

EVALUATION AND COMPARISON OF THE CONCORDANCE BETWEEN THE LINE PROBE ASSAY AND BACTEC MGIT 960 SYSTEM IN DETERMINING RESISTANCE TO ISONIAZID AND RIFAMPICIN AT THE CENTRAL LUNG HOSPITAL

Le Thi Nguyet, Dinh Van Luong*

National Lung Hospital - 463 Hoang Hoa Tham, Vinh Phu Ward, Ba Dinh District, Hanoi City, Vietnam

Received: 04/12/2024

Revised: 17/12/2024; Accepted: 20/01/2025

ABSTRACT

Objective: To evaluate and compare the concordance of the Line Probe Assay (LPA) method and the BACTEC MGIT 960 system in determining resistance to Isoniazid (INH) and Rifampicin (RMP).

Subjects and methods: This descriptive study included 480 patients suspected of tuberculosis who visited the Central Lung Hospital from January 1, 2023 to September 30, 2023, and underwent simultaneous testing for INH and RMP resistance using both the LPA and BACTEC MGIT 960 methods.

Results: For INH: out of 480 patients, 467 patients underwent concurrent resistance testing for INH using both the LPA and BACTEC MGIT 960, with 13 results where INH resistance could not be determined by the LPA method. The results showed a sensitivity of 97.9%, specificity of 99.4% and accuracy of 98.9%, with a discordant rate of 5/467 (1.1%). For RMP: out of 480 patients, 478 patients underwent simultaneous resistance testing for RMP using both methods, with 2 results where RMP resistance could not be determined by the LPA method. The results showed a sensitivity of 94.4%, specificity of 98.9% and accuracy of 98.5%, with a discordant rate of 7/478 (1.5%).

Evaluation of discordant results: Among the 11 discordant strains (out of 12 total discordant strains), further testing (including DST), GeneXpert MTB/XDR, and GTT) was conducted. For INH resistance: 5/5 discordant strains underwent additional testing. Of these, 2 LPA-resistant strains were INH-sensitive by DST, with one sensitive and one resistant by GTT and GeneXpert MTB/XDR; 3 LPA-sensitive strains were INH-resistant by DST, but GTT and GeneXpert MTB/XDR were INH-sensitive and resistant, respectively. Two resistant strains were confirmed resistant by GTT and GeneXpert MTB/XDR. For RMP: 6/7 discordant strains underwent additional testing. Of these, 5 LPA-resistant strains were RMP-sensitive by DST, with 4/5 showing RMP resistance using GeneXpert MTB/RIF and GTT (mutation at the borderline resistance level), and 1/5 strain could not be cultured. Two LPA-sensitive strains were RMP-resistant by DST, with GTT-resistant and GeneXpert MTB/RIF-sensitive, exhibiting a mutation outside the hotspot region (81bp) of both LPA and GeneXpert MTB/RIF.

Keywords: Rifampicin, Isoniazid, BACTEC MGIT 960, Line Probe Assay.

*Corresponding author

Email: dinhvanluong66@gmail.com Phone: (+84) 912187592 <https://doi.org/10.52163/yhc.v66iCD1.1960>

ĐÁNH GIÁ VÀ SO SÁNH MỨC ĐỘ ĐỒNG THUẬN GIỮA PHƯƠNG PHÁP LINE PROBE ASSAY VÀ HỆ THỐNG BACTEC MGIT 960 TRONG VIỆC XÁC ĐỊNH TÍNH KHÁNG ISONIAZID VÀ RIFAMPICIN TẠI BỆNH VIỆN PHỔI TRUNG ƯƠNG

Lê Thị Nguyệt*, Đinh Văn Lương

Bệnh viện Phổi Trung ương - 463 Hoàng Hoa Thám, P. Vĩnh Phú, Q. Ba Đình, Tp. Hà Nội, Việt Nam

Ngày nhận bài: 04/12/2024

Chỉnh sửa ngày: 17/12/2024; Ngày duyệt đăng: 20/01/2025

TÓM TẮT

Mục tiêu: Đánh giá và so sánh mức độ đồng thuận của phương pháp Line Probe Assay (LPA) và BACTEC MGIT 960 trong xác định tính kháng Isoniazid (INH) và Rifampicin (RMP).

