF* assay: development, evaluation and implementation of a new rapid molecular diagnostic for tuberculosis and rifampicin resistance. *Future Microbiol.*, 2011; 6 (9): 1067-82.
11. Blakemore R., Story E., Helb D. Evaluation of the analytical performance of the *Xpert MTB/RIF* assay. *J. Clin. Microbiol.*, 2010; 48 (7): 2495-501.
12. The use of molecular line probe assay for the detection of resistance to second-line anti-tuberculosis drugs: *Xpert MTB/RIF* Group meeting report. Geneva: WHO, 2013.
13. Lacerda S., de Abreu Temoteo R., Monteiro de Figueiredo T. *et al.* Individual and social vulnerabilities upon acquiring tuberculosis: a literature systematic review. *Int. Arch. Med.*, 2014; 7: 35.

introduction of a new test in a health system, can fully explain the partial results. They also concluded that a lack of impact on patient mortality could be attributed to the widespread use of empirical TB treatment in South Africa [26].

### Conclusions

- 1) The MDR TB patient is a 35-44 y.o. male, smoker, an often alcohol drinker, unskilled worker, predominant from close contact with TB patients and mostly detected by addressing.
- 2) The *Xpert MTB/RIF* test revealed a higher sensitivity than the microscopic method, indicating the priority of the *Xpert* test for rapid diagnosis of tuberculosis, including resistance to rifampicin.
- 3) The average duration between the *Xpert MTB/RIF* test examination and treatment start was 10 days, which allowed to stop the spread of resistant tuberculosis infection.
- 4) The rate of treatment success, initiated after the *Xpert* testing is higher due to early initiation of treatment, so sputum conversion in patients are obtained more rapidly. The percentage of patients who have failed treatment, and those who were lost to follow-up decreased significantly, due to the shortened duration of treatment.

### Declaration of conflict of interests

The author declares no conflict of interests.

14. Устиян А., Малик А., Нигуляну А., Лесник Э. Роль метода Xpert MTB/RIF в выявлении туберкулеза легких. *Смоленский медицинский альманах*, 2015; 157-158. [article in Russian]
15. Разнатовская Е., Михайлова А., Костенко И. Эффективность Genexpert MTB/RIF у больных с новыми случаями и рецидивами туберкулеза легких. *Журнал Актуальная инфектология*, 2015; 2 (7): 55-57. [article in Russian]
16. Agrawal M., Bajaj S., Dutt S. Comparative study of GeneXpert with Zn stain and culture in samples of suspected pulmonary tuberculosis. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 2016; 10 (5): 9-12.
17. Barnard D., Irusen E., Bruwer J. *et al.* The utility of Xpert MTB/RIF performed on bronchial washings obtained in patients with suspected pulmonary tuberculosis in a high prevalence setting. *BMC Pulm. Med.*, 2015; 15: 103.
18. Churchyard, G. J., W. S. Stevens, L. D. Mametja, *at al.* Xpert MTB/RIF versus sputum microscopy as the initial diagnostic test for tuberculosis: a cluster-randomised trial embedded in South African roll-out of Xpert MTB/RIF, *Lancet Glob Health*. 2015, 3, 8, p.450-457.
19. International standard for tuberculosis care. 3<sup>rd</sup> edition, 2014. [www.who.int/tb/publications/standards-tb-care-2014/](http://www.who.int/tb/publications/standards-tb-care-2014/).
20. Sharma S., Kohli M., Yadav R., Chaubey J., Bhasin D., Sreenivas V. *et al.* Evaluating the diagnostic accuracy of Xpert MTB/RIF assay in pulmonary tuberculosis. *PlosOne*, 2015; 10 (10): e0141011.
21. Churchyard G., McCarthy K., Fielding K. *et al.* Effect of Xpert MTB/RIF on early mortality in adults with suspected TB: a pragmatic randomized trial. *CROI*, 2014.
22. Cox H., Daniels J., Muller O. *et al.* Impact of decentralized care and the Xpert MTB/RIF test on rifampicin-resistant tuberculosis treatment initiation in Khayelitsha, South Africa. *Open Forum Infectious Diseases*, 2015; 2 (1): ofv014.
23. Naidoo P., Dunbar R., Lombard C. *et al.* Comparing tuberculosis diagnostic yield in smear/culture and Xpert MTB/RIF-based Algorithms Using a Non-Randomised stepped-wedge design. *PlosOne*, 2016; 11 (3): e0150487.
24. Luetkemeyer A., Firmhaber C., Kendall M. *et al.* Evaluation of Xpert MTB/RIF vs. AFB smear and culture to identify pulmonary tuberculosis in patients with suspected tuberculosis from low and higher prevalence settings. *Clin. Infect. Dis.*, 2016; 62 (9): 1081-1088.
25. Havlir D., Getahun H., Sanne I., Nunn P. Opportunities and challenges for HIV care in overlapping HIV and TB epidemics. *JAMA*, 2008; 300 (4): 423-30.
26. Scott L., McCarthy K., Gous N. Comparison of Xpert MTB/RIF with other nucleic acid technologies for diagnosing pulmonary tuberculosis in a high HIV prevalence setting: a prospective study. *PLoS Medicine*, 2011; 8 (7): e1001061.