

9. Grigorovskij, V. V., Strafun, S. S., Kostogryz, O. A. et. al (2012). Patomorfologicheskie izmeneniya i ishod travmaticheskogo defekta sustavnoj poverhnosti myshhelka bedrennoj kosti v usloviyah implantacii v jeksperimente autogennyh hondrocytov suspenzii ehvivo. Ortopediya, travmatologija i protezirovanie, 4, 30–39.

10. Petrenko, A. Ju., Hunov, Ju. A., Ivanov, Je. N. (2011). Stvolovye kletki. Svoystva i perspektivy klinicheskogo primeneniya. Lugansk: OOO «Press Jekspres», 368.

11. Litovchenko, A. V. (2015). Reparatyvna metodyka hirurgichnogo likuvannja defektiv hrjashha kolinnogo sugloba. Mizhnarodnyj medychnyj zhurnal, 21 (2), 52–55.

12. Ishenin, Ju. M. (2010). Doktrina mehanicheskoy tunelizacii. Vestnik klinicheskoy medicyny, 3 (2), 51–54.

13. Eroshkin, S. N. (2012). Vozmozhnosti revaskuljarizirujushhej osteotrepnancii v kompleksnom lechenii gnojnonekroticheskikh form sindroma diabeticheskoy stopy. Novosti hirurgii, 5, 57–61.

14. Brittberg, M., Aglietti, P., Gambardella, R. et. al. International Cartilage Repair Society ICRS. ICRS 2005a. Available at: <http://www.cartilage.org>

15. Lysholm, J., Gillquist, J. (1982). Evaluation of knee ligament surgery results with special emphasis on use of a scoring scale. The American Journal of Sports Medicine, 10 (3), 150–154. doi: 10.1177/036354658201000306

*Дата надходження рукопису 18.09.2015*

**Літовченко Андрій Вікторович**, аспірант, кафедра екстреної та невідкладної медичної допомоги, ортопедії та травматології, Харківський національний медичний університет, пр. Леніна, 4, м. Харків, Україна, 61022  
E-mail: weunp@ukr.net

**Березка Микола Іванович**, доктор медичних наук, професор, завідувач кафедри, кафедра екстреної та невідкладної медичної допомоги, ортопедії та травматології, Харківський національний медичний університет, пр. Леніна, 4, м. Харків, Україна, 61022

**Гуліда Максим Олегович**, кандидат медичних наук, асистент, кафедра екстреної та невідкладної медичної допомоги, ортопедії та травматології, Харківський національний медичний університет, пр. Леніна, 4, м. Харків, Україна, 61022

**Гарячий Євгеній Владиславович**, кандидат медичних наук, асистент, кафедра екстреної та невідкладної медичної допомоги, ортопедії та травматології, Харківський національний медичний університет, пр. Леніна, 4, м. Харків, Україна, 61022

УДК: 616.24-02.54/.57-07:576.852.211

DOI: 10.15587/2313-8416.2015.51771

## ВИКОРИСТАННЯ НОВОЇ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧНОЇ СИСТЕМИ GENOTYPE І РІДКОГО ЖИВИЛЬНОГО СЕРЕДОВИЩА ДЛЯ ШВИДКОЇ ДІАГНОСТИКИ ТУБЕРКУЛЬОЗУ

© А. І. Барбова, Л. В. Гайова, О. А. Журило, П. С. Трофімова, Н. М. Алієва

*В роботі представлені результати молекулярно-генетичного дослідження мультирезистентності в системі GenoType MTBDRplus. Встановлено, що при наявності мутацій, що асоційовані з резистентністю до ізоніазиду, лише в 93.1 % випадках спостерігається медикаментозна стійкість мікобактерій туберкульозу до ізоніазиду при проведенні тесту в рідкому середовищі. Робота виконана в рамках Національної програми боротьби із захворюванням на туберкульоз*

**Ключові слова:** туберкульоз, модель, лікування, ізоніазид, доза, експеримент, зміни, система, дослідження, діагностика

*This paper presents the results of molecular genetic test system GenoType multiresistentens MTBDRplus. It was established that the presence of mutations associated with resistance to isoniazid, only 93.1 % of cases of MBT to isoniazid during the test in a liquid medium. Work carried out under the National Programme to combat tuberculosis.*

**Materials and methods.** We investigated the clinical sputum samples from patients with pulmonary tuberculosis. The applied system GenoType. Principle DNA strip technology GenoType is that the DNA-coated strip specific test that are complementary to the derived PCR amplicon. After the single-stranded amplicon denaturation associated with tests on strip (hybridize), and visualized in a sequential enzymatic reaction with streptavidin and alkaline phosphatase. Evaluation of hybridization is performed automatically. For culturing sputum liquid culture medium used – Middlebrook broth 7N9 VASTES MGIT system.

**Results and discussion.** The results of molecular genetic studies of samples of sputum-concentrated and concentrated by a system GenoType not differed ( $P > 0.05$ ). Diagnostic value of two methods (molecular and genetic – system GenoType and phenotype – VASTES MGIT 960 system) was very high (100 %). Two systems have tested positive in the study 756 (95.5 %) *Mycobacterium* strains that were identified in the system VASTES MGIT 960, formed Cord Factor and the results were positive identification test ID MTB MGIT they attributed to *Mycobacterium tuberculosis* complex. 36 (4.5 %) samples from positive MGIT tubes were negative. As a result of molecular-genetic identification of nontuberculous mycobacteria complex it was found that 18 (2.3 %) strains of mycobacteria belonging to the *M. avium-intracellulare*, 12 (1.5 %) mycobacterial cultures were attributed to *M. kansasii*, 6 (0,7 %) cultures were identified as *M. fortuitum*. The results of the molecular study of MS on *Mycobacterium* resistance profile INN + RIF coincided in 95.5 % (894 strains) the results of testing by phenotypic proportions. In the presence of mutations associated with resistance to INH, only 93.1 % of cases observed MC *M. tuberculosis* to INH during TMCH in a liquid medium Middlebrook 7N9. In the presence of mutations in the genes responsible for resistance to the presence of Q, in a liquid medium only 288 (90.6 %) strains of *M. tuberculosis* have MS to Ofx. The strains of mycobacteria DNA were detected mutations in genes associated with MS to aminoglycosides / cyclic peptides in 299 (94.0 %) cases were resistant to Am and 302 (94.9 %) cases were resistant to the results Cm DST system VASTES MGIT 960. In determining the resistance to E major differences were found between the productivity of molecular genetic and phenotypic research methods – only 206 (64.2 %) strains of *M. tuberculosis* were resistant to the analysis system VASTES MGIT 960.

