

DISCORDANȚE ÎN TESTAREA SENSIBILITĂȚII M. TUBERCULOSIS LA MEDICAMENTE ANTI-TB ÎN LNR BUCUREȘTI

Dr. Roxana Mihaela CORIU

Institutul de Pneumoftiziologie M. Nasta București

SCREENING AND MIGRATION IN EUROPE TB symposium
September 2022

Introducere

Este recunoscută importanța determinării cât mai rapide a profilului de rezistență al tulpinilor de MTBC întâlnite în practica clinică

- stabilirea cât mai rapidă a unui tratament eficient, cu durată adecvată
- evitarea răspândirii unor tulpini cu rezistență la tratament
- minimizarea apariției efectelor adverse la tratamentul administrat
- îmbunătățirea ratei de vindecare și de supraviețuire

Rolul metodelor moleculare în instituirea precoce a unui tratament adecvat este esențial, iar utilizarea lor în laboratoarele din România este în extindere.

Materiale și metode

Ne-am propus să evaluăm retrospectiv gradul de discordanță dintre rezultatele a diferite metode de determinare a sensibilității MTBC utilizate în laboratorul nostru în decursul anului 2021.

În aceasta perioadă s-au efectuat 251 antibiograme serie extinsă, de care au beneficiat 203 pacienți.

Pentru testare fenotipică au fost utilizate metoda proporțiilor pe mediu solid Lowenstein Jensen și testarea în mediu lichid Middlebrook 7H9 modificat (metoda MGIT).

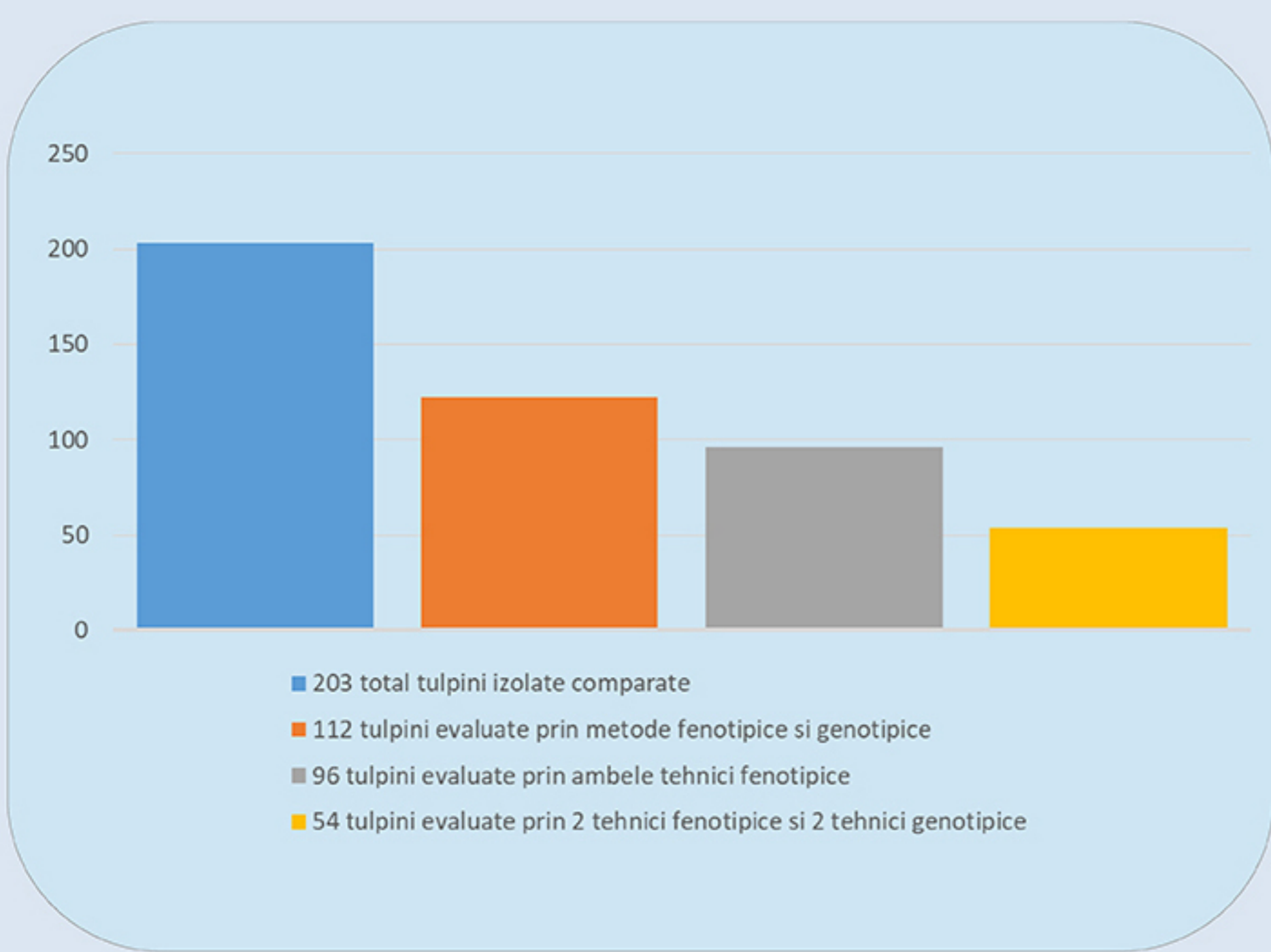
Modificările moleculare asociate cu rezistența au fost detectate prin metoda LPA și prin testare GeneXpert.

