

## XPert MTB/RIF – METODA RAPIDĂ ÎN DIAGNOSTICUL TUBERCULOZEI

Alina Malic – asist. univ.,  
IP USMF „Nicolae Testemițanu”

### Rezumat

Xpert MTB/RIF este un instrument nou și important pentru diagnosticul TB, care are potențialul de a avea un impact nu numai asupra rezultatelor individuale ale pacientului și a epidemiei TB în țările cu o povară mare. Datorită metodei Xpert MTB/RIF a fost stabilit principiul, conform căruia testele de amplificare a acizilor nucleici pentru diagnosticul TB pot fi sensibile, specifice și fezabile pentru aplicarea în zonele cu resursele insuficiente. Tot odată, există lacune de aplicabilitate a testului depășirea cărora va maximiza impactul potențial și cost-eficiența. Diagnosticul precoce al TB este un component valoros în cadrul strategiei globale de control a infecției tuberculoase. Concomitent cu aprovizionarea cu medicamentele antituberculoase, inițierea tratamentului oportun, asigurarea compleanței pacientului și spriginul social va contribui la ameliorarea situației epidemiologice.

**Cuvinte-cheie:** testul Xpert MTB/RIF, epidemia TB, cost-eficiența

### Summary. Xpert MTB/RIF test – the rapid method of the TB diagnosis

Xpert MTB/RIF is an important new tool for the diagnosis of TB, which has the potential to impact not only on individual patient outcomes, but also on the course of the TB epidemic in high burden countries. Due to the method Xpert MTB/RIF has been established the principle that nucleic acid amplification tests for the diagnosis of TB can be sensitive, specific and feasible for application in areas with insufficient resources. However, there are gaps applicability of the test to overcome them will maximize the potential impact and cost - effectiveness. Early diagnosis of TB is a valuable component in the overall strategy of TB infection control. Simultaneously with the supply of anti-TB drugs, initiation of appropriate treatment, ensuring the patient compliance and social support will help improve epidemiological situation.

**Key-words:** Xpert MTB/RIF test, TB epidemic, cost-effectiveness

### Резюме. Xpert MTB/RIF – быстрый метод в диагностике туберкулеза

Xpert MTB/RIF является новым, важным инструментом в диагностике туберкулеза. Он оказывает потенциальное влияние не только на индивидуальные результаты лечения пациентов, но и на эпидемию туберкулеза в целом, особенно, в странах с высоким бременем. Благодаря Xpert MTB/RIF был установлен принцип, согласно которому диагностические ТБ тесты амплификации нуклеиновых кислот являются чувствительными, специфичными и могут быть использованы в регионах с ограниченными ресурсами. Тем не менее, остаются проблемы рационального применения теста Xpert MTB/RIF, преодоление которых позволит максимизировать его потенциальную значимость и экономическую эффективность. Раннее выявление туберкулеза является важным компонентом глобальной стратегии контроля ТБ. Одновременное обеспечение противотуберкулезными препаратами, раннее начало адекватного лечения, повышение комплаентности пациентов и их социальная поддержка будут способствовать улучшению эпидемиологической ситуации.

**Ключевые слова:** тест Xpert MTB/RIF, эпидемия туберкулеза, экономическая эффективность

**Introducere.** La nivel mondial, în 2014, au fost înregistrate 3,3% cazuri noi și 20% cazuri tratate anterior de tuberculoza multidrogrezistentă (TB MDR). În țările Europei de Est și Asiei Centrale rata TB MDR rămâne a fi cea mai înaltă. Republica Moldova este o țară cu o povară mare a TB MDR. OMS în 2014 în Republica Moldova a estimat 24% cazuri noi și 62% cazuri de retratament TB MDR. Depistarea precoce a cazurilor de TB, în special a cazurilor de MDR-TB reprezintă cea mai relevantă acțiune de control al tuberculozei. Astfel, tratamentul precoce al unui caz nou, depistat cât mai devreme, este considerat cel mai eficient instrument de întrerupere a lanțului epidemiologic în transmiterea infecției.