**Conclusions.** GenoType system allows you to quickly carry out the identification and differentiation of *Mycobacterium* strains of nontuberculous mycobacteria. The results of the molecular genetic studies multyrezystents system GenoType MTBDRplus match in 95.5 % of the phenotypic test results by proportions. Using DNA strip technology GenoType to determine mutations in the genes of *Mycobacterium* responsible for the IPU to TDC, necessarily requires a parallel DST setting in a liquid medium

**Keywords:** tuberculosis, model, treatment, isoniazid, dose, experiment, change, system, research, diagnostic

## 1. Вступ

Туберкульоз, що є найдавнішим і найбільш поширеним захворюванням, на відміну від інших інфекцій перебігає хронічно і тим самим один чи декілька хворих можуть багаторазово заражати оточуючих різними штамми збудників, в тому числі резистентними. Захворювання розвивається, як правило, не відразу: від зараження до появи симптомів може пройти кілька місяців, іноді років [1, 2].

У цей час у всьому світі відбулося підвищення частоти хіміорезистентності мікобактерій туберкульозу до основних протитуберкульозних препаратів (ПТП) (ізоніазиду та рифампіцину) і виявилось значне зниження ефективності антимікобактеріальної терапії при застосуванні існуючої ДОТС-стратегії (лікування під безпосереднім контролем коротким курсом препаратів) контролю за туберкульозом. Цю інфекцію викликають бактерії роду *Mycobacterium* родини *Mycobacteriaceae*, типовим видом якої і є *Mycobacterium tuberculosis* [3].

Бактеріологи вивчають і публікують питання біології резистентного туберкульозу, розробляють швидкі тести отримання результатів резистентності збудників, вивчають спектр медикаментозної стійкості (МС) мікобактерій туберкульозу за результатами тестування у своїх лабораторіях. Надзвичайна епідемічна ситуація з туберкульозу в Україні потребує постійного удосконалення методів профілактики, виявлення та діагностики захворювань на туберкульоз серед населення з метою зниження інфікованості, захворюваності та зменшення резервуару туберкульозної інфекції [1, 2, 4, 5].

Одним із пріоритетних напрямків в системі протитуберкульозних заходів є підвищення рівня своєчасної ефективної діагностики. На бактеріоло-

гічні лабораторії покладається особлива функція у питаннях діагностики заразних випадків захворювання на туберкульоз та моніторингу ефективності процесу лікування. Саме тому, важливим напрямком удосконалення та оптимізації роботи лабораторій протитуберкульозної служби є обов'язкова стандартизація основних бактеріологічних методів. Впровадження їх в роботу дозволить отримати результати, які можуть бути порівняні з результатами досліджень інших лабораторій, що дасть можливість своєчасно виявляти та реагувати на помилки в діагностиці, проводити оптимальне специфічне лікування хворих, оптимізувати та полегшити навчання фахівців, оцінити якість роботи лабораторій, окремих фахівців та проводити відповідний контроль ефективності лабораторних досліджень [6, 7].

Для підвищення ефективності діагностики туберкульозу все частіше використовується наступний підхід: поєднання генодіагностики із наступним культуральним посівом на рідкі живильні середовища [8].

Використання сучасних генотипічних і фенотипічних методів діагностики туберкульозу в практиці роботи мережі бактеріологічних лабораторій протитуберкульозних закладів України є необхідним для максимального скорочення термінів індикації і ідентифікації мікобактерій та визначення їх медикаментозної стійкості до протитуберкульозних препаратів. Дуже важливим є розробка алгоритмів їх комбінованого застосування та впровадження в рутинну діагностику практику істотно підвищить ранню виявляємість хворих, у тому числі з малими формами туберкульозу і позалегеневим туберкульозом. Вони є перспективними при обстеженні дітей, контактних і олігобацилярних хворих [2, 4, 6–9].

## 2. Обґрунтування дослідження

Важливість ефективної антибактеріальної терапії не викликає сумнівів, тобто результативність хіміотерапії обумовлена антибактеріальною дією хіміотерапевтичних препаратів на мікобактерії туберкульозу, при проведенні хіміотерапії бактеріостатична дія препаратів впливає не тільки на мікобактерії туберкульозу, але й на різні органи і системи хворого але дані літератури що стосуються цього зводяться головним чином до констатації проявів та частоти розвитку побічної дії і опису окремих випадків (Куликовская Н. В. и соавт., 1996) [10]. На сьогодні в Україні, коли згідно указу Президента України затверджена Національна програма боротьби із захворюванням на туберкульоз на 2002–2005 роки, існують усі умови для лікування туберкульозу у вперше виявлених хворих і подолання проблеми хіміорезистентного туберкульозу. Однак крім державної підтримки, зусиль з боку лікарів-фізятрів, лікарів загальної лікувальної мережі, необхідні заходи з боку громадськості та засобів масової інформації для підвищення рівня знань населення про необхідність своєчасного і правильного лікування туберкульозу для попередження епідемії хіміорезистентного туберкульозу (Черенько С. О., 2010) [11].

