УДК 616.7-002.5-073.75-078

Г.Г. Голка[1], І.М. Калмикова[2], О.Г. Фадєєв[1],
А.О. Олійник[1], О.В. Танцура[2]

[1] Харківський національний медичний університет
[2] КУОЗ «Обласний протитуберкульозний диспансер № 1» м. Харкова

Роль і значення полімеразної ланцюгової реакції в діагностиці кістково-суглобового туберкульозу

Мета роботи — дослідження ефективності полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) в діагностиці кістково-суглобового туберкульозу.

Матеріали та методи. В основу клінічної частини роботи покладено дані протоколів обстежень та медичну документацію 85 хворих, що перебували у період від 2009 до 2015 р. у відділенні кістково-суглобового туберкульозу КУОЗ «Обласна туберкульозна лікарня № 1» Харківської обласної ради та у хірургічному відділенні КУОЗ «Обласний протитуберкульозний диспансер № 1» Харківської обласної ради.

Усіх хворих розподілено на дві групи. До І (основної) увійшло 60 (70,6 %) хворих, у яких діагноз специфічного вперше діагностованого активного туберкульозного ураження суглобів було підтверджено на підставі вірогідних клінічних та патоморфологічних досліджень. До ІІ (контрольної) — 25 (29,4 %) хворих з підозрою на туберкульоз суглобів, у яких діагноз специфічного туберкульозного запалення після всебічного обстеження не підтвердили.

Результати та обговорення. У переважній кількості спостережень у обох групах помічено ураження великих суглобів нижніх кінцівок: у І групі — у 42 (70 %), у ІІ — у 19 (76 %) пацієнтів.

У основну групу ввійшли пацієнти лише з локальними специфічними (туберкульозними) ураженнями суглобів (найскладніша для діагностики). Для дослідження використовували сертифіковану систему «Амплі-Сенс-100» МТБ-ком. Саме дослідження і інтерпретацію результатів виконували за інструкцією (протоколом) у сертифікованій лабораторії.

Для дослідження за методом ПЛР використовували патологічний матеріал, що контактував з осередком деструкції, — синовіальну рідину, або змив із суглоба, або гній напливних абсцесів. Біологічний матеріал брали в стерильних умовах шляхом пункції ураженого суглоба чи напливного абсцесу.

Під час дослідження отримано такі результати: специфічність ПЛР становить 92 %, а сенситивність — 86,7 %, загальна цінність тесту — 88,2 %. Прогностична цінність позитивного результату дорівнює 96 %, тобто в разі позитивного результату ПЛР на мікобактерії туберкульозу з високою ймовірністю можемо ставити діагноз туберкульозу. Тобто метод ПЛР є ефективним для ранньої діагностики у хворих з туберкульозним ураженням суглобів.

Висновки. Для ранньої діагности кістково-суглобового туберкульозу поряд із променевими методами, мікробіологічними дослідженнями доцільно використовувати ПЛР. Вона значно доповнює арсенал діагностичних засобів та вирізняється високою чутливістю, експресивністю (швидкістю), відносною простотою й безпечністю, має високу діагностичну чутливість, специфічність та прогностичну значущість.

Ключові слова

Діагностика кістково-суглобового туберкульозу, полімеразна ланцюгова реакція, рентгентомографія, бактеріологічні дослідження.

Відомо що найбільш діагностично значущим методом підтвердження туберкульозу у хворих є виявлення *Mycobacterium tuberculosis* (МБТ) в діагностичному матеріалі [2, 6].

© Г.Г. Голка, І.М. Калмикова, О.Г. Фадєєв, А.О. Олійник, О.В. Танцура, 2016

Раннє виявлення кістково-суглобового туберкульозу (КСТ) — одне з основних завдань у боротьбі з цією хворобою. Класичні методи етіологічної діагностики туберкульозу, такі як бактеріоскопія, культуральний, імуноферментний, цитологічний, вельми ефективні, але відрізняються або недостатньою чутливістю, або трива-

лістю виявлення МБТ. Способи швидкого виявлення МБТ надзвичайно важливі для своєчасної постановки діагнозу, вибору правильного лікування та запобігання поширенню захворювання [1, 3, 5, 6].