Metodele culturale rămân standardul de aur pentru diagnosticul tuberculozei pulmonare. Microscopia convențională, care este utilizată pentru identificarea bacililor alcoolacidorezistente (BAAR), este primul pas în algoritmul de detectare a tuberculozei și cea mai răspândită în lume metodă de investigație pentru diagnosticul tuberculozei. Sensibilitatea redusă a metodelor microscopice convenționale pune în pericol situația epidemiologică actuală. Utilizarea testelor moleculare rapide pentru detectarea rezistenței la medicamente este esențială pentru inițierea cât mai precoce a unui tratament adecvat al pacienților cu tuberculoză și pentru limitarea răspândirii TB multidrog-rezistente. OMS a stabilit recomandă-

rilor condiționale pentru utilizarea Xpert MTB/RIF la adulți, copii și persoanele cu HIV, care sunt suspecți de TB (nu în special TB MDR), sau pentru testarea speciilor extrapulmonare, care vizează diagnosticul de TB extrapulmonară.

Xpert MTB/RIF reprezintă dispozitiv medical de diagnostic *in vitro* deținut de către compania Cepheid. Xpert MTB/RIF reprezintă o reacție polimerizării în lanț cantitativă, în timp real, pentru detectarea ADN-ului a tuturor speciilor *Mycobacterium tuberculosis complex* și mutației ale genei *rpoB*, care codează rezistența la rifampicină. Sistemul Xpert MTB/RIF integrează dispozitiv Xpert MTB/RIF, un calculator și un cititor de bar-coduri. Sistemul automat procesează probele, amplifică acizile nucleice și detectează secvențele țintă ale genei *rpoB*. Praimerii utilizați de sistem amplificăți de porțiunea genei *rpoB*, care conține 81 perechi nucleotidice de bază. Astfel, testul este capabil de a diferenția secvența sălbatică și mutație în regiunea de bază a genei *rpoB*. Orice probă biologică (sputa, lavaj bronhoalveolar, lichidul cefalorahidian etc.) pot fi prelucrate în condițiile în care necesită volumul minim a probei de 2 ml. Câteva rezultate standarde trebuie să fie cunoscute pentru interpretarea adecvată a metodei Xpert MTB/RIF: 1. MTB identificat & rezistență la RIF, înseamnă că ținta în MTB este detectată și mutația genei *rpoB* este prezentă; 2. MTB detectat RIF sensibilă, înseamnă că ținta în MTB este prezentă și nu a fost detectată nici o mutație a genei *rpoB*; 3. MTB nu este detectată & în proba-țintă în MTB nu este detectată. Necătând, că interpretările sunt clar definite rezultatele testului trebuie să fie întotdeauna corelate cu datele de laborator și clinice ale pacientului investigat. Conform datelor aprobate s-a stabilit, că din 3 probe de spută pentru fiecare pacient examinat prin testul Xpert MTB/RIF sensibilitatea între probele cu cultura pozitivă în medie este 97,3%, iar în rândul pacienților cu frotiu pozitiv - 99,5%. Specificitatea testul Xpert MTB/RIF comparativ cu pacienții non-tuberculoși a fost de 97,9% [5]. În același studiu la pacienții cu trei probe colectate sensibilitatea pentru rezistența la RIF (*rpoB* mutația genei), detectată între pacienți rezistenți la RIF fenotipic (prin cultură) a fost identificată de 96,1% și specificitatea la pacienții fenotipic sensibili la RIF a fost de 98%. Rata de eroare variază între 3 și 4%. Sensibilitatea testului ușor scade dacă a fost colectată numai o singură probă de spută. Cu toate acestea rezultatul negativ nu exclude tuberculoza activă, ce duce la necesitatea utilizării altor metode diagnostice importante la pacienții cu suspexie la TB. Acest test nu poate fi utilizat pentru evaluarea rezultatelor tratamentului (succes sau eșec), deoare-

ce ADN-ul MTB persistă timp îndelungat în urma terapiei antituberculoase.

