

CONCORDANȚA PROFILURILOR DE REZISTENȚĂ ÎN CAZURILE SECUNDARE DE TUBERCULOZĂ VERSUS CAZURILE INDEX

Elena Chesov¹- doctorand, asist. univ., Greta Bălan¹- dr. șt. med, conf. univ.,

Nelly Ciobanu²- doctorand, Stela Racoviță¹- doctorand, asist. univ.,

Valeriu Crudu²- dr. șt. med, conf. cercet.

¹ Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”

² IMSP Institutul de Ftiziopneumologie „Chiril Draganiuc”

elena.chesov@usmf.md

Rezumat

Scopul. Studiarea profilurilor de rezistență a *Mycobacterium tuberculosis* în cazurile secundare versus cazurile index de tuberculoză pulmonară diagnosticate în același focar intra-domiciliar.

Material și metode. Studiu retrospectiv de comparare a rezultatelor testelor de sensibilitate la medicamentele pe medii solide (Lowenstein-Jensen) obținute la momentul stabilirii diagnosticului de tuberculoză în cazurile index și cele secundare provenite din același focar intra-domiciliar, înregistrate pe parcursul anului 2012 în diferite raioane ale Republicii Moldova.

Rezultate. Au fost analizate rezultatele investigațiilor microbiologice a 92 perechi caz index-caz secundar de tuberculoză pulmonară înregistrate în perioada anului 2012. Corespunderea spectrului de rezistență la preparatele de linia întâi a cazului secundar comparativ cu cazul index se atestă în 2/3 dintre perechile studiate. Rata corespunderii profilurilor de rezistență la izoniazidă și rifampicină în focarele cu caz index TB MDR atinge 90% în timp ce focarele cu caz index TB sensibil este de 65%. Rata corespunderii profilului de rezistență în focarele cu caz index BAAR+ nu diferă semnificativ cu cea din focarele cu cazul index cu BAAR. Pentru preparatele antituberculoase de linia a doua spectrul de sensibilitate a corespuns în 59% pentru kanamicină- ofloxacină, iar pentru etambutol - cicloserină în 39%.

Concluzii. Compararea profilului de rezistență a tulpinilor *Mycobacterium tuberculosis* izolate în cazurile index și cele secundare de tuberculoză depistate în aceeași gospodărie evidențiază o rată semnificativă de necorespondere dintre acestea, ceea ce sugerează riscul sporit de transmitere intracomunitară (extradomiciliară) a infecției tuberculoase. Sunt necesare studii cu aplicarea tehnicilor moleculare de secvențiere pentru confirmarea fenomenului.

Cuvinte-cheie. TB MDR, *Mycobacterium tuberculosis*, caz secundar, caz index

Summary. Conformance of resistance profiles in cases of secondary tuberculosis versus index cases.

Aim. To analyze resistance profiles of *Mycobacterium tuberculosis* in index and secondary tuberculosis cases registered in the same household.

Methods. We performed a retrospective study to compare drug sensitivity tests results on solid media (Lowenstein-Jensen) of *Mycobacterium tuberculosis* strains isolated at the time of diagnosis from index and corresponding secondary tuberculosis cases registered in the same household, registered in 2012, in Republic of Moldova.

Results. The microbiological tests of 92 index and corresponding secondary tuberculosis cases were analyzed. A similar resistance profile for the first line TB drugs in secondary cases compared with the index cases is attested in 2/3 of the analyzed pairs. The rate of similar isoniazid and rifampicin resistance profiles in household outbreaks with MDR TB index case reaches 90%, while in those with sensitive TB cases is 65%. The rate of similar resistance profile in outbreaks with positive sputum smear index case does not differ significantly from that in the outbreaks with smear negative index case. At the same time for the second-line tuberculosis drug the similarity rate is 59% for kanamycin - ofloxacin and 39% for ethambutol - cycloserine.

Conclusions. Comparison of the resistance profile of *Mycobacterium tuberculosis* isolated in index and secondary TB cases isolated in the same household revealed a significant rate of divergence of that, which suggest a high risk in the community outside of household. Molecular sequencing studies are required to prove the phenomenon.

Key words. MDR TB, *Mycobacterium tuberculosis*, secondary case, index case.

Резюме. Соответствие профилей устойчивости в вторичных случае туберкулеза в отношении индексов случаев.