Đối tượng và phương pháp: Nghiên cứu mô tả 480 người bệnh nghi lao đến khám tại Bệnh viện Phổi Trung ương từ 1/1/2023 đến 30/9/2023 có thực hiện đồng thời xét nghiệm xác định tính kháng Isoniazid và Rifampicin bằng phương pháp LPA và BACTEC MGIT 960.

Kết quả: Đối với thuốc INH: 467 người bệnh trên tổng số 480 người bệnh thực hiện đồng thời xác định tính kháng INH bằng 2 phương pháp LPA và BACTEC MGIT 960 do có 13 kết quả xác định tính kháng INH là không xác định bằng phương pháp LPA. Kết quả cho thấy độ nhạy, độ đặc hiệu và độ chính xác tương ứng là 97,9%, 99,4% và 98,9% và số lượng không đồng thuận là 5/467 (1,1%). Đối với thuốc RMP: 478 người bệnh trên tổng số 480 người bệnh thực hiện đồng thời xác định tính kháng RMP bằng 2 phương pháp LPA và BACTEC MGIT 960 do có 2 kết quả xác định tính kháng RMP là không xác định bằng phương pháp LPA. Kết quả cho thấy độ nhạy, độ đặc hiệu và độ chính xác tương ứng là 94,4%, 98,9% và 98,5%; và số lượng không đồng thuận là 7/478 (1,5%).

Kết luận: Đánh giá kết quả không đồng thuận giữa phương pháp LPA và BACTEC MGIT trong xác định tính kháng INH và RMP của 11 trong tổng số 12 chủng có kết quả không đồng thuận, nhận thấy: đối với thuốc INH: 5/5 chủng không đồng thuận được thực hiện các xét nghiệm bổ sung kháng sinh đồ, GTT và Xpert MTB/XDR: 2 mẫu LPA kháng INH, kháng sinh đồ nhạy INH nhưng 1 mẫu nhạy và 1 mẫu kháng khi dùng GTT và Xpert MTB/XDR; 3 mẫu LPA nhạy INH và kháng sinh đồ kháng INH nhưng GTT nhạy INH và Xpert MTB/XDR kháng INH và 2 mẫu kháng khẳng định bằng GTT và Xpert MTB/XD. Đối với xác định tính kháng RMP: 6/7 chủng không đồng thuận được thực hiện các xét nghiệm bổ sung: 5 mẫu LPA kháng RMP, kháng sinh đồ nhạy RMP có 4/5 kháng RMP bằng phương pháp Xpert MTB/RIF và GTT (đột biến kháng ở borderline), 1/5 trường hợp không thu được chủng. 2 mẫu LPA nhạy RMP, kháng sinh đồ kháng RMP, GTT kháng RMP, Xpert MTB/RIF nhạy RMP với đột biến ngoài vùng hotpot 81bp của cả phương pháp LPA và Xpert MTB/RIF.

Từ khóa: Rifampicin, Isoniazid, BACTEC MGIT 960, Line Probe Assay.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh lao là một bệnh truyền nhiễm nguy hiểm, đứng hàng đầu trong những nguyên nhân gây tử vong do tác nhân truyền nhiễm trên toàn cầu. Theo Tổ chức Y tế Thế giới, ước tính năm 2022 có khoảng 10,6 triệu người mắc bệnh lao trên toàn thế giới, trong đó 5,8 triệu là nam giới trưởng thành, 3,5 triệu là nữ giới trưởng thành và 1,3 triệu là trẻ em. Bệnh lao cũng có mối liên hệ chặt chẽ với HIV, với khoảng 6,3% tổng số bệnh nhân lao

sống chung với HIV. Đặc biệt, có 410.000 ca mắc lao đa kháng thuốc hoặc lao kháng Rifampicin, và tỷ lệ điều trị thành công chỉ đạt khoảng 63% ở nhóm bệnh nhân lao đa kháng hoặc kháng Rifampicin.