В рамках Національної програми боротьби із захворюванням на туберкульоз першочерговим завданням є ефективне функціонування мережі лабораторій з діагностики туберкульозу, які мають забезпечити своєчасне та якісне виявлення і діагностику заразних випадків туберкульозу, моніторинг процесу лікування та документальне підтвердження виліковування хворого після закінчення лікування. Для отримання якісних, достовірних результатів лабораторних досліджень у закладах, що здійснюють лабораторну діагностику туберкульозу, авторами застосована система GenoType. Система GenoType і набори реагентів: GenoType Mycobacteria Direct, GenoType MTBRplus, GenoType MTBRsl призначені:

– для визначення комплексу *M. tuberculosis* і чотирьох клінічно значимих нетуберкульозних видів мікобактерій: *M. intracellulare*, *M. kansasii*, *M. malmoense*, *M. avium*. Принцип роботи набору заснований на реакції NASBA і DNA•STRIP-технології;

– для визначення стійкості до рифампіцину (RIF) і ізоніазиду (INH) в позитивних зразках мокротиння або в негативних клінічних і культуральних зразках. Виявлення стійкості до RIF можливо при детекції найбільш значимих асоційованих мутацій гена *rpoB*, (кодує бета субодиницю РНК полімерази). Для виявлення стійкості до INH, досліджують ген *katG*, (кодує каталазу пероксидазу) і область перегляду в гені *inhA* (кодує NADH енол АСР редуктазу) (набір GenoType MTBRplus);

– для визначення стійкості до фторхінолонів (Q) (офлоксацин (Ofx) та моксифлоксацин (Mfx)), аміноглікозидів і циклічним пептидам – ін'єкційні антибіотики такі як канаміцин (Km), амікацин (Am), капреоміцин (Cm) і віомицин, а також етамбутол (E) в позитивних зразках мокротиння. Визначення МС до Q можливо при детекції найбільш значимих асоційованих мутацій гена *gyrA* (кодує А-субодиницю ДНК гірази). Для виявлення МС до аміноглікозидів/цикліч-

них пептидів досліджується ген 16S рРНК 9 (*rrs*) і для виявлення МС до Е – ген *embB* відповідно (ці гени разом з генами *embA* і *embC* кодуєть арабінозил трансферазу) (набір GenoType MTBRsl).

Для культивування мокротиння використано рідке живильне середовище – бульйон Middlebrook 7H9 в системі ВАСТЕС MGIT.

Результати молекулярно-генетичного дослідження мультирезистентності в системі GenoType MTBDRplus співпадають в 95,5 % з результатами фенотипічного тестування методом пропорцій. Використання ДНК-стрип технології GenoType для визначення мутацій в генах мікобактерій, що відповідають за МС до ПТП, обов'язково потребує паралельної постановки ТМЧ в рідкому середовищі.

Таким чином, виходячи з актуальності, своєчасності для практики та враховуючи все вищевикладене, дана наукова робота може бути видана в якості статті для лікарів-бактеріологів та лікарів-клініцистів. Стаття буде корисною для лікарів різних спеціальностей, діяльність яких пов'язана з проблемами легеневого та позалегеневого туберкульозу.

## 3. Мета досліджень

Підвищення ефективності і стандартизація методів лабораторної діагностики туберкульозу шляхом використання нової молекулярно-генетичної системи GenoType і рідкого живильного середовища Middlebrook 7H9 в системі ВАСТЕС MGIT 960.

## 4. Матеріали та методи

Для дослідження було відібрано 684 зразка мокротиння з позитивними результатами бактеріоскопії при забарвленні за методом Циля-Нільсена. В дослідженні використовували зразки концентрованого и неконцентрованого мокротиння.

Критерієм включення об'єктів вивчення у досліди були всі штами *M. tuberculosis*, які виділяли з клінічних зразків мокротиння від хворих на туберкульоз легень.

Для деконтамінації, розрідження і концентрації мікобактерій у мокротинні використовували реагент BBL Мусоргер з NALC-NaOH і додавали рівний об'єм його до зразків мокротиння. Інкубували пробірки при кімнатній температурі протягом 15 хв. Центрифугували пробірки зі зразками при прискоренні 3000 g протягом 20 хв., зливали супернатант із пробірок, потім до осаду додавали 0,8–1,0 мл стерильного фосфатного буферу та по 0,5 мл засівали в пробірки MGIT. Для збагачення рідкого живильного середовища Middlebrook 7H9 використовували реагент PANTA, який після розведення по 0,8 мл додавали до кожної пробірки MGIT безпосередньо перед посівом матеріалу. Пробірки поміщали в систему ВАСТЕС MGIT 960 та інкубували. Для фенотипічної ідентифікації виділених штамів мікобактерій застосований імунохроматографічний тест (ID MTB MGIT) [1, 3, 4, 12, 13].

В роботі використана молекулярно-генетична система GenoType з різними наборами реагентів:

– набори GenoType Mycobacteria Direct і GenoType Mycobacteria CM застосовували для визна-

чення комплексу *M. tuberculosis* (*M. tuberculosis*, *M. africanum*, *M. bovis* subsp., *M. bovis* BCG, *M. capre*, *M. microti*, *M. canetti*, *M. pinnipedii*) і чотирьох клінічно значимих нетуберкульозних видів мікобактерій: *M. intracellulare*, *M. kansasii*, *M. malmoense*, *M. avium*. Принцип роботи набору заснований на реакції NASBA і DNA-STRIP-технології;

– набір GenoType MTBRplus використовували для визначення стійкості до рифампіцину (RIF) і ізоніазиду (INH) в позитивних зразках мокротиння або в негативних клінічних і культуральних зразках. Виявлення стійкості до RIF можливо при детекції найбільш значимих асоційованих мутацій гена *rpoB*, (кодує β-субодиницю РНК полімерази). Для виявлення стійкості до INH, досліджують ген *katG*, (кодує каталазу, пероксидазу) і область перегляду в гені *inhA* (кодує NADH енoїл АСР редуктазу);

– набір GenoType MTBRsl був застосований для визначення стійкості до фторхінолонів (Q), аміноглікозидів/циклічних пептидів, а також етамбутолу (E) в позитивних зразках мокротиння. Визначення МС до Q можливо при детекції найбільш значимих асоційованих мутацій гена *gyrA* (кодує α-субодиницю ДНК гірази). Для виявлення медикаментозної стійкості до аміноглікозидів/циклічних пептидів досліджується ген 16S rРНК 9 (*rrs*) і для виявлення МС до E – ген *embB* відповідно (ці гени разом з генами *embA* і *embC* кодують арабінозилтрансферазу) [5, 14, 15].

В наборах для виявлення, ідентифікації і визначення МС мікобактерій використана ДНК-стрипова технологія (виробництво Hain Lifescience (Німеччина)).