Un Cochrane-reviu recent [11] este redată analiza datelor cu scopul determinării acurateței testul Xpert MTB/RIF, care se utilizează pentru detectarea TB și a rezistenței la rifampicină la adulți. Au fost analizate 15 studii, care au inclus 7517 de participanți. Sensibilitatea testului dintr-o singură probă de spută a constituit 88% și specificitatea - 98%. Sensibilitatea la pacienții cu frotiu pozitiv a fost 98%, iar la cei cu frotiu negativ - 68%. La persoanele care trăiesc cu HIV, sensibilitatea a fost 80%, iar la cei fără infecție HIV - 89%. Studiul multicentric denotă creșterea progresivă a sensibilității în rândul pacienților cu frotiu negativ, în cadrul efectuării testul Xpert MTB/RIF din a doua și a treia probă de spută, care a constituit 12,6% și 5,1%, respective [3]. Luând în considerație de faptul că studiile au fost efectuate în țările în curs de dezvoltare cu resurse materiale limitate, examinările prin Xpert MTB/RIF au predominat în laboratoarele de referință față de cele periferice și în cadrul altor instituții medicale [10].

Sensibilitatea estimată a rezistenței la rifampicină identificată prin testul Xpert MTB/RIF (11 studii, 2340 de participanți) a fost 94% și specificitatea - 98%. Este relevant de notat faptul, că în cadrul unui studiu algoritmul utilizat pentru determinarea rezistenței la rifampicină a fost modificat [11] și, modificarea testului diferă între studiile în această meta-analiză. Modificarea a fost elaborată cu scopul de a spori specificitatea evaluării rezistenței la rifampicină, după identificarea fals-rezistenței la rifampicină. Ulterior, testul a fost modificat suplimentar (versiunea G4, lansată în decembrie 2011), cu scopul de a îmbunătăți în continuare specificitatea și pentru a reduce datele de eroare a testului. Există un număr de publicații limitat, care reflectă datele privind acuratețea testului G4 pentru detectarea rezistenței la rifampicină. Studiul efectuat în Africa de Sud, raportează o valoare predictivă pozitivă (99,4%) a testului Xpert MTB/RIF modificat. Toate cazurile de rezistență la rifampicină identificate prin metoda Xpert MTB/RIF au fost confirmate prin teste Hain [7].

Câteva studii clinice au examinat acuratețea testului Xpert MTB/RIF pentru detectarea tuberculozei la copii. S-a constatat, că sensibilitatea la copii a fost mai josă comparativ cu cea la adulți, reflectând posibil natura paucibacilară a bolii în copilărie și dificultăți în obținerea unor specimente adecvate pentru testare. A fost constatat, că sensibilitatea testului Xpert MTB/RIF dintr-o singură probă de spută, pentru detectarea TB, a variat de la 59 până la 90%, în spută (inclusiv în sputa indusă), în funcție de numărul de probe cultivate pentru a stabili standardul

de referință. Sensibilitatea lavajului gastric a fost 69% și pentru aspirate nazofaringiene - 48%. Specificitatea pentru toate tipurile de specimene a fost similară cu cea pentru TB pentru adulți [9]. Luând în considerație sensibilitatea moderată a testului Xpert MTB/RIF efectuat dintr-o singură probă de spută, această metodă nu poate fi folosită pentru monitorizarea TB, în special, la persoanele care trăiesc cu HIV. Algoritmii de diagnostic pentru evaluarea ulterioară a suspecților la TB cu rezultatul testului Xpert MTB/RIF - negativ, nu au fost bine evaluate și sunt influențate de costuri majorate. Recomandările recente ale OMS pentru persoanele suspectate de TB, cu coinfectia TB/HIV, cu test Xpert MTB/RIF negativ [9] includ evaluarea clinică pentru TB extrapulmonară sau alte boli, radiografia toracică și tratamentul cu antibiotice cu spectrul larg. În cazul lipsei unui răspuns sau răspunsului parțial la terapia cu antibiotice, se recomandă efectuarea repetată a testului Xpert MTB/RIF. Pentru pacienții cu starea generală gravă se recomandă repetarea testului de urgență. Totuși, nu există dovezi clare, convingătoare pentru aceste recomandări. Prin contrast, în Africa de Sud, unde testarea Xpert MTB/RIF, în mare măsură, a înlocuit examenul microscopic, ca testul de prima linie, algoritmul național recomandă utilizarea metodei culturale pentru toți suspecții de TB infectați cu HIV cu rezultatul testului Xpert MTB/RIF negativ. Aceasta este o strategie costisitoare și există unele dovezi că testul Xpert MTB/RIF dintr-o a doua proba de spută poate fi mai relevant la acești pacienți [2].