Au fost selectate tulpinile care au prezentat rezistență la rifampicină și/sau izoniazidă detectată prin cel puțin una dintre aceste metode - dintre acestea am reținut doar tulpinile care au fost evaluate prin cel puțin 2 tehnici diferite.

Din cele 203 izolate comparate, 112 tulpini au fost evaluate atât prin metode fenotipice cât și prin metode genotipice.

96 tulpini au beneficiat de ABG atât pe mediu solid cât și în mediu lichid.

54 tulpini au fost evaluate prin toate cele 4 tehnici de determinare a sensibilității disponibile în laboratorul nostru.



Rezultate

Procentul de rezultate discordante a fost de 4,16% pentru rifampicină (4 tulpini din 96 au produs rezultate diferite la testarea fenotipică la rifampicină).

Toate au prezentat rezistență la testarea pe mediu solid și sensibilitate în mediu lichid.

Toate 4 tulpinile au prezentat modificări asociate cu rezistența la testarea prin metode genotipice.

Gradul de discordanță este mai redus decât în anii anteriori datorită modificării concentrației critice la testarea în mediu lichid de la 1mg/L la 0.5mg/L.

Concordanța în testarea sensibilității la izoniazidă între cele două metode fenotipice a fost de 98,96% (1 izolat din 96 cu rezultat discrepant).

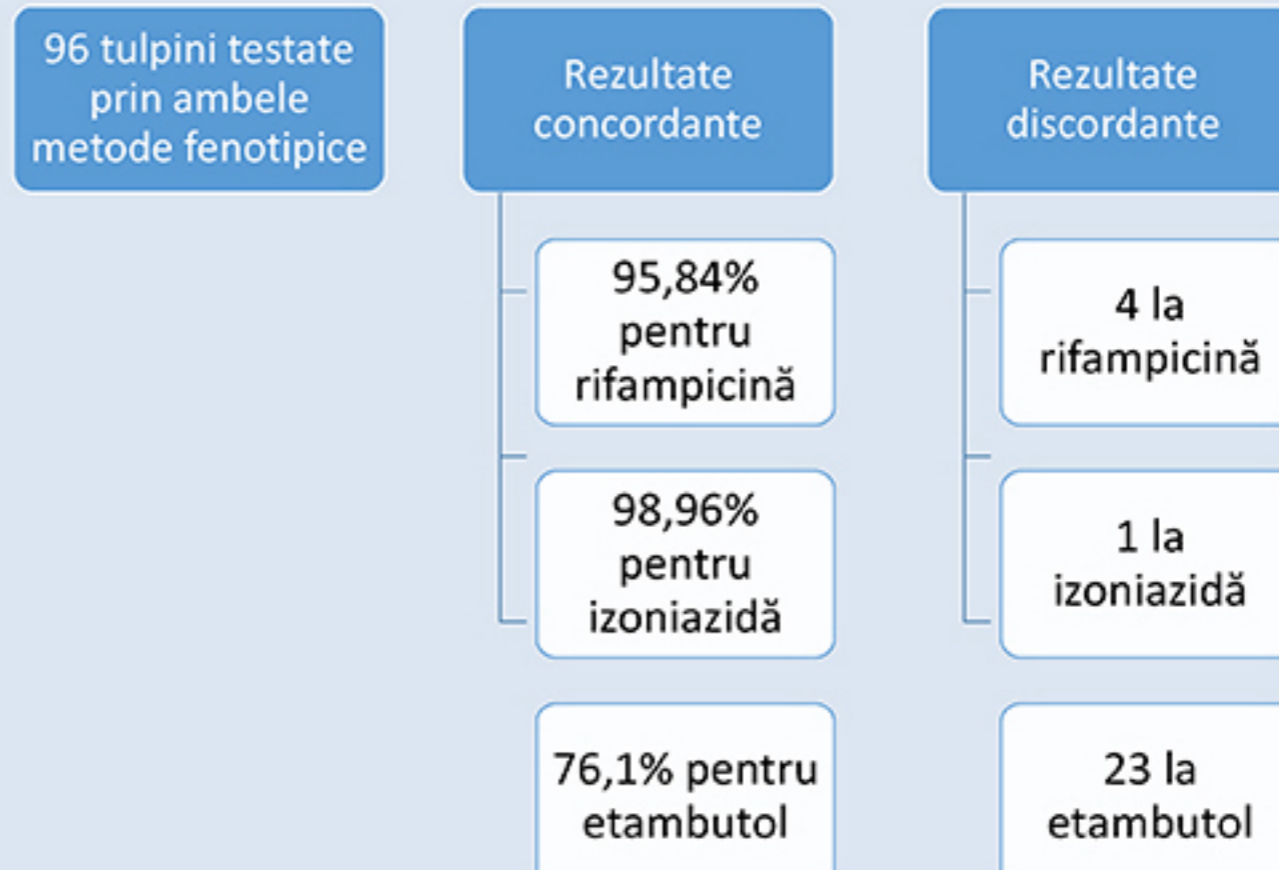
2 tulpini din 112 au produs rezultate discordante la testarea la izoniazidă.