Цель. Проанализировать профили резистентности штаммов *Mycobacterium tuberculosis* в индексных и вторичных очагах туберкулеза, зарегистрированных в одном и том же внутрихозяйственном очаге.

Методы. Было проведено ретроспективное исследование по сравнению результатов тестов чувствительности к лекарственным препаратам на твердых средах (Lowenstein-Jensen) штаммов *Mycobacterium tuberculosis*, выделенных во время диагностики у индексных и соответствующих вторичных больных туберкулезом, зарегистрированных в том же внутрихозяйственном очаге, зарегистрированных в 2012 году, в Республике Молдова.

Результаты. Были проанализированы микробиологические тесты 92-х индексных и соответствующих вторичных случаев туберкулеза. Аналогичный профиль резистентности по первой линии противотуберкулезных препаратов во вторичных по сравнению с индексными случаями обнаружен в 2/3 проанализированных пар. Частота одинаковых профилей резистентности изониазида и рифампицина в очагах с множественно лекарственно устойчивым индексным случаем туберкулеза достигает 90%, а в очагах с лекарственно чувствительным индексным случаем туберкулеза - 65%. Частота одинакового профиля резистентности в очагах с индексным случаем с положительной микроскопией мокроты отличается несущественно по сравнению с очагами с индексным случаем с отрицательной микроскопией. В то же время для противотуберкулезных препаратов второй линии частота сходства во вторичных по сравнению с индексными случаями составляет 59% для канамицина - офлоксацина и 39% для этамбутола-циклосерина.

Выводы. Сравнение профиля резистентности штаммов *Mycobacterium tuberculosis*, выделенного в индексных и вторичных случаях ТБ, зарегистрированных в одном и том же домохозяйстве, показало значительную степень расхождения, что свидетельствует о высоком риске распространения инфекции за пределами внутрихозяйственного очага. Для подтверждения этого явления необходимы исследования с применением методов молекулярного секвенирования.

Ключевые слова. МЛУ ТБ, *Mycobacterium tuberculosis*, вторичный случай, индексный случай.

Introducere

Tuberculoza (TB) continuă să prezinte o amenințare pentru sănătatea publică. Creșterea în ultimii ani a numărului de bolnavi cu Tuberculoză multidrogresistentă (TB MDR) a devenit o problemă alarmantă.

Un moment important în combaterea tuberculozei, este cunoașterea continuității lanțului de infecție și descoperirea de noi cazuri [2].

Date contradictorii sunt asupra termenului expunerii în focarul de TB [1, 2]. Cu privire la spectrul de rezistență a *M. tuberculosis* în cazurile coprelevante sunt câteva publicații. L. Teixeira ș a. (2001) menționează că în cazurile de TB MDR coprelevante au avut același spectru de rezistență ca și cazurile index.

Un alt grup de autori au constatat 8% cazuri coprelevante de MDR TB, și 84% au MDR TB și numai 17% au avut același spectru de sensibilitate ca și în cazul index [5].

Informația cu privire la particularitățile TB dezvoltate în focarul de tuberculoză, spectrul de rezistență a *M. tuberculosis* în focarul de tuberculoză și structurii focarului, este insuficientă și contradictorie. Cercetările sunt necesare și pentru a determina barierele în activitățile din focar pentru a permite elaborarea programelor eficiente de dezvoltare a activităților. Identificarea factorilor de risc de dezvoltare a tuberculozei sunt semnificativi pentru consolidarea și punerea în aplicare a programelor de control a tuberculozei.

Cercetările sunt necesare și pentru a determina barierele în activitățile din focar pentru a permite elaborarea programelor eficiente de dezvoltare a activităților.

Scopul studiului

Studierea profilurilor de rezistență a *Mycobacterium tuberculosis* în cazurile secundare versus cazuri-

rile index de tuberculoză pulmonară diagnosticate în același focar intra-domiciliar.

Material și metode

Studiu efectuat este un studiu analitic de tip transversal. Pentru evaluarea corespunderii paternurilor de rezistență antituberculoasă la cazurile index și cazurile secundare provenite din același focar a fost studiat spectrul rezistenței la preparatele de linia I și II.