Процедура проведення тестування підрозділяється на три етапи: виділення ДНК із дослідного матеріалу, мультиплексна ампліфікація з біотинілірованими праймерами і реверс-гібридизація.

Після хімічної денатурації, одноланцюгові амплікони зв'язуються із зондами (гібридизація). Високо специфічне зв'язування комплементарних ланцюгів ДНК обумовлено жорсткими умовами, які створюються в результаті оптимальної комбінації складу буфера і температури. Таким чином, зонди можуть вірогідно розпізнавати кілька варіантів послідовностей у тестуємої області гена. Кон'югована стрептавідином лужна фосфатаза зв'язується з біотином ампліконів за допомогою фрагментів стрептавідина. У підсумку, лужна фосфатаза перетворює доданий субстрат у пофарбовану форму, яка стає видимою на мембрані стрипів, як кольоровий преципітат. Оцінка проводиться комп'ютерною програмою автоматично.

Зберігання даних досліджень та їх математична обробка виконувались за допомогою ліцензійних програмних продуктів, які входять до пакету Microsoft Office Professional 2000, ліцензія Russian Academic OPEN NoLevel № 17016297.

### 5. Результати дослідження

В табл. 1 показано результати досліджень зразків мокротиння за допомогою молекулярно-генетичної системи GenoType, n=684, (M±m) %.

Таблиця 1

Результати досліджень зразків мокротиння за допомогою молекулярно-генетичної системи GenoType, n=684, (M±m) %

| Клінічний матеріал       | Кількість зразків, що містять ДНК мікобактерій |           |                         |          |              |          |             |          |
|--------------------------|--|-----------|-------------------------|----------|--------------|----------|-------------|----------|
|                          | M. tuberculosis-complex                        |           | M. avium-intracellulare |          | M. fortuitum |          | M. kansasii |          |
|                          | abc  | M±m       | abc                     | M±m      | abc          | M±m      | abc         | M±m      |
| Мокротиння               | 642  | 93,9±0,9* | 24                      | 3,5±0,7* | 12           | 1,8±0,5* | 6           | 0,9±0,4* |
| Концентроване мокротиння | 642  | 93,9±0,9* | 24                      | 3,5±0,7* | 12           | 1,8±0,5* | 6           | 0,9±0,4* |

Примітка: \* – p>0,05 при порівнянні результатів позитивності зразків неконцентрованого та концентрованого мокротиння в системі GenoType

В табл. 2 показано результати порівняльного дослідження культурального і молекулярно-генетичного методу діагностики туберкульозу позитивних за результатами бактеріоскопії зразків мокротиння, (M±m) %.

Таблиця 2

Результати порівняльного дослідження культурального і молекулярно-генетичного методу діагностики туберкульозу позитивних за результатами бактеріоскопії зразків мокротиння, (M±m) %

| Методи дослідження | Кількість зразків мокротиння |       |
|--------------------|------------------------------|-------|
|                    | Аbc                          | M ± m |
| ВАСТЕС MGIT(+)     | 846                          | 100   |
| GenoType(+)        | 846                          | 100   |

Примітка: (+) – позитивний результат

В табл. 3 показано результати дослідження клінічних ізолятів мікобактерій, що були виділені в рідкому середовищі в системі ВАСТЕС MGIT 960, (M±m) %.

В табл. 4 показано результати порівняльного аналізу мультирезистентних штамів *M. tuberculosis* за допомогою молекулярно-генетичної системи.

GenoType MTBDRplus і системи ВАСТЕС MGIT 960, (M±m) %.

В табл. 5 показано результати порівняльного аналізу медикаментозної стійкості до рифампіцину за допомогою молекулярно-генетичної системи GenoType и набору MTBDRplus і системи ВАСТЕС MGIT 960, (M±m) %.

В табл. 6 показано результати порівняльного аналізу медикаментозної стійкості до ізоніазиду за допомогою системи GenoType і набору MTBDRplus та системи ВАСТЕС MGIT 960, (M±m) %.

В табл. 7 показано результати порівняльного аналізу медикаментозної стійкості до фторхінолонів, аміноглікозидів/циклічних пептидів та етамбутолу штамів *M. tuberculosis* за допомогою молекулярно-генетичного та фенотипічного методів, N=318, (M±m) %.

Таблиця 3

Результати дослідження клінічних ізолятів мікобактерій, що були виділені в рідкому середовищі в системі BACTEC MGIT 960, (M±m) %

| Методи дослідження   | Кількість штамів мікобактерій |           |
|--|-------------------------------|-----------|
|  | абс                           | M±m       |
| Корд-фактор (+)<br>ID MTB MGIT (+)<br>GenoType MTBDRplus (+) | 756                           | 95,5±0,7* |
| Корд-фактор (-)<br>ID MTB MGIT (-)<br>GenoType MTBDRplus (+) | 36                            | 4,5±0,7*  |
| Всього   | 792                           | 100       |

Примітки:

(+) – позитивний результат;

(-) – негативний результат;

\* –  $p < 0,01$  при порівнянні кількості зразків мокротиння з позитивними результатами фенотипічної ідентифікації і молекулярно-генетичних досліджень та кількості зразків мокротиння з негативними результатами фенотипічної ідентифікації і позитивними результатами аналізу в системі GenoType MTBDRplus

Таблиця 4

Результати порівняльного аналізу мультирезистентних штамів M. tuberculosis за допомогою молекулярно-генетичної системи GenoType MTBDRplus і системи BACTEC MGIT 960, (M±m) %

| Методи дослідження  | Кількість штамів |           |
|---|------------------|-----------|
|   | абс              | M±m       |
| GenoType MTBDRplus RIF (+) INH (+)<br>BACTEC MGIT RIF (+) INH (+) | 894              | 95,5±0,7* |
| GenoType MTBDRplus RIF (+) INH (+)<br>BACTEC MGIT RIF (-) INH (-) | 42               | 4,5±0,6*  |
| Всього  | 936              | 100       |

Примітки:

(+) – позитивний результат;

(-) – негативний результат;

\* –  $p < 0,01$  при порівнянні показників мультирезистентності, виявлених фенотипічним і генотипічним методами одночасно та результатів мультирезистентності, виявлених за результатами молекулярно-генетичного дослідження і негативних результатів мультирезистентності методом культуральної діагностики