Cercetările suplimentare sunt urgent necesare pentru identificarea celor mai rentabile strategii de testare, care probabil va varia în funcție de prevalența tuberculozei și a ratelor HIV-infecției precum și TB MDR. Valoarea predictivă pozitivă a unui rezultat Xpert MTB/RIF pozitiv, rezistent la rifampicină este mult mai mare printre suspecții la TB cu risc sporit, de exemplu, în cazul pacienților cu eșec terapeutic.

În timp ce metoda Xpert MTB/RIF reprezintă un progres major comparativ cu metoda microscopică convențională de examinare, costul testului creează un obstacol major în implementarea testului molecular - genetic pe scară largă. Literatura de specialitate consultată dispune de informație limitată privind studiile efectuate, ce confirmă avantajele testului - micșorarea perioadei de diagnostic și tratamentului adecvat.

**În concluzie** putem menționa, că Xpert MTB/RIF este un test rapid, automatizat, care poate detecta atât TB, cât și rezistența la rifampicină, în termen

de două ore, cu implicarea minimă a personalului medical. Sensibilitatea înaltă la pacienții cu frotiuri pozitive și sensibilitatea modestă la cei cu frotiuri negative, împreună cu specificitatea înaltă favorizează diagnosticul precoce al tuberculozei concomitent cu identificarea rezistenței la rifampicină la persoanele cu suspecție la TB, TB MDR sau TB asociată cu HIV. Deasemenea, testul Xpert MTB/RIF aduce un aport valoros în cadrul examinării suspecților la TB cu microscopia negativă. Sensibilitatea și specificitatea înaltă a metodei Xpert MTB/RIF în detectarea rezistenței la rifampicină argumentează aplicarea testului în cadrul diagnosticului inițial pentru identificarea rezistenței la rifampicină. Astfel doar costul înalt al metodei împiedică implementarea pe scară largă în practica medicală.

### Bibliografie

1. Geneva: World Health Organization; 2011. *Policy statement: automated real-time nucleic acid amplification technology for rapid and simultaneous detection of tuberculosis and rifampicin resistance: Xpert MTB/RIF system.*
2. Havlir D.V., Getahun H., Sanne I., Nunn P. *Opportunities and challenges for HIV care in overlapping HIV and TB epidemics.*, JAMA, 2008; 300(4):423-30.
3. Boehme C.C., Nabeta P., Hillemann D. *Rapid molecular detection of tuberculosis and rifampin resistance.*, N Engl J Med, 2010; 363(11):1005-15.
4. Scott L.E., 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.
5. Teo J., Jureen R., Chiang D., Chan D., Lin R. *Comparison of two nucleic acid amplification assays. the Xpert MTB/RIF assay and the amplified Mycobacterium Tuberculosis Direct a say for detection of Mycobacterium tuberculosis in respiratory and nonrespiratory specimens.*, J Clin Microbiol, 2011; 49(10):3659-62.
6. Helb D., Jones M., Story E. *Rapid detection of Mycobacterium tuberculosis and rifampin resistance by use of on-demand. near-patient technology.*, J Clin Microbiol, 2010; 48(1):229-37.
7. El-Hajj H.H., Marras S.A., Tyagi S., Kramer F.R., Alland D. *Detection of rifampin resistance in Mycobacterium tuberculosis in a single tube with molecular beacon.*, J Clin Microbiol, 2001; 39(11):4131-7.
8. Lawn S.D., Nicol M.P. *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.
9. 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.

10. Banada P.P., Sivasubramani S.K., Blakemore R. *Containment of bioaerosol infection risk by the Xpert MTB/RIF assay and its applicability to point-of-care settings.*, J Clin Microbiol, 2010;48(10):3551–7.
11. Boehme C.C., Nicol M.P., Nabeta P. *Feasibility diagnostic accuracy and effectiveness of decentralised use of the Xpert MTB/RIF test for diagnosis of tuberculosis and multidrug resistance multicentre implementation study.*, Lancet, 2011;377(9776):1495–505.