Informația dată a fost colectată din secția Monitorizare Evaluare și Integrare a Serviciilor de Asistență Medicală (MEISAM) din lista focarelor și informația privind cazurile de TB din Sistemului Informațional de Monitorizare și Evaluare a Tuberculozei (SIME TB). Rezultatele examinărilor microscopice au fost obținute din versiunea electronică a formularelor TB 06 disponibilă în baza de date SIME TB. Caracteristicile clinico-demografice ale lotului studiat au fost obținute din versiunea electronică a formularelor TB 089/1e disponibile în SIME TB.

Subiecții cercetării au fost cazul index al cazului secundar de TB și cazul secundar de tuberculoză provenit din același focar de infecție cu cazul index. Criterii de includere a acestor cazuri sunt: confirmarea microbiologică prin cultură a cazului secundar de TB, cunoașterea cazului index a cazului secundar de TB și confirmarea contactului casnic sau a contactului apropiat dintre cazul secundar de TB și cazul index. În rezultat au fost analizate 184 cazuri, respectiv 92 perechi formate din cazul index și cazul secundar de TB.

Au fost cercetate rezultatele analizelor microbiologice efectuate prin următoarele metode: Microscopia, izolarea tulpinilor pe medii nutritive (metoda culturală) și testarea sensibilității tulpinilor izolate. Ca materiale pentru cercetare s-au folosit diferite produse patologice: spută, spălături bronșice, spută după

spălături bronșice, spută după inhalări iritante, urină ș.a.

Microscopia include: colorarea frotiurilor sputei după metoda Ziehl-Neelson și examinarea la microscop binocular.

Metoda culturii cu testarea sensibilității *M. tuberculosis* este utilizată în scopul diagnosticului diferențial al tuberculozei; testării sensibilității agentului patogen la preparatele antituberculoase și determinarea apartenenței taxonomice a agentului patogen [5]. Testarea rezistenței tulpinilor izolate de *M. tuberculosis* la preparatele antituberculoase în studiul dat, a fost utilizată metoda concentrațiilor absolute (Meissner) pe mediul Lowenstein-Jensen, care pe larg se utilizează în toate laboratoarele de referință în microbiologia tuberculozei din Republica Moldova. Produsele patologice prelucrate se însămânțează pe mediile nutritive Lowenstein-Jensen și MAN-15. Au fost utilizate următoarele doze și preparate: H-1,0 μg/ml, R- 40 μg/ml, E - 2 μg/ml; S - 5 μg/ml. Cultura se consideră sensibilă la concentrația respectivă de preparat, dacă în eprubeta cu mediul, ce conține preparatul respectiv au crescut mai puțin de 20 colonii comparativ cu creșterea abundentă în eprubeta de control (număr de colonii între 50- 200).

Rezultate

Analiza caracteristicilor epidemiologice a lotului studiat

În cadrul studiului au fost analizate rezultatele investigațiilor microbiologice a 92 perechi, cazuri confirmate de Tuberculoză, înregistrate în baza de date a Sistemului Informațional de Monitorizare și Evaluare a Tuberculozei (SIME TB) pe perioada anului 2012. Studiul a inclus analiza comparativă a rezultatelor microscopiei optice la BAAR și studierii sensibilității efectuate prin cultivarea *M. tuberculosis*

pe medii solide, precum și a unor date epidemiologice ale cazurilor index de Tuberculoză și a cazurilor secundare provenite din același focar. În studiu au fost incluse rezultatele examinărilor microbiologice ale sputei care au servit pentru stabilirea diagnosticului de tuberculoză, fiind excluse evaluările cu scop de monitorizare a eficienței tratamentului. Rezultatele examinărilor microscopice au fost obținute din versiunea electronică a formularelor TB 06 disponibilă în baza de date SIME TB. Caracteristicile clinico-demografice ale lotului studiat au fost obținute din versiunea electronică a formularelor TB 089/1e disponibile în SIME TB.

În studiu au fost incluse 184 bolnavi de tuberculoză din 25 de raioane ale Republicii Moldova. Cele mai multe cazuri de Tuberculoză incluse în lot sunt din Cahul (8,7%), Ungheni (7,6%), Călărași (6,5%), Căușeni (6,5%), Orhei (6,5%), Telenești (6,5%), Bălți (5,5%), Ștefan Vodă (5,5%), Anenii Noi (4,3%), Cimișlia (4,3%), Criuleni (4,3%), Edineț (4,3%), Soroca (4,3%), Strășeni (4,3%).

Analizând toate cazurile după gen raportul B/F a constituit 2:1.