Việt Nam là 1 trong 30 quốc gia có gánh nặng bệnh lao và lao kháng thuốc cao nhất thế giới. Chỉ riêng năm 2021, nước ta đã ghi nhận 169.000 ca mắc lao và hơn

*Tác giả liên hệ

Email: dinhvanluong66@gmail.com Điện thoại: (+84) 912187592 <https://doi.org/10.52163/yhc.v66iCD1.1960>

12.000 ca tử vong do bệnh lao. Việc kiểm soát tình trạng kháng thuốc, giảm nguy cơ lây nhiễm và cải thiện hiệu quả điều trị lao, đặc biệt đối với bệnh nhân lao đa kháng thuốc và lao kháng Rifampicin, đòi hỏi phải có những phương pháp xét nghiệm nhanh chóng, chính xác để phát hiện sớm bệnh nhân kháng thuốc, từ đó có phương án điều trị kịp thời và hiệu quả.

Trong bối cảnh này, việc sử dụng các phương pháp sinh học phân tử như Line Probe Assay (LPA) và hệ thống BACTEC MGIT 960 trở nên rất quan trọng. Các phương pháp này có khả năng phát hiện tình trạng kháng thuốc của *Mycobacterium tuberculosis* đối với Isoniazid (INH) và Rifampicin (RMP) một cách nhanh chóng và chính xác, giúp thay thế phương pháp cấy truyền (kháng sinh đồ) truyền thống, vốn mất nhiều thời gian và chi phí. Vì vậy, nghiên cứu này được thực hiện nhằm đạt được hai mục tiêu chính: (1) *Xác định tỷ lệ đồng thuận giữa phương pháp LPA (kỹ thuật Genotype MTBDRplus) và hệ thống BACTEC MGIT 960 trong việc xác định tình trạng kháng INH và RMP tại Bệnh viện Phổi Trung ương trong 9 tháng đầu năm 2023;* (2) *Đánh giá các trường hợp không đồng thuận giữa 2 phương pháp này trong việc xác định tính kháng INH và RMP.*

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Thiết kế nghiên cứu

Nghiên cứu được thiết kế theo phương pháp mô tả cắt ngang, tiến hành trên toàn bộ người bệnh đáp ứng tiêu chuẩn nghiên cứu, đến khám và điều trị tại Bệnh viện Phổi Trung ương trong khoảng thời gian từ ngày 1/1/2023 đến ngày 30/9/2023.

2.2. Đối tượng nghiên cứu

Đối tượng nghiên cứu là những người bệnh nghi mắc lao đến khám và điều trị tại Bệnh viện Phổi Trung ương trong thời gian trên, có chỉ định đồng thời thực hiện 2 loại xét nghiệm: LPA và BACTEC MGIT 960. Các đối tượng này cần có kết quả xác định tính kháng INH và/hoặc RMP bằng phương pháp LPA và kết quả xác định tính kháng INH và/hoặc RMP bằng phương pháp kháng sinh đồ BACTEC MGIT.

Tiêu chuẩn loại trừ: Người bệnh sẽ bị loại trừ khỏi nghiên cứu nếu có kết quả không xác định tính kháng INH và/hoặc RMP đồng thời bằng cả 2 phương pháp LPA và kháng sinh đồ BACTEC MGIT 960.

2.3. Kỹ thuật xét nghiệm sử dụng trong nghiên cứu

- Kỹ thuật xác định *Mycobacterium tuberculosis* kháng thuốc hàng đầu trên môi trường lỏng BACTEC MGIT 960.

- Kỹ thuật xét nghiệm đa kháng *Mycobacterium tuberculosis* bằng phương pháp LPA.

- Kỹ thuật giải trình tự gen đích để xác định *Mycobacterium tuberculosis* kháng thuốc (Deepplex).

- Kỹ thuật định danh *Mycobacterium tuberculosis* và xác định kháng RMP bằng phương pháp Xpert MTB/RIF.