Таблиця 5

Результати аналізу медикаментозної стійкості до рифампіцину за допомогою молекулярно-генетичної системи GenoType і набору MTBDRplus і системи BACTEC MGIT 960, (M±m) %

| Методи дослідження                                | Кількість штамів |     |
|---|------------------|-----|
|   | абс              | M±m |
| GenoType MTBDRplus RIF (+)<br>BACTEC MGIT RIF (+) | 102              | 100 |
| Всього  | 102              | 100 |

Примітки:

(+) – позитивний результат;

(-) – негативний результат

Таблиця 6

Результати порівняльного аналізу медикаментозної стійкості до ізоніазиду за допомогою системи GenoType і набору MTBDRplus та системи BACTEC MGIT 960, (M±m) %

| Методи дослідження                                | Кількість штамів |           |
|---|------------------|-----------|
|   | абс              | M±m       |
| GenoType MTBDRplus INH (+)<br>BACTEC MGIT INH (+) | 324              | 93,1±1,4* |
| GenoType MTBDRplus INH (+)<br>BACTEC MGIT INH (-) | 24               | 6,9±1,3*  |
| Всього  | 348              | 100       |

Примітки:

(+) – позитивний результат;

(-) – негативний результат;

\* –  $p < 0,01$  при порівнянні показників резистентності до ізоніазиду (INH), виявлених за допомогою культурального методу і молекулярно-генетичної системи GenoType та показників резистентності до ізоніазиду (INH), виявлених лише за допомогою молекулярно-генетичного методу

Таблиця 7

Результати порівняльного аналізу медикаментозної стійкості до фторхінолонів, аміноглікозидів/циклічних пептидів та етамбутолу штамів M. tuberculosis за допомогою молекулярно-генетичного та фенотипічного методів, N=318, (M±m) %

| Методи дослідження   | Кількість штамів |           |
|--|------------------|-----------|
|  | абс              | M±m       |
| GenoType MTBDRsl Q (+)<br>BACTEC MGIT Ofx (+)                                  | 288              | 90,6±1,6* |
| GenoType MTBDRsl Q (+)<br>BACTEC MGIT Ofx (-)                                  | 30               | 9,4±1,6*  |
| GenoType MTBDRsl аміноглікозиди/<br>циклічні пептиди (+)<br>BACTEC MGIT Am (+) | 299              | 94,0±1,3* |
| GenoType MTBDRsl аміноглікозиди/<br>циклічні пептиди (+)<br>BACTEC MGIT Am(-)  | 19               | 6,0±1,3*  |
| GenoType MTBDRsl аміноглікозиди/<br>циклічні пептиди (+)<br>BACTEC MGIT Cm (+) | 302              | 94,9±1,2* |
| GenoType MTBDRsl аміноглікозиди/<br>циклічні пептиди (+)<br>BACTEC MGIT Cm(-)  | 16               | 5,1±1,2*  |
| GenoType MTBDRsl E (+)<br>BACTEC MGIT E(+)                                     | 206              | 64,2±2,7* |
| GenoType MTBDRsl E (+)<br>BACTEC MGIT E (-)                                    | 112              | 35,8±2,7* |

Примітки:

(+) – позитивний результат;

(-) – негативний результат;

\* –  $p < 0,01$  при порівнянні показників резистентності до Ofx, Am, Cm та E, виявлених за допомогою культурального методу і системи GenoType та показників резистентності до Q, аміноглікозидів/циклічних пептидів та E, виявлених лише за допомогою молекулярно-генетичного методу

## 6. Обговорення результатів дослідження

Після проведення всіх етапів дослідження були отримані наступні результати молекулярної ідентифікації мікобактерій на рівні ДНК: в 642 (93,9 %) зразках було підтверджено наявність комплексу *M. tuberculosis*, в 42 (6,2 %) зразках було виявлено мікобактерії нетуберкульозного комплексу: в 24 (3,5 %) випадках – *M. avium-intracellulare*, в 12 (1,8 %) випадках – *M. fortuitum*, а в 6 випадках (0,9 %) спостерігалась *M. kansasii*. Результати досліджень за допомогою системи гібридизації з типоспецифічними зондами GenoType представлені в табл. 1.

З даних табл. 1 видно, що результати молекулярно-генетичних досліджень зразків неконцентрованого і концентрованого мокротиння за допомогою системи GenoType не відрізнялись між собою ( $p > 0,05$ ).

З табл. 2 видно, що всі зразки мокротиння, що давали ріст при дослідженні методом посіву в системі ВАСТЕС MGIT 960, мали позитивний результат в системі GenoType, щодо наявності ДНК *M. tuberculosis-complex*. Діагностична цінність двох методів діагностики була дуже високою та складала 100 %.

При посіві клінічних ізолятів мікобактерій на 5,0 % кров'яний агар росту неспецифічної мікрофлори не спостерігалось, що свідчило про виділення чистої культури мікобактерій. При мікроскопії вмісту позитивних пробірок MGIT була підтверджена кислотостійкість виділених бактерій, корд-фактор був визначений в 756 (95,5 %) випадках, в 36 (4,5 %) позитивних пробірках MGIT при мікроскопії були виявлені окремі кислотостійкі бактерії (КСБ), які не утворювали корд-фактор. Це дало нам підставу припустити, що дані культури мікобактерій не належать до комплексу *M. tuberculosis* і потребують подальшої ретельної ідентифікації.

Всі культури мікобактерій, що були отримані з позитивних пробірок MGIT досліджувалися за допомогою імунохроматографічного ідентифікаційного тесту ID MTB MGIT. За результатами дослідження виявилось, що 756 (95,5 %) культур, які мали корд-фактор, були ідентифіковані, як *M. tuberculosis-complex*, 36 (4,5 %) культур, що не утворювали корд-фактор, віднесені до мікобактерій нетуберкульозного комплексу.

На наступному етапі всі культури мікобактерій були досліджені за допомогою молекулярно-генетичної системи GenoType. Результати досліджень представлені в табл. 3.