Cele mai multe cazuri analizate sunt incluse în grupa de vârstă 25-34 ani 27,2 % (50/184) după care urmează grupele de vârstă: 35-44 și 45-54 ani cu 23,9% (44/184) și 16,3% (30/184) respectiv. La analiza cazurilor după criteriul de gen și vârstă observăm că în grupul de vârstă 15-24 ani prevalează genul feminin, pe când în grupul de vârstă 55-64 ani prevalează sexul masculin, în ambele cazuri raportul este de 2:1. Cele mai puține cazuri analizate cuprind grupele de vârstă 0-14 ani și 65+ cu respectiv doar 2,2% (4/184).

Studierea corespunderii profilurilor de rezistență dintre cazurile index și cazurile secundare de Tuberculoză pentru preparatele de linia I (HRES)

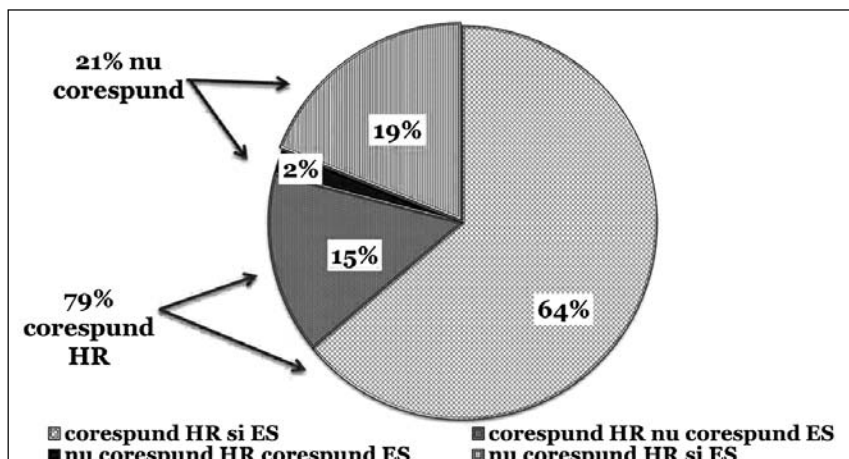


Fig. 1. Corespunderea profilurilor de rezistență dintre cazurile index și cazurile secundare de tuberculoză pentru preparatele de linia I (HRES)

Au fost analizate 92 de perechi cazuri index și secundare de tuberculoză cu proveniență din același focar. La analiza comparativă a cazului index cu cazul secundar după spectrul de sensibilitate la preparatele de linia I izoniazidă și rimfapicină (HR) s-a determinat corespunderea în 79,3% (73/92) dintre perechi, iar corespunderea spectrului de sensibilitate la preparatele etambutol și streptomicină (ES) a fost determinată în 66,3% (61/92) dintre perechi.

Corespunderea totală a spectrului de sensibilitate la cele 4 preparate de linia I (izoniazidă, rimfapicină, etambutol, streptomicină) a fost înregistrată în 64,1% (59/92). Dintre acestea cea mai înaltă pondere de 62,7% (37/59) din cazurile perechi au fost rezistente la toate preparatele de linia I (HRES), iar la 10,2% (6/59) din cazuri a fost dobândită rezistența la 2 preparate antituberculoase izoniazidă și streptomicină (HS) și doar în 16,9% (10/59) din cazuri perechi s-a determinat că atât cazurile index cât și cazurile secundare au fost sensibile la HRES.

Din cele 92 perechi am observat că doar în cazul a 17, cazul index a fost sensibil la cele patru preparate antituberculoase de linia I HRES (izoniazidă, rimfapicină, etambutol, streptomicină) aceste perechi au corespuns cu cazul secundar în 64,7% (10/17) fiind sensibile la preparatele date.

În cazul bolnavilor cu TB MDR, la care se cunoaște cu probabilitate înaltă cazul index, de la care a fost contractată boală, se va stabili tratamentul în baza rezultatelor testelor de sensibilitate la *M. tuberculosis* (TSM) a cazului index, până la obținerea rezultatelor propriului TSM [4]. Același principiu ar putea fi aplicat și în cazul necesității inițierii unui tratament profilactic la persoanele contacte cu un bolnav de TB MDR [6]. În acest sens deosebit de importantă este diagnosticarea cât mai precoce a cazurilor de TB MDR și inițierea unui tratament adecvat.