- Kỹ thuật định danh *Mycobacterium tuberculosis* và xác định kháng RMP bằng phương pháp Xpert M.

2.4. Xử lý số liệu và đạo đức trong nghiên cứu

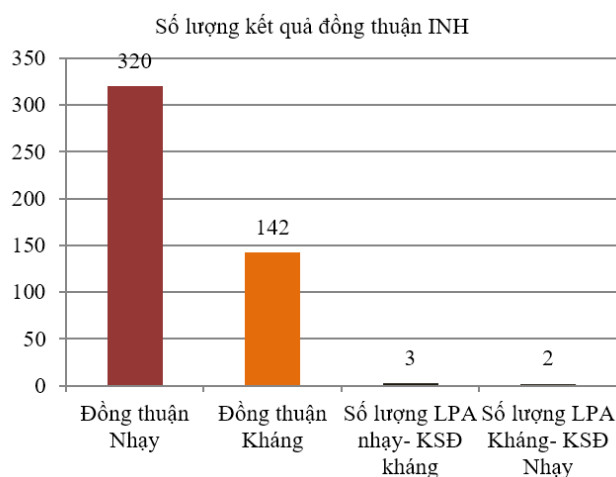
Dữ liệu thu thập từ các bệnh nhân được xử lý và phân tích bằng phần mềm thống kê SPSS (phiên bản 25.0). Các kết quả của các phương pháp LPA và BACTEC MGIT 960 được so sánh để xác định độ nhạy, độ đặc hiệu, độ chính xác và tỷ lệ không đồng thuận. Độ nhạy, độ đặc hiệu và độ chính xác được tính toán bằng các công thức thống kê cơ bản. Các chỉ số này được so sánh giữa 2 phương pháp để đánh giá mức độ đồng thuận. Kết quả không đồng thuận được phân tích thêm thông qua các xét nghiệm bổ sung như Drug Susceptibility Testing, GeneXpert MTB/XDR, và GTT để làm rõ nguyên nhân.

Nghiên cứu này tuân thủ các nguyên tắc đạo đức trong nghiên cứu y học. Trước khi tham gia nghiên cứu, tất cả bệnh nhân đã được thông báo đầy đủ về mục đích, phương pháp và quy trình thực hiện các xét nghiệm, đồng thời được yêu cầu ký vào bản cam kết đồng ý tham gia nghiên cứu. Dữ liệu của bệnh nhân được bảo mật và chỉ sử dụng cho mục đích nghiên cứu. Nghiên cứu đã được Hội đồng Đạo đức trong nghiên cứu y sinh học của Bệnh viện Phổi Trung ương phê duyệt, bảo đảm quyền lợi và sự an toàn cho các bệnh nhân tham gia nghiên cứu.

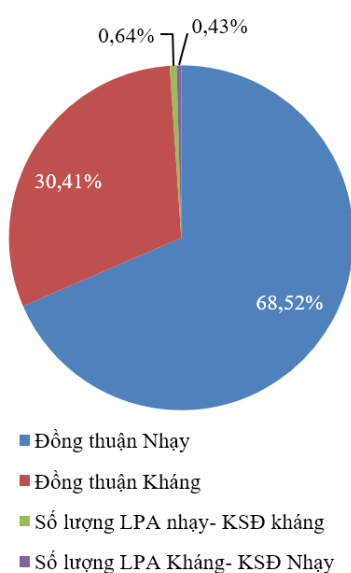
3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Bảng 1. Kết quả INH thực hiện so sánh 2 phương pháp xét nghiệm

Kết quả	LPA nhạy INH	LPA kháng INH	Tổng số
Kháng sinh đồ (KSD) nhạy INH	320	2	322
KSD kháng INH	3	142	145
Tổng số	323	144	467