Ambele tulpini au avut rezistență detectată fenotipic în absența modificărilor moleculare asociate cu rezistența.

Concordanța în testarea fenotipică la etambutol a fost de 76.1% (23 de tulpini din cele 96 au avut rezultate diferite, atât rezultate de rezistență pe mediu solid cu sensibilitate în mediu lichid, cât și de tipul sensibilitate pe mediu solid cu rezistență în mediu lichid).

Din 66 de tulpini care au beneficiat de testare prin ambele metode genotipice s-au obținut rezultate discordante în cazul unui singur specimen, cu rezistență detectată prin metoda LPA și nedetectată prin metoda GeneXpert, testarea prin ambele metode fenotipice validând rezultatul obținut prin tehnica de hibridizare LPA.

10 tulpini din cele 112 evaluate atât prin metode fenotipice cât și prin metode moleculare au produs rezultate discrepante în cazul rifampicinei (discordanță LPA-metode fenotipice). Pentru 4 dintre acestea compararea rezultatelor LPA - Xpert Ultra a arătat concordanță (restul de 6 nu au fost testate).



Concluzii

Pentru un număr redus de izolate testarea la rifampicină în sistemul MGIT nu detectează rezistența semnificativă clinic, chiar și după reducerea concentrației critice în mediu lichid de la 1mg/L la 0,5 mg/L.

Prezența unor mutații care conferă rezistență de nivel scăzut la rifampicină (ex. H526L, D516Y, L511P) sau prezența mutațiilor disputate ce afectează codonii 516 și 526 ar putea fi cauza din care sistemul MGIT eșuează în detectarea rezistenței la rifampicină.

Procentul tulpinilor testate în LNR București și care au prezentat aceste discordanțe (frecvența izolatelor cu RR nedetectabilă în sistemul MGIT) este scăzut.

Este necesară verificarea cazurilor de discordanță printr-o metodă adițională (secvențiere).

Referințe

1. Technical manual for drug susceptibility testing of medicines used in the treatment of tuberculosis, WHO, 2018
2. Ahmad S. et al., Discordance across Phenotypic and Molecular Methods for Drug Susceptibility Testing of Drug-Resistant Mycobacterium tuberculosis Isolates in a Low TB Incidence Country, 2016
3. Miotto P, Zhang Y, Cirillo D and Yam WC, Drug resistance mechanisms and drug susceptibility testing for tuberculosis, 2018
4. Heyckendorf J, Andres S, Kooser C, Oлару I, Schon T, Kohl T, Hillemann D, Niemann S, Lange C, Merker M, What is Resistance? Impact of Phenotypic versus Molecular Drug Resistance Testing on Therapy for Multi- and Extensively Drug-Resistant Tuberculosis, 2018
5. GLI, 2018, Line probe assays for drug resistant tuberculosis detection- Interpretation and reporting guide for laboratory staff and clinicians
6. Lempens P, Meehan C, Vandelannoote K, Fissette K, Rijk P, Van Deun A, Rigouts L and De Jong B, 2018, Isoniazid resistance levels of Mycobacterium tuberculosis can largely be predicted by high-confidence resistance-conferring mutations