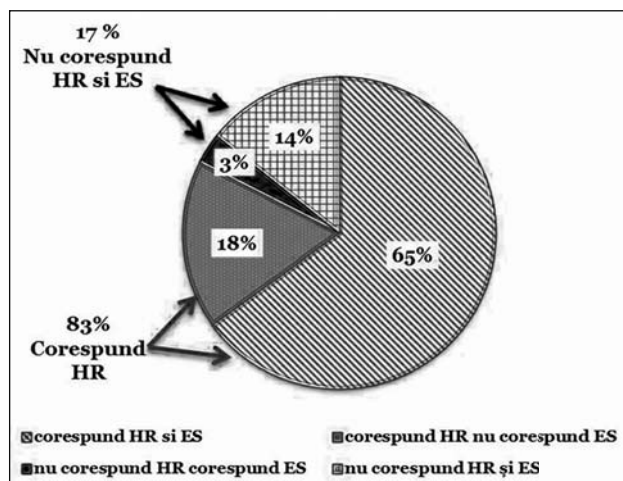


Fig. 2. Corespunderea spectrului de rezistență la bolnavii cu microscopia BAAR+

Aprecierea corespunderii spectrului de rezistență la bolnavii cu microscopia BAAR+

A fost studiată corespunderea profilurilor de rezistență dintre cazurile index și cazurile secundare de Tuberculoză în toate cazurile cu microscopia la BAAR pozitivă, astfel s-a stabilit că la 63 perechi cu microscopia pozitivă 82,5% (52/63) cazuri perechi au corespuns pe HR iar în 68,3% (43/63) a corespuns pentru ES. Corespunderea totalmente după profilul de rezistență atât la preparatele HR cât și la ES a fost stabilită în 65,0% (41/63) dintre acestea în 61% (25/41) perechile au fost rezistente la cele 4 preparate de linia I și în 17,5% (7/41) au fost sensibile HRES).

Aprecierea corespunderii spectrului de rezistență la bolnavii cu microscopia BAAR-

De asemenea au fost studiate spectrele de rezistență la preparatele antituberculoase de linia I la perechile unde cazul index era BAAR negativ. În urma analizei am stabilit că din cele 26 perechi caz index - caz secundar unde cazul index era BAAR-corespunderea spectrului de sensibilitate la HR a fost obținut în 84,6% (22/26) iar corespunderea la ES în 88,5% (21/26). Spectrul de rezistență pentru preparatele antituberculoase de linia I a corespuns exact pe cele 4 preparate la cazul index și cazul secundar în 73,1% (19/26) și doar în cazul a 15,4% (4/26) nu a corespuns pe nici unul din cele 4 preparate.

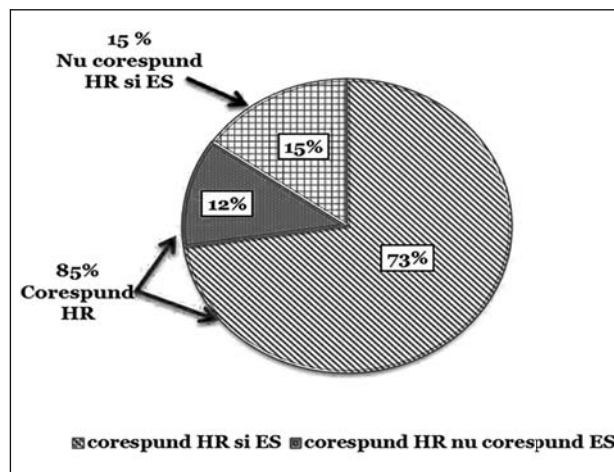


Fig. 3. Corespunderea spectrului de rezistență la bolnavii cu microscopia BAAR-

Studiarea corespunderii profilurilor de sensibilitate dintre cazurile index și cazurile secundare de Tuberculoză pentru preparatele de linia II

Corespunderea profilurilor de sensibilitate a fost analizată și pe linia a II-a de medicamente antituberculoase. Au fost cercetate perechile caz index - caz secundar sensibile la preparatele kanamicină și ofloxacină (KmO) cât și corespunderea spectrului de sensibilitate pe ethionamidă, cicloserină și acid pa-