До класичних методів діагностики туберкульозу, так званого золотого стандарту, належать методи мікроскопії і бактеріологічного культивування. Кислотостійке фарбування в поєднанні з мікроскопічним дослідженням мазків-препаратів із використанням світлових мікроскопів з імерсійною системою зазвичай є першим, найпростішим і найшвидшим бактеріологічним методом діагностики інфекції, зумовленої туберкульозними бактеріями або іншими мікобактеріями. Перевага цього методу — швидкість. Однак можливості обмежені. Відомо, що в разі прямої бактеріоскопії мазка МБТ можна виявити тільки за дуже великої кількості їх — від 100 000 бактеріальних клітин в 1 мл патологічного матеріалу [1, 3, 6].

Найпоширенішими методами виявлення МБК у нашій країні є культуральні. Вони мають більше переваг порівняно з методами бактеріоскопії і є інформативнішими. На вирощених культурах можна визначити чутливість до протитуберкульозних препаратів, вивчити вірулентність та інші властивості мікроорганізмів.

Подальший розвиток лабораторних методів дослідження у діагностиці туберкульозу в XXI ст. було забезпечено, в першу чергу, фундаментальними дослідженнями в галузі хімії, імунології та генетики. Останнім часом розвиваються методи, об'єднані поняттям «генодіагностика» [1, 4, 7, 8].

Полімеразна ланцюгова реакція (ПЛР) є найпростішим і ефективним молекулярно-генетичним методом виявлення МБТ. В останні роки серед молекулярно-генетичних методів, які використовують для діагностики туберкульозу, він дістав широке застосування. Вперше його розробив і застосував К. Мюлліс зі співавт. у 1987 р. Він виявився найефективнішим і зручним для прямого виявлення нуклеїнових кислот збудника туберкульозу. В основі методу лежить багаторазове копіювання за допомогою ферменту ДНК-полімерази, визначеного фрагменту ДНК, який є маркерним для згаданого виду.

За останні роки в зарубіжній літературі з'явилися роботи, що характеризують ПЛР як метод, що володіє високою чутливістю, специфічністю і швидкістю (протягом 4—5 год) виявлення МБТ. Ці переваги дають змогу виявляти збудника на ранніх стадіях захворювання та в різному діагностичному матеріалі [4, 7, 8].

Найчастіше тест-системи для виявлення мікобактерій методом ПЛР застосовують при туберкульозі легень. Цим методом аналізують зразки мокротиння, промивні води бронхів, бронхоальвеолярний лаваж та інший респіраторний матеріал.

Чутливість методу ПЛР під час дослідження проб мокротиння від хворих на активний туберкульоз легень, за даними різних авторів, коливається від 80 до 90 %, при цьому чутливість стандартних бактеріологічних методів — мікроскопії і посіву — становить 17—40 % (мікроскопія) і 35—75 % (посів) [1, 4].

Крім робіт, присвячених детекції *M. tuberculosis* у респіраторних зразках, зарубіжні дослідники отримали розрізнені і суперечливі дані про застосування молекулярно-генетичних методів для аналізу позалегеневого матеріалу. Слід зазначити, що саме у випадках позалегеневої локалізації захворювання ПЛР набуває особливого значення, оскільки традиційні мікробіологічні методи — бактеріоскопія і посів — часто малоефективні [7, 8].

У доступній нам зарубіжній літературі ми знайшли поодинокі роботи, в яких застосовували ПЛР у хворих на позалегеневий туберкульоз. Публікацій, присвячених згаданій проблемі, у вітчизняній спеціалізованій літературі взагалі немає.

Таким чином, досі не визначено показання до застосування ПЛР у фтізіоортопедії і не проводилась клінічна інтерпретація даних.

Мета роботи — дослідження ефективності полімеразної ланцюгової реакції в діагностиці кістково-суглобового туберкульозу.

Матеріали та методи

У основу клінічної частини роботи покладено дані протоколів обстежень та медична документація 85 хворих, що від 2009 до 2015 р. перебували у відділенні кістково-суглобового туберкульозу КУОЗ «Обласна туберкульозна лікарня № 1» Харківської обласної ради та в хірургічному відділенні КУОЗ «Обласний протитуберкульозний диспансер № 1» Харківської обласної ради.

Усіх хворих розподілено на дві групи.