З табл. 3, видно, що 756 (95,5 %) штамів мікобактерій, які були виділені в системі ВАСТЕС MGIT 960, утворювали корд-фактор та були позитивними за результатами ідентифікаційного тесту ID MTB MGIT, при проведенні молекулярно-генетичних досліджень в системі GenoType були ідентифіковані як *M. tuberculosis-complex*.

За результатами досліджень з використанням ідентифікаційного тесту ID MTB MGIT 36 (4,5 %) проб з позитивних пробірок MGIT мали негативний результат. Ці мікобактерії не утворювали корд-фактор, тому їх можна було віднести до комплексу нетубер-

кульозних мікобактерій. Тому було проведено їх дослідження в системі GenoType з наборами GenoType Mycobacteria Direct і GenoType Mycobacteria CM, які дають можливість ідентифікувати клінічно-значимі ізоляти мікобактерій за межами туберкульозного комплексу.

За результатами молекулярно-генетичної ідентифікації було встановлено, що з 36 культур мікобактерій 18 (2,3 %) належали до *M. avium-intracellulare*, 12 (1,5 %) культур мікобактерій були віднесені до *M. kansasii*, 6 (0,7 %) культур було ідентифіковано, як *M. fortuitum*.

Враховуючі те, що для призначення ефективної терапії хворим на туберкульоз, необхідним є не тільки результат про наявність *M. tuberculosis-complex* в організмі пацієнта, найбільш вагомим є отримання в короткий термін профілю медикаментозної резистентності виділених мікобактерій, нами були розпочати дослідження щодо обґрунтування використання молекулярно-генетичної системи GenoType для швидкого визначення МС мікобактерій.

Наші дослідження були спрямовані на визначенні МС *M. tuberculosis-complex* в системі GenoType та наборами реагентів GenoType MTBDRplus та GenoType MTBDRsl для визначення медикаментозної резистентності до INH і RIF, Q, аміноглікозидів/циклічних пептидів та E відповідно.

За результатами фенотипічного тестування на МС *M. tuberculosis* в рідкому середовищі були відібрані 936 мультирезистентних штамів *M. tuberculosis*, що циркулювали серед хворих на туберкульоз з різними категоріями та випадками захворювання. Результати досліджень представлені в табл. 4.

Результати молекулярного дослідження МС мікобактерій щодо профілю резистентності MDR-штамів, тобто до INH і RIF одночасно співпали в 95,5 % (894 штами) з результатами фенотипічного тестування методом пропорцій в системі ВАСТЕС MGIT 960.

Результати визначення монорезистентності до RIF, або в комбінації з іншими ПТП, крім INH за допомогою двох методів не відрізнялись між собою і повністю співпадали (табл. 5).

За допомогою набору GenoType MTBDRplus нами було досліджено 348 штамів МБТ з резистентністю до INH і співставлені з результатами тесту медикаментозної чутливості (ТМЧ) в системі ВАСТЕС MGIT 960. В табл. 6 представлені результати порівняння результатів фено- та генотипічного методів щодо резистентності до INH.

Було виявлено, що при наявності мутацій, що асоційовані з резистентністю до INH, лише в 93,1 % випадках спостерігалась МС *M. tuberculosis* до INH при проведенні ТМЧ в рідкому середовищі Middlebrook 7H9.

Нами були виконані дослідження щодо порівняльного вивчення показників резистентності до ПТП 2-го ряду, виявлених за допомогою молекулярно-генетичного і фенотипічного методів. Для цього було відібрано 318 штамів *M. tuberculosis*, які за результатами вивчення МС в системі GenoType із застосуван-

ням набору GenoType MTBDRsl, мали резистентність до групи Q, аміноглікозидів/циклічних пептидів та E. Для визначення медикаментозної стійкості фенотипічним методом до офлоксацину (Ofx), амікацину (Am), капреоміцину (Cm) та E було застосовано рідке середовище в системі VASTEC MGIT 960.

Результати порівняльних досліджень представлені в табл. 7.

З табл. 7 видно, що при наявності мутації в генах, що відповідають за наявність стійкості до Q, в рідкому середовищі лише 288 (90,6 %) штамів *M. tuberculosis* мали MC до Ofx. Штами мікобактерій, в ДНК яких були виявлені мутації в генах, асоційованих з MC до аміноглікозидів/циклічних пептидів, в 299 (94,0 %) випадках були стійкими до Am та в 302 (94,9 %) випадках були стійкими до Cm за результатами ТМЧ в системі VASTEC MGIT 960. При визначенні стійкості для E були виявлені найбільші розбіжності між результативністю молекулярно-генетичного і фенотипічного методів дослідження – лише 206 (64,2 %) штамів *M. tuberculosis* були стійкими за результатами аналізу в системі VASTEC MGIT 960.

На підставі отриманих експериментальних даних та проведеного аналізу встановлено загальні підходи до діагностики туберкульозу та хіміорезистентного туберкульозу з використанням сучасних гено-фенотипових методів. Генотипові методи використовуються з метою виявлення, диференціальної діагностики і визначення чутливості мікобактерій до ПТП 1-го і 2-го ряду, обов'язково паралельно супроводжуються класичними культуральними дослідженнями на рідких та/або щільних живильних середовищах, не використовуються для бактеріологічного моніторингу лікування хворих на туберкульоз (для цього застосовуються бактеріоскопія мазків мокротиння і культуральні дослідження на рідких та/або щільних живильних середовищах).

## 7. Висновки

Впровадження в діагностичні дослідження на туберкульоз системи GenoType дозволило швидко проводити ідентифікацію виділених мікобактерій та диференціацію нетуберкульозних штамів мікобактерій (*M. avium-intracellulare*, *M. fortuitum*, *M. kansasii* та ін.).

1. Результати молекулярно-генетичного дослідження мультирезистентності в системі GenoType MTBDRplus співпадають в 95,5 % з результатами фенотипічного тестування методом пропорцій.

2. Виявлено, що при наявності мутацій, що асоційовані з резистентністю до ізоніазиду, лише в 93,1 % випадках спостерігається MC МБТ до ізоніазиду при проведенні тесту в рідкому середовищі.