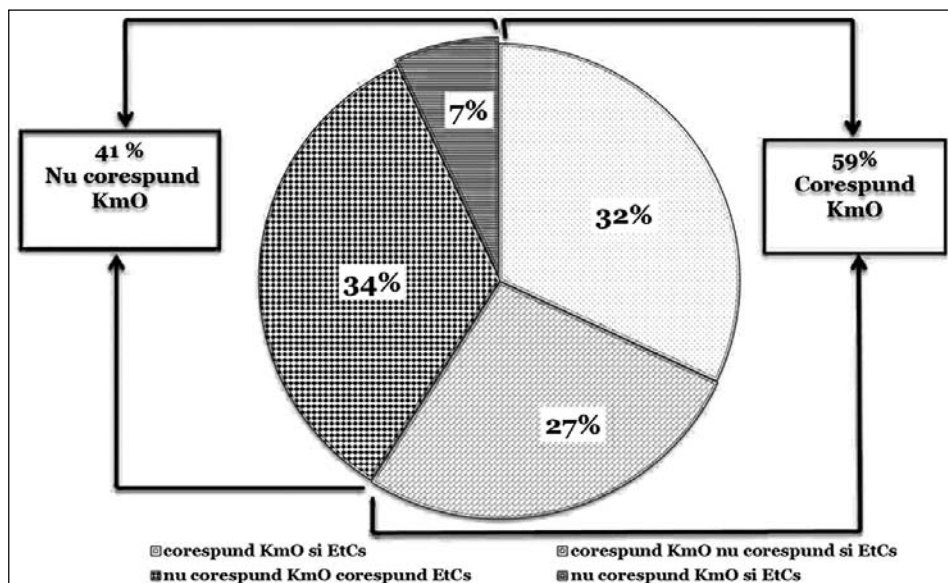


Fig. 4. Corespunderea profilurilor de rezistență dintre cazurile index și cazurile secundare de tuberculoză pentru preparatele de linia II

ra-aminosalicilic (EtCsPs). Toate perechile au fost testate la preparatele de linia a II-a.

În urma analizei am obținut următoarele date: în 59% (24/41) din cazurile perechi spectrul de sensibilitate la cazul index a concis cu cazul secundar pentru preparatele KmO. Pentru preparatele EtCs spectrul de sensibilitate a corespuns în 39% (16/41) cazuri.

Spectrele de sensibilitate care au corespuns exact atât la cazul index cât și la cazul secundar pentru preparatele de linia a II-a sunt: EtKmOCsPs - 38,5%, KmOCsPs - 23,0%, EtKmPs - 15,4%, EtKmOCs - 15,4%, KmCsPs - 7,7%.

Dintre cazurile care nu au corespuns pe preparatele KmO 7,3% (3/41) au corespuns pe EtCs. Din cele 41 perechi analizate la 34,2% (14/41) cazuri nu a corespuns spectrul de sensibilitate al cazului index cu cel al cazului secundar pe nici un preparat de linia a II.

Discuții

Raportând datele obținute în urma studiului cu publicațiile existente privitor la spectrul de rezistență a tulpinilor MBT ale cazului de TB secundar versus cazul index sunt oarecum diferite de la o lucrare la alta. Astfel un studiu ce a analizat TSM-urile la 129 de cazuri secundare versus cazurile index a găsit corespunderea dintre acestea în 59,7% (51,1%-67,8%) [19]. În același timp, datele studiului semnat de Bayona et al. relevă o rată mult mai scăzută a corespunderii astfel încât aceasta nu depășește 17% [9]. O altă lucrare cu un număr comparabil de subiecți ai cercetării (n=112) descrie corespunderea completă a profilurilor de sensibilitate în o treime dintre cazuri (36%) [10]. Teixeira et. al. raportează, în baza TSM a 15 cazuri de TB

MDR, despre corespunderea în peste 90% a profilului de rezistență [8]. Ratele de concordanță în studiile citate sunt diferite, depind de mărimea și modalitatea de colectare a loturilor de studiu în diferite lucrări. Există situația în care pacientul contact s-a infectat de la o altă sursă exterioară sau posibil că persoana contact a achiziționat tulpina de la cazul index anterior ca aceasta să dezvolte rezistență adițională [11, 12]. O altă explicație ar putea fi dată de fenomenul de heterorezistență, ce presupune găzduirea de către cazul index a două tulpini diferite. Studiile cu aplicarea a genotipării demonstrează ca în 10-38% dintre cazurile probabil rezultate dintr-un contact casnic cu un bolnav TB MDR au o tulpină *M. tuberculosis* diferită de cea a cazului index [7, 13].