До I групи (основної) увійшло 60 (70,6 %) хворих, у яких діагноз специфічного вперше діагностованого активного туберкульозного ураження суглобів було підтверджено на підставі вірогідних клінічних та патоморфологічних досліджень. До II (контрольної) — 25 (29,4 %) хворих з підозрою на туберкульоз суглобів, у яких діагноз специфічного туберкульозного запалення після всебічного обстеження не підтвердився.

Розподіл хворих за статтю та віком наведено у табл. 1. Вік хворих — від 18 до 76 років. У пра-

Таблиця 1. **Розподіл хворих за статтю та віком**

Стать		Вік, роки								Разом			
		18—30		31—55		56—70		> 70		Абс.		%	
		I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II
Ч		7	1	16	4	7	3	3	3	33	11	55	60
Ж		2	1	6	7	16	3	3	3	27	14	45	40
Разом	Абс.	9	2	22	11	23	6	6	6	60	25		
	%	15	8	36,7	44	38,3	24	10	24			100	

Таблиця 2. **Розподіл хворих за локалізацією ураження (суглоби)**

Локалізація	I група		II група	
	Абс.	%	Абс.	%
Кульшовий суглоб	23	33,4	9	36
Колінний суглоб	12	20	10	40
Плечовий суглоб	6	10	3	12
Гомілковостопний суглоб та кістки стопи	9	15	2	8
Ключично-акроміальне та ключично-грудинне з'єднання	5	8,3		
Кістки зап'ястка та кисті	5	8,3	1	4
Разом	60	100	25	100

цездатному віці (від 18 до 55 років) у I групі було 55 (91,7 %) пацієнтів, понад 60 років — 5 (8,3 %), а серед пацієнтів II групи відповідно 23 (92 %) і 2 (8 %).

Розподіл хворих за локалізацією ураження наведено в табл. 2. У переважній кількості спостережень у обох групах були уражені великі суглоби нижніх кінцівок: у I групі — 42 (70 %), у II — 19 (76 %) пацієнтів.

До складу I групи ввійшли пацієнти лише з локальними специфічними (туберкульозними) ураженнями суглобів (найскладніша для діагностики категорія).

Важливе значення у патології і симптоматиці туберкульозу суглобів мають напливні абсцеси. Їхнє виникнення пов'язано з прориванням крізь шкіру або штучним розтином. Поява нориці призводить до неминучого проникнення у порожнину абсцесу і кістковий осередок вторинної гноєтворної мікрофлори, що значно погіршує стан хворого і ускладнює діагностику, причому особливу небезпеку становлять довгі звивисті норицеві ходи, які зазвичай створюють мережу відгалужень і гнійних скупчень у разі ураження великих суглобів. Постійна затримка у них гною зумовлює інтоксикацію організму, яка за тривалого існування нориці може спричинити амілоїдоз.

У 25 (41,7 %) пацієнтів I групи клінічно визначали великі напливні абсцеси, у 10 (16,7 %) були норицеві форми.

Для дослідження використовували сертифіковану ПЛР тест-систему «Амплі-Сенс-100» МТБ-ком. Дослідження і інтерпретацію результатів виконували за інструкцією (протоколом) в сертифікованій лабораторії.

Результати та обговорення

Для дослідження за методом ПЛР використовували патологічний матеріал, що контактував із осередком деструкції, тобто синовіальну рідину або змив із суглоба та гній напливних абсцесів. Біологічний матеріал брали в стерильних умовах шляхом пункції ураженого суглоба чи напливного абсцесу. Результати досліджень наведено в табл. 3, 4.

Позитивні результати ПЛР виявлено у 2 пацієнтів контрольної групи з виразною та середньою інтенсивністю реакції Манту, що свідчить про тубінфікування їх. Отже, такий метод надзвичайно чутливий, що і пояснює цей результат.

Ясна річ, усі клінічні тести, що використовують під час клінічного обстеження з метою діагностики захворювання, не ідеальні. Завжди залишається ймовірність того, що результати не відображають реальної картини.

Співвідношення правильно діагностованих захворювань називають чутливістю (Se) і специфічністю (Sp) клінічного дослідження.

Чутливість (sensitivity — Se) — це відсоток позитивних результатів досліджуваного тесту в групі справді хворих.