3. Наявність мутацій в генах, що асоційовані з медикаментозною стійкістю до протитуберкульозних препаратів, не завжди підтверджується фенотипічними методами досліджень. Тому використання ДНК-стрип технології GenoType для визначення мутацій в генах мікобактерій, що відповідають за медикаментозну стійкість до протитуберкульозних препаратів, обов'язково потребує паралельної постановки тесту

медикаментозної чутливості в рідкому середовищі для повної характеристики медикаментозної стійкості мікобактеріальної популяції.

4. Авторами доведено, що система GenoType дозволяє швидко проводити ідентифікацію мікобактерій та диференціацію нетуберкульозних штамів мікобактерій.

## Література

1. Иртуганова, О. А. Автоматизированные методы культурального определения *Mycobacterium tuberculosis* на жидких средах [Текст] / О. А. Иртуганова и др. // Проблемы туберкулеза. – 2001. – № 3. – С. 53–56.

2. Дорожкова, И. Р. Повышение эффективности выделения и идентификации микобактерий в условиях централизованной микобактериологической лаборатории [Текст] / И. Р. Дорожкова, М. В. Макарова, Г. Е. Фрейман // Туберкулез и болезни легких. – 2012. – № 11. – С. 21–26.

3. Барбова, А. І. Застосування автоматизованої системи MGIT для діагностики туберкульозу легень і визначення медикаментозної стійкості мікобактерій [Текст]: метод. рек. / А. І. Барбова та ін. – Інститут фтизіатрії і пульмонології ім. Ф. Г. Яновського АМН України. – К.: ІФП, 2007. – 24 с.

4. Журило, О. А. Молекулярно-генетичні підходи до здійснення ідентифікації мікобактерій [Текст]: тез. доп. / О. А. Журило, А. І. Барбова, П. С. Трофімова та ін. // V з'їзд фтизіатрів і пульмонологів України. – К., 2013. – С. 123–124.

5. Елисеєв, П. И. Результаты применения методов GenoType MTBDRplus и VASTEC MGIT для определения лекарственной чувствительности возбудителя туберкулеза [Текст] / П. И. Елисеєв, Е. И. Никишова, Г. П. Горина, А. О. Марьяндышев // Туберкулез и болезни легких. – 2012. – № 6. – С. 31–34.

6. Журило, О. А. Система забезпечення якості бактеріологічних досліджень в закладах, що здійснюють мікробіологічну діагностику туберкульозу на різних рівнях надання медичної допомоги Україні [Текст] / О. А. Журило та ін. – Кіровоград: Поліум, 2013. – 72 с.

7. Журило, О. А. Стандарти бактеріологічної діагностики туберкульозу в лабораторіях протитуберкульозних закладів України [Текст] / О. А. Журило, А. І. Барбова, Т. Г. Глушкевич, Л. В. Третякова. – Київ, 2012. – 190 с.

8. Барбова, А. І. Сучасні підходи щодо проведення бактеріологічної ідентифікації мікобактерій [Текст] / А. І. Барбова, О. А. Журило, П. С. Трофімова та ін. // Український пульмонологічний журнал. – 2013. – № 3. – С. 28–32.

9. Фещенко, Ю. І. Уніфікований клінічний протокол первинної, вторинної (спеціалізованої) та третинної (високоспеціалізованої) медичної допомоги «Туберкульоз»: особливості його підготовки та чим відрізняється від попередніх клінічних протоколів [Текст] / Ю. І. Фещенко, С. О. Черенько, А. І. Барбова // Туберкульоз, легеневі хвороби, ВІЛ-інфекція. – 2013. – № 2. – С. 8–18.

10. Куликовская, Н. В. Получение и характеристика моноклональных антител к микобактериям *Stegmatis* и *Kansassi* [Текст] / Н. В. Куликовская, М. Л. Каплина, О. Л. Калинина // Проблемы туберкулеза. – 1996. – № 1. – С. 2–4.

11. Черенько, С. О. Основні принципи лікування туберкульозу легень з резистентними мікобактеріями тубер-

кульозу [Текст] / С. О. Черенько // Укр. Пульмонологічний журнал. – 2010. – № 3. – С. 27–32.

12. Lu, P.-L. Evaluation of the BACTEC MGIT 960 System in Combination with the MGIT TBc Identification Test for Detection of Mycobacterium tuberculosis Complex in Respiratory Specimens: Table 1. [Text] / P.-L. Lu, Y.-C. Yang, S. C. Huang, Y.-S. Jenh, Y.-C. Lin, H.-H. Huang, T. C. Chang // Journal of Clinical Microbiology. – 2011. – Vol. 49, Issue 6. – P. 2290–2292. doi: 10.1128/jcm.00571-11

13. Rusch-Gerdes, S. Multicenter laboratory validation of the BACTEC MGIT 960 technique for testing susceptibilities of Mycobacterium tuberculosis to classical second-line drug and newer antimicrobials [Text] / S. Rusch-Gerdes, G. E. Pfyffer, M. Casal, M. Chadwick, S. Siddiqi // Journal of Clinical Microbiology. – 2006. – Vol. 44, Issue 3. – P. 688–692. doi: 10.1128/jcm.44.3.688-692.2006

14. Kiet, V. S. Evaluation of the MTBDRsl Test for Detection of Second-Line-Drug Resistance in Mycobacterium tuberculosis [Text] / V. S. Kiet, N. T. N. Lan, D. D. An, N. H. Dung, D. V. Hoa, N. van Vinh Chau et. al // Journal of Clinical Microbiology. – 2010. – Vol. 48, Issue 8. – P. 2934–2939. doi: 10.1128/jcm.00201-10

15. Lacoma, A. GenoType MTBDRsl for Molecular Detection of Second-Line-Drug and Ethambutol Resistance in Mycobacterium tuberculosis Strains and Clinical Samples [Text] / A. Lacoma, N. García-Sierra, C. Prat, J. Maldonado, J. Ruiz-Manzano, L. Haba et. al // Journal of Clinical Microbiology. – 2011. – Vol. 50, Issue 1. – P. 30–36. doi: 10.1128/jcm.05274-11

#### References

1. Yrtuhanova, A. A. et. al. (2001). Automated methods for determining Mousse culture Bacterium tuberculosis in zhydkyh environments. Problems of tuberculosis, 3, 53–56.