Concluzii

Compararea profilului de rezistență a tulpinilor *Mycobacterium tuberculosis* izolate în cazurile index și cele secundare de tuberculoză depistate în aceeași gospodărie evidențiază o rată semnificativă de necorespondere dintre acestea, ceea ce sugerează riscul sporit de transmitere intracomunitară (extradomiciliară) a infecției tuberculoase. Sunt necesare studii cu aplicarea tehnicilor moleculare de secvențiere pentru confirmarea fenomenului.

Bibliografie:

1. Bahia Antonio Carlos Lemos, Eliana D. Matos, Diana B. Pedral-Sampaio and Eduardo M. Netto. Risk of Tuberculosis Among Household Contacts in Salvador. The Brazilian Journal of Infectious Diseases, 2004, 8(6), p. 424-430.
2. Iavorschi C. Optimizarea măsurilor antiepidemice în focarele de tuberculoză. Chișinău, 2009, 60 p.

3. Christopher C. Whalen, Sarah Zalwango, Allan Chiunda, LaShaunda Malone, Kathleen Eisenach, Moses Joloba, W. Henry Boom, Roy Mugerwa. Secondary Attack Rate of Tuberculosis in Urban Households in Kampala, Uganda. PLoS ONE, 2011, vol. 6, p.1-7.
4. Sia I. G., Orillaza R. B., St. Sauver J. L., Quelapio I. D., Lahr B. D., Alcañeses R. S., Wilson W. R., Cockerill F. R., Balane G. I., Mangubat N. V., Wengenack N. L., Tupasi T. E. Tuberculosis attributed to household contacts in the Philippines. *Int J Tuberc Lung Dis*, 2010, 14(1), pp. 122–125.
5. Bayona J., Chavez-Pachas A. M., Palacios E., Llarro K., Sapag R., Becerra M. C. Contact investigations as a means of detection and timely treatment of persons with infectious multidrug-resistant tuberculosis. *Int J Tuberc Lung Dis*, 2003, 7(12), Suppl 3, S501-9.
6. Skrahina A., Hurevich H., Zalutskaya A. et al. Multidrug-resistant tuberculosis in Belarus: the size of the problem and associated risk factors. In *Bull World Health Organ*, 2013, 91(1), p. 36-45.
7. Wilson M.L. Recent advances in the laboratory detection of *Mycobacterium tuberculosis* complex and drug resistance. In *Clin Infect Dis*, 2011, 52(11), p. 1350-1355.
8. Teixeira L., Perkins M.D., Johnson J. L. et al. Infection and disease among household contacts of patients with multidrug-resistant tuberculosis. In *Int J Tuberc Lung Dis*, 2001, 5(4), p. 321-328.
9. Bayona J., Chavez-Pachas A. M., Palacios E. et al. Contact investigations as a means of detection and timely treatment of persons with infectious multidrug-resistant tuberculosis. In *Int J Tuberc Lung Dis*, 2003, 7(12), Suppl 3, p. S501-509.
10. Manissero D., Fernandez de la Hoz K. Surveillance methods and case definition for extensively drug resistant TB (XDR-TB) and relevance to Europe: summary update. In *Euro Surveill*, 2006, 11(11), p. E061103-061101.
11. Kilicaslan Z., Kiyan E., Kucuk C. et al. Risk of active tuberculosis in adult household contacts of smear-positive pulmonary tuberculosis cases. In *Int J Tuberc Lung Dis*, 2009, 13(1), p. 93-98.
12. Grandjean L., Crossa A., Gilman R. H. et al. Tuberculosis in household contacts of multidrug-resistant tuberculosis patients. In *Int J Tuberc Lung Dis*, 2011, 15(9), p. 1164-1169.
13. Becerra M.C., Appleton S.C., Franke M. F. et al. Tuberculosis burden in households of patients with multidrug-resistant and extensively drug-resistant tuberculosis: a retrospective cohort study. In *Lancet*, 2011, 377(9760), p. 147-152.
14. Ansari S., Thomas S., Campbell I. A. et al. Refined tuberculosis contact tracing in a low incidence area. In *Respir Med*, 1998, 92(9), p. 1127-1131.