Biểu đồ tỷ lệ đồng thuận kết quả INH



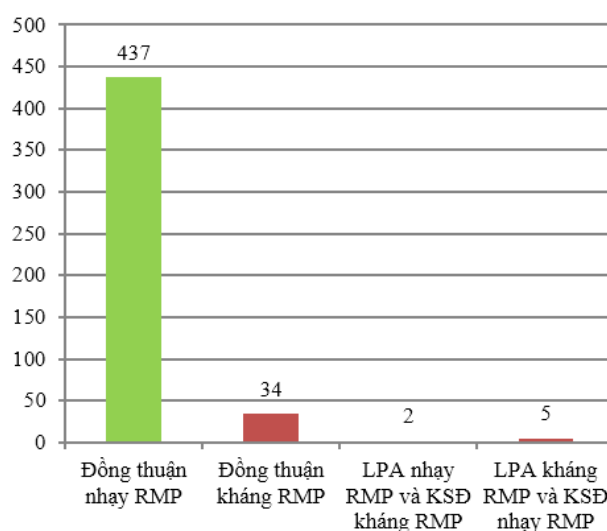
Biểu đồ 1. Số lượng và tỷ lệ các loại kết quả INH khi so sánh 2 phương pháp

Nhận xét: Trong tổng số 480 bệnh nhân có thực hiện đồng thời xác định tính kháng INH bằng 2 phương pháp LPA và BACTEC MGIT 960, phương pháp LPA có 13 kết quả xác định tính kháng INH là không xác định, vì vậy có 467 kết quả được so sánh giữa 2 phương pháp. Kết quả độ nhạy, độ đặc hiệu và độ chính xác (đồng thuận) tương ứng là 97,9%, 99,4% và 98,9%. Số lượng không đồng thuận trong nghiên cứu của chúng tôi đối với thuốc INH là 5/467 chiếm 1,1%.

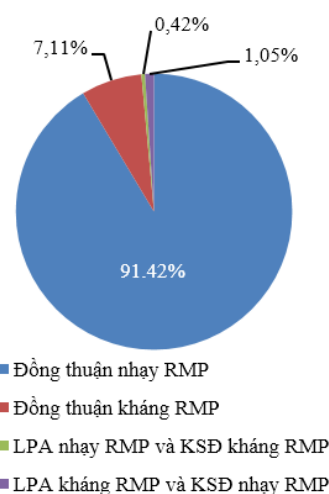
Bảng 2. Kết quả RMP thực hiện so sánh giữa 2 phương pháp xét nghiệm

Kết quả	LPA nhảy RMP	LPA kháng RMP	Tổng số
KSĐ nhảy RMP	437	5	442
KSĐ kháng RMP	2	34	36
Tổng số	439	39	478

Số lượng kết quả so sánh đồng thuận RMP



Biểu đồ tỷ lệ kết quả đồng thuận RMP



Biểu đồ 2. Số lượng và tỷ lệ các loại kết quả RMP khi so sánh 2 phương pháp

Nhận xét: Tổng số 480 mẫu được thực hiện LPA có 2 kết quả không xác định, vì vậy có 478 kết quả xác định tính kháng RMP bằng 2 phương pháp được so sánh giữa phương pháp LPA và BACTEC MGIT 960 được coi là tiêu chuẩn vàng có tỷ lệ độ nhạy, độ đặc hiệu và độ chính xác (tương đồng) tương ứng là 94,4%, 98,9% và 98,5%. Tổng số và tỷ lệ kết quả không đồng thuận giữa 2 phương pháp trong xác định tính kháng RMP là 7/478 chiếm 1,46%.