Таблиця 3. **Результати досліджень за методом ПЛР у основній групі**

Локалізація ураження	Кількість спостережень		Кількість позитивних результатів		Кількість негативних результатів	
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
Кульшовий суглоб	23	33,4	19	31,7	4	6,7
Колінний суглоб	12	20	9	15	3	5
Плечовий суглоб	6	10	6	10	0	0
Гомілковостопний суглоб та кістки стопи	9	15	9	15	0	0
Ключично-акроміальне та ключично-грудинне з'єднання	5	8,3	4	6,7	1	1,7
Кістки зап'ястка та кисті	5	8,3	5	8,3	0	0
Разом	60	100	52	86,6	8	13,3

Таблиця 4. **Результати досліджень за методом ПЛР у контрольній групі**

Локалізація ураження	Кількість спостережень		Кількість позитивних результатів		Кількість негативних результатів	
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
Кульшовий суглоб	9	36	1	4	8	32
Колінний суглоб	10	40	1	4	9	36
Плечовий суглоб	3	12	0	0	3	12
Гомілковостопний суглоб та кістки стопи	2	8	0	0	2	8
Ключично-акроміальне та ключично-грудинне з'єднання	0	0	—	—	—	—-
Кістки зап'ястка та кисті	1	4	0	0	1	4
Разом	25	100	2	8	23	92

Специфічність (specificity — Sp) — частка негативних результатів тесту в здорових обстежуваних (контрольній групі).

Чутливий тест часто дає позитивний результат у разі захворювання (виявляє його). Однак особливе значення він має, коли дає негативний результат, оскільки таким чином рідко пропускає хворих.

Специфічний тест рідко дає позитивний результат без захворювання. Особливо інформативний у разі позитивного результату, підтверджуючи орієнтовний діагноз.

Чутливість і специфічність є лише одним із підходів до кількісної оцінки діагностичної спроможності клінічного тесту. В реальній клінічній практиці все, що нам відомо, є лише конкретним результатом діагностичного тесту, і ми хочемо знати, наскільки він підтверджує захворювання. Тобто нас цікавить загальна цінність або точність методу (ЗЦ). Це відсоток правильних рішень.

Прогностична цінність позитивного результату тесту (predictive value positive — PVP) — це вірогідність позитивного результату в разі захворювання, тобто за наявності захворювання ми, ймовірно, матимемо позитивний тест.

І навпаки, без захворювання ми, ймовірно, дістанемо негативний результат дослідження. Це і є прогностична цінність негативного результату (predictive value negative — PVN).

За допомогою методів статистичної обробки даних проведено розрахунок статистичних показників (табл. 5).

Отже, при дослідженні показників специфічності і сенситивності методу ПЛР у групах спостереження хворих засвідчено такі результати: специфічність ПЛР становить 92 %, а сенситивність — 86,7 %, загальна цінність тесту — 88,2 %. Прогностична цінність позитивного результату — 96,2 %, тобто в разі позитивного результату ПЛР на МБТ під час диференціальної діагностики з високою ймовірністю можемо ставити діагноз туберкульозу.

Висновки

У процесі клінічного дослідження встановлено, що чутливість полімеразної ланцюгової реакції під час діагностики туберкульозних уражень суглобів становить 86,7 %, специфічність — 92 %, загальна цінність тесту — 88,2 %. Тобто він є ефективним методом ранньої діаг-

Таблиця 5. **Результати розрахунку статистичних показників ПЛР у клініці**

Результат	I група (n = 60)	II група (n = 25)	Результати розрахунків
Позитивний	52	0	PVP = 96,2 %
Негативний	8	10	PVN = 25,8 %
			ЗЦ = 88,2 %
	Se = 86,7 %	Sp = 92 %	

ностики у хворих з туберкульозним ураженням суглобів.

Для ранньої діагности КСТ поряд з променевими методами, мікробіологічними дослідженнями необхідно використовувати ПЛР. Ця методика значно доповнює арсенал діагностичних засобів при встановленні діагнозу та відрізняється високою чутливістю, експресивністю (швидкістю), відносною простотою та безпекою, має високу діагностичну чутливість і специфічність та прогностичну значимість.