4. BÀN LUẬN

4.1. Xác định tỷ lệ đồng thuận của phương pháp LPA và BACTEC MGIT 960 trong xác định tính kháng INH và RMP

4.1.1. Kết quả xác định tính kháng INH

Tỷ lệ đồng thuận giữa phương pháp LPA và phương pháp BACTEC MGIT 960 trên thuốc INH đạt 98,9%

(độ nhạy 97,9% và độ đặc hiệu 99,37%). Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy mức độ đồng thuận cao hơn so với nghiên cứu của Sharana Mahomed và cộng sự (2020) [2], với độ nhạy và độ đặc hiệu tương ứng là 93% và 95%. Ngoài ra, kết quả của chúng tôi cũng tương đương với nghiên cứu của Kumar V và cộng sự [3], với độ nhạy và độ đặc hiệu lần lượt là 94,3% và 100%. So với nghiên cứu của Trương Thiên Phú và cộng sự (2018) [4], với độ nhạy 92,1%, độ đặc hiệu 98,2% và tỷ lệ đồng thuận 97,1%, kết quả của chúng tôi cao hơn cả về độ nhạy và độ đặc hiệu. Các nghiên cứu này đều chỉ ra rằng phương pháp LPA là một công cụ hiệu quả trong việc phát hiện tính kháng thuốc của *Mycobacterium tuberculosis*, đặc biệt là đối với INH, khi được so sánh với các phương pháp khác như BACTEC MGIT 960 [5], [6].

4.1.2. Kết quả xác định tính kháng RMP

Tỷ lệ đồng thuận trong việc xác định tính kháng RMP bằng phương pháp LPA và BACTEC MGIT 960 đạt 98,5% (471/478), với độ nhạy 94,4% và độ đặc hiệu 98,87%. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi tương đương với nghiên cứu của Trương Thiên Phú và cộng sự (2018) [4], với độ nhạy và độ đặc hiệu lần lượt là 96,6% và 99,1%, và tỷ lệ đồng thuận đạt 99%. Tuy nhiên, kết quả của chúng tôi cao hơn so với nghiên cứu của Sharana Mahomed và cộng sự (2020) [2], với tỷ lệ đồng thuận chỉ đạt 85,4%. Các kết quả này phù hợp với các nghiên cứu trước đây, khi xác nhận rằng phương pháp LPA có thể là một lựa chọn tốt trong việc xác định kháng RMP, đặc biệt trong môi trường có tỷ lệ kháng thuốc cao [5], [7].

Trong số 478 bệnh nhân được xét nghiệm, có 7 kết quả không đồng thuận. Cụ thể: 2 mẫu LPA nhạy RMP nhưng KSĐ kháng RMP và 5 mẫu LPA kháng RMP nhưng KSĐ nhạy RMP. Tỷ lệ không đồng thuận là 7/478, chiếm 1,46%. Đây là một kết quả tương đối thấp và có thể do sự khác biệt trong các đột biến gen hoặc các vấn đề liên quan đến phương pháp kỹ thuật, như đã được chỉ ra trong các nghiên cứu trước đây [8].

4.2. Đánh giá kết quả không đồng thuận giữa phương pháp LPA và BACTEC MGIT trong xác định tính kháng INH và RMP

Để làm rõ nguyên nhân của các kết quả không đồng thuận, chúng tôi đã thực hiện cấy truyền 12 chủng có kết quả không đồng thuận để thực hiện xét nghiệm Xpert MTB/XDR và tiến hành xét nghiệm GTT gen đích bằng bộ giải trình tự Deeplex® Myc-TB của GenoGreen. Các xét nghiệm này giúp xác định chính xác tình trạng kháng thuốc của các chủng *Mycobacterium tuberculosis*. Việc sử dụng các phương pháp hiện đại như giải trình tự gen đích và xét nghiệm Xpert MTB/XDR đã được nhiều nghiên cứu khuyến nghị để cải thiện độ chính xác trong việc phát hiện các đột biến gen gây kháng thuốc [9], [10].

Trong số 12 chủng được cấy truyền, có 1 chủng không mọc, 11 chủng còn lại được tiến hành theo các bước như sau:

- 5 chủng không đồng thuận về tính kháng INH đã được thực hiện GTT gen đích và xét nghiệm Xpert MTB/XDR.

- 6 chủng không đồng thuận về tính kháng RMP đã được thực hiện GTT gen đích và xét nghiệm Xpert MTB/RIF.

Đối với thuốc INH:

- 1/5 chủng LPA kháng INH, KSĐ nhạy INH, GTT và Xpert MTB/XDR khẳng định kháng INH.