Конфлікту інтересів немає. Участь авторів: концепція і дизайн дослідження — Г. Голка; збір та обробка матеріалу — І. Калмикова, О. Танцура; написання тексту — Г. Голка; статистичне опрацювання даних — О. Фадєєв; редагування тексту — А. Олійник.

Список літератури

1. Беллендир Э.Н. Современное представление о патогенезе внелегочного туберкулеза.— В кн.: Актуальные вопросы диагностики и лечения туберкулеза: науч. труды всерос. науч.-практ. конф. (Санкт-Петербург, 20—21 апреля).— СПб, 2006.— С. 225—226.
2. Вишневская Е.Б. Разработка и применение молекулярно-генетических методов для идентификации микобактерий-возбудителей заболеваний человека: автореф. дис. ...д-ра биол. наук: спец. 03.00.07 «Микробиология».— М.— 2000.— 36 с.
3. Диагностика и лечение внелегочного туберкулеза: практическое руководство / Под ред. М.И. Перельмана, Ю.Н. Левашева.— М.: Медицина и жизнь, 2002.— 60 с.
4. Киреева С.Г., Меликян А.Л., Александров А.А. и др. Применение полимеразной цепной реакции для дифференциальной диагностики туберкулеза и других гранулематозных заболеваний при исследовании фиксированных биопсийных образцов // Пробл. туб.— 2010.— № 7.— С. 34—38.
5. Перельман М.И. Заглянем вперед // Пробл. туб.— 2011.— № 8.— С. 3—4.
6. Фещенко Ю.І., Мельник В.М. Організація лікування хворих на туберкульоз.— К.: Здоров'я, 2009.— 488 с.
7. Daley P., Thomas S., Pai M. Nucleic acid amplification test for the diagnosis of tuberculous lymphadenitis: a systematic review // Int. J. Tuberculosis a. Lung Diseases.— 2007.— Vol. 11, N 11.— P. 1166—1176.
8. Global tuberculosis control 2011 (Доклад о глобальной борьбе с туберкулезом 2011): World Health Organization [Електронний ресурс].— Режим доступу: http://www.who.int/tb/publications/global_report/2011/.

Г.Г. Голка[1], И.Н. Калмыкова[2], О.Г. Фадеев[1], А.А. Олейник[1], А.В. Танцура[2]
[1] Харьковский национальный медицинский университет
[2] КУОЗ «Областной противотуберкулезный диспансер № 1» г. Харькова

Роль и значение полимеразной цепной реакции в диагностике костно-суставного туберкулеза

Цель работы — исследование эффективности полимеразной цепной реакции (ПЦР) при диагностике костно-суставного туберкулеза.

Материалы и методы. В основу клинической части работы положены даные протоколов обследований и медицинская документация 85 больных, которые находились в период с 2009 по 2015 г. в отделении костно-суставного туберкулеза КУОЗ «Областная туберкулезная больница № 1» Харьковского областного совета и в хирургическом отделении КУОЗ «Областной противотуберкулезный диспансер № 1» Харьковского областного совета.

Все больные были разделены на две группы. В I группу (основную) вошли 60 (70,6 %) больных, у которых диагноз специфического впервые диагностированного активного туберкулезного поражения суставов был подтвержден на основании достоверных клинических и патоморфологических исследований. Во II (контрольную) — 25 (29,4 %) больных с подозрением на туберкулез суставов, у которых диагноз специфического туберкулезного воспаления после всестороннего обследования не подтвердился.

Результаты и обсуждение. В подавляющем количестве наблюдений в обеих группах отмечено поражение крупных суставов нижних конечностей: в I группе — у 42 (70 %), во II — у 19 (76 %) пациентов.

В основную группу вошли пациенты только с локальными специфическими (туберкулезными) поражениями суставов (наиболее сложная в диагностическом плане). Для исследования использовали сертифицированную систему «Ампл-Сенс-100» МТБ-ком. Исследование и интерпретацию результатов выполняли согласно инструкции (протокола) в сертифицированной лаборатории.

Для исследования по методу ПЦР использовали патологический материал, который контактировал с очагом деструкции, — синовиальную жидкость, или смыв с сустава, или гной наплывных абсцессов. Забор биологического материала обязательно проводился в стерильных условиях путем пункции пораженного сустава или наплывного абсцесса.