- 1/5 chủng LPA kháng INH, KSĐ nhạy INH, GTT và Xpert MTB/XDR đều cho kết quả nhạy INH.

- 1/5 chủng LPA nhạy INH, KSĐ kháng INH, GTT nhạy INH và Xpert MTB/XDR kháng INH.

- 2/5 chủng LPA nhạy INH, KSĐ kháng INH, GTT và Xpert MTB/XDR đều kháng INH.

Đối với thuốc RMP:

- 4/6 chủng LPA kháng RMP, KSĐ nhạy RMP, 4/6 kháng RMP qua Xpert MTB/RIF và GTT (đột biến kháng ở mức borderline).

- 2/6 chủng LPA nhạy RMP, KSĐ kháng RMP, GTT kháng RMP, Xpert MTB/RIF nhạy RMP với đột biến ngoài vùng hotspot 81bp của cả phương pháp LPA và Xpert MTB/RIF.

5. KẾT LUẬN

Kết quả nghiên cứu cho thấy phương pháp LPA có độ đồng thuận cao với phương pháp BACTEC MGIT 960 trong xác định tính kháng INH và RMP, giúp chẩn đoán nhanh chóng và chính xác tình trạng kháng thuốc của *Mycobacterium tuberculosis*.

Từ kết quả nghiên cứu này, chúng tôi khuyến nghị sử dụng LPA như một xét nghiệm chẩn đoán ban đầu để xác định *Mycobacterium tuberculosis* và các chủng *Mycobacterium tuberculosis* đa kháng, kháng RMP, kháng INH, nhằm đưa ra phác đồ điều trị phù hợp và sớm cho bệnh nhân lao. Bên cạnh đó, cần tiếp tục nghiên cứu và khảo sát các trường hợp có kết quả kháng INH và RMP mà không có đột biến trên gen tương ứng, và tìm hiểu sâu hơn về các chủng có đột biến RMP thể hiện kiểu hình nhưng không phát hiện được bằng phương pháp LPA hoặc Xpert MTB/RIF.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Mahomed S et al, Performance of Line Probe Assay in the Detection of Tuberculosis Drug Resistance in a South African Setting, Journal of Clinical Microbiology, 2020.
- [2] Kumar V et al, Evaluation of Line Probe Assay for Detection of Drug-Resistant Tuberculosis, Indian Journal of Tuberculosis, 2020.
- [3] Trương Thiên Phú và cộng sự, Khảo sát độ nhạy

- và độ đặc hiệu của phương pháp Line Probe Assay trong phát hiện kháng thuốc với *Mycobacterium tuberculosis* tại Bệnh viện Phổi Trung ương, Tạp chí Y học Việt Nam, 2018.
- [4] GenoGreen, Deeplex® Myc-TB: A Next-Generation Sequencing Approach for Tuberculosis Resistance, GenoGreen® Technologies, 2021.
- [5] World Health Organization, The Use of Line Probe Assays for the Detection of *Mycobacterium tuberculosis* and Drug Resistance, WHO Guidelines, 2018.
- [6] Dharmashree B et al, Molecular Diagnostic Tools for Multidrug-Resistant Tuberculosis: A Comparative Study, Journal of Infection and Public Health, 2019.
- [7] Phelan A et al, Comparative Evaluation of BAC-TEC MGIT 960 and Line Probe Assay for Drug Resistance Testing in *Mycobacterium tuberculosis*, Tuberculosis Research and Treatment, 2020.
- [8] Song T et al, Characterization of Rifampicin and Isoniazid Resistance in *Mycobacterium tuberculosis* using Next-Generation Sequencing, Frontiers in Microbiology, 2021.
- [9] Zhang W et al, Xpert MTB/RIF and its role in early diagnosis of tuberculosis and detection of drug resistance, Clinical Microbiology and Infection, 2020.
- [10] Kato-Maeda M et al, Impact of Molecular Diagnostics in the Management of Tuberculosis: A Review of Current Methods, Journal of Clinical Microbiology, 2021.