При исследовании показателей получены следующие результаты: специфичность ПЦР составляет 92 %, а сенситивность — 86,7 %, общая ценность теста — 88,2 %. Прогностическая ценность положительного результата — 96 %, то есть при получении положительного результата ПЦР на микобактерии туберкулеза с высокой вероятностью можем ставить диагноз туберкулеза. То есть метод ПЦР эффективен при ранней диагностике у больных с туберкулезным поражением суставов.

Выводы. Для ранней диагностики костно-суставного туберкулеза вместе с лучевыми методами, микробиологическими исследованиями необходимо использовать ПЦР. Она значительно дополняет арсенал диагностических средств и отличается высокой чувствительностью, экспрессивностью (скоростью), относительной простотой и безопасностью, имеет высокую диагностическую чувствительность, специфичность и прогностическую значимость.

Ключевые слова: диагностика костно-суставного туберкулеза, полимеразная цепная реакция, рентгентомография, бактериологические исследования.

G.G. Golka[1], I.M. Kalmykova[2], O.G. Fadeev[1], A.O. Oliinyk[1], O.V. Tantsura[2]
[1] Kharkiv National Medical University, Kharkiv, Ukraine
[2] Regional TB Dispensary N 1, Kharkiv, Ukraine

The role and importance of polymerase chain reaction in the diagnostics of the bone and joint tuberculosis

Objective — to study the effectiveness of polymerase chain reaction in the diagnostics of the bone and joint tuberculosis.

Materials and metods. The basis of the clinical part of the work is on data protocols, surveys and medical records of 85 patients who were in the period from 2009 to 2015 in the department of articular bone tuberculosis of the Public Health Institution «Regional TB Hospital N 1» of Kharkiv regional council and in the surgical department of the Public Health Institution «Regional TB Dispensary N 1» of Kharkiv regional council.

All examined patients were divided into two groups. The first group included 60 (70.6 %) patients (the main group), in which a specific diagnosis of a firstly diagnosed active joint damage tuberculous was confirmed according to reliable clinical and pathological studies. The second group included 25 (29.4 %) patients (the control group) with suspected joint tuberculosis and in which specific diagnosis of tuberculous inflammation was not confirmed after a thorough examination.

In the majority of observations in both groups the destruction of large joints of the lower limbs was observed: in the main group (I) — 42 patients (70 %), in the control group (II) — 19 patients (76 %). It is important to emphasize that the main group included patients only with local specific (tuberculosis) diseases of the joints (the most difficult category of patients in terms of diagnostic).

The certified PCR test system and an Amplesense 100 for MTB were used for the research. The study and interpretation of the results were performed according to the instructions (protocol) in a certified laboratory.

In order for study to use the PCR method the pathological material which was in contact with the hearth of the destruction was used — the synovial fluid or the joint washout, the puss of floating abscess. The collection of biological material was obligatory performed under the sterile conditions by puncturing the affected joint or floating abscess.

Results and discussions. The following results were gained while studying the indices of specificity and sensitivity of PCR method in the groups of monitored patients: PCR specificity is 92 % and its sensitivity —

86.7 %, the total value of the test — 88.2 %. By linking these indices we get the prognostic value of a positive result 96% that is while gaining the positive result of PCR for MTB at the differential diagnosis we can diagnose tuberculosis with a high probability. Thus, PCR is an effective method of early diagnosis in patients with tuberculous lesions of the joints.

Conclusions. For early diagnostics of bone and joint tuberculosis along with radiation methods and microbiological studies PRC method should be used. This technique greatly complements the arsenal of diagnostic tools in the diagnosis and has high sensitivity, expressiveness (speed), relative simplicity and safety; it has high diagnostic sensitivity, specificity and prognostic value.

Key words: diagnosis of bone and joint tuberculosis, polymerase chain reaction (PCR) roentgen tomography, bacteriological studying.

Контактна інформація:

Голка Григорій Григорович, д. мед. н., проф., зав. кафедри травматології та ортопедії ХНМУ
61018, м. Харків, пров. Балакірєва, 3, лікарня швидкої невідкладної допомоги
Тел. (057) 343-04-11
E-mail: gr_golka@mail.ru

Стаття надійшла до редакції 25 квітня 2016 р.