2. Dorozhkova, R. I., Makarov, M. V., Freiman, G. E. (2012). Allocation Increase of the effectiveness and Authentication mykobakteryi in terms tsentralyzovannoy mykobakteryolohycheskoy laboratory. Tuberculosis and lung disease, 11, 21–26.

3. Barbova, A. I. et. al. (2007). The use of automated MGIT system for the diagnosis of pulmonary tuberculosis and determination of drug resistance of mycobacteria. Institute of Phthisiology and Pulmonology. F. G. Yanovsky AMS Ukraine. Kyiv: IFS, 24.

4. Zhurylo, O. A., Barbova, A. I., Trofimova, P. S. et. al. (2013). Molecular genetic approaches to identify mycobacteria. V Congress of TB doctors and pulmonologists Ukraine. Kyiv, 123–124.

5. Eliseev, P. I., Nikishova, E. I., Gorina, G. P., Mar'jandyshev, A. O. (2012). Results of application methods GenoType MTBDRplus and BASTES MGIT lekarstvennoy chuvstvytel-

nosty definitions for tuberculosis pathogen. Tuberculosis and lung disease, 6, 31–34.

6. Zhurylo, A. A. (2013). Quality Assurance System bacteriological research in institutions that carry out microbiological diagnosis of tuberculosis at different levels of care Ukraine. Kirovograd: Polium, 72.

7. Zhurilo, O. A., Barbova, A. I., Glushkevich, T. G., Tretjakova, L. V. (2012). Standards bacteriological diagnosis of tuberculosis in laboratories TB facilities Ukraine. Kirovograd: Polium, 190.

8. Barbova, A. I., Zhurylo, O. A., Trofimova, P. S. et. al (2013). Modern approaches to conducting bacteriological identification of Mycobacterium. Ukr. pulmonol. Zh., 3, 28–32.

9. Feschenko, Y. I., Cherenko, A., Barbova, A. I. (2013). Unified clinical protocols of primary, secondary (specialized) and tertiary (highly specialized) medical care “Tuberculosis”, especially its training and different from previous clinical protocols. Tuberculosis, pulmonary disease, HIV infection, 2, 8–18.

10. Kulikov, N. V., Kaplina, M. L., Kalinin, O. L. (1996). Preparation and characterization of antibodies to Mycobacterium monoklonovyyh Stegmatis and Kansasi. Problems tuberkuleza, 1, 2–4.

11. Cherenko, S. O. (2010). Basic principles of treatment of tuberculosis resistant Mycobacterium tuberculosis. Ukr. Pulmonological magazine, 3, 27–32.

12. Lu, P.-L., Yang, Y.-C., Huang, S. C., Jenh, Y.-S., Lin, Y.-C., Huang, H.-H., Chang, T. C. (2011). Evaluation of the Bactec MGIT 960 System in Combination with the MGIT TBc Identification Test for Detection of Mycobacterium tuberculosis Complex in Respiratory Specimens: Table 1. Journal of Clinical Microbiology, 49 (6), 2290–2292. doi: 10.1128/jcm.00571-11

13. Rusch-Gerdes, S., Pfyffer, G. E., Casal, M., Chadwick, M., Siddiqi, S. (2006). Multicenter Laboratory Validation of the BACTEC MGIT 960 Technique for Testing Susceptibilities of Mycobacterium tuberculosis to Classical Second-Line Drugs and Newer Antimicrobials. Journal of Clinical Microbiology, 44 (3), 688–692. doi: 10.1128/jcm.44.3.688-692.2006

14. Kiet, V. S., Lan, N. T. N., An, D. D., Dung, N. H., Hoa, D. V., van Vinh Chau, N. et. al (2010). Evaluation of the MTBDRsl Test for Detection of Second-Line-Drug Resistance in Mycobacterium tuberculosis. Journal of Clinical Microbiology, 48 (8), 2934–2939. doi: 10.1128/jcm.00201-10

15. Lacoma, A., García-Sierra, N., Prat, C., Maldonado, J., Ruiz-Manzano, J., Haba, L. Et. al (2011). GenoType MTBDRsl for Molecular Detection of Second-Line-Drug and Ethambutol Resistance in Mycobacterium tuberculosis Strains and Clinical Samples. Journal of Clinical Microbiology, 50 (1), 30–36. doi: 10.1128/jcm.05274-11

*Дата надходження рукопису 22.09.2015*

**Гайова Людмила Володимирівна**, доктор медичних наук, професор, кафедра біоорганічної та біологічної хімії, Національний медичний університет ім. О. О. Богомольця, бул. Т. Шевченка, 13, м. Київ, Україна, 01601  
E-mail: ludmilagaevaya@gmail.com

**Барбова Ганна Іванівна**, кандидат медичних наук, старший науковий співробітник, лабораторія мікробіології Державної установи, Національний інститут фізіатрії і пульмонології ім. Ф. Г. Яновського НАМН України, вул. Амосова Миколи, 10, м. Київ, Україна, 03680  
E-mail: barbova@ifp.kiev.ua



**Журило Олександр Анатолійович**, доктор медичних наук, лабораторія мікробіології Державної установи, Національний інститут фтизіатрії і пульмонології ім. Ф. Г. Яновського НАМН України, вул. Амосова Миколи, 10, м. Київ, Україна, 03680  
E-mail: [microbio@ifp.kiev.ua](mailto:microbio@ifp.kiev.ua)

**Трофимова Поліна Станіславівна**, кандидат медичних наук, науковий співробітник, лабораторія мікробіології Державної установи, Національний інститут фтизіатрії і пульмонології ім. Ф. Г. Яновського НАМН України, вул. Амосова Миколи, 10, м. Київ, Україна, 03680  
E-mail: [trofimova@ifp.kiev.ua](mailto:trofimova@ifp.kiev.ua)

**Алієва Наталія Миколаївна**, лікар-бактеріолог першої категорії, завідувачка клініко-діагностичною лабораторією, клініко-діагностична лабораторія, Полтавський обласний протитуберкульозний диспансер, вул. Шилівська, 51-А, м. Полтава, Україна, 36028  
E-mail: [microbio@ifp.kiev.ua](mailto:microbio@ifp.kiev.ua)

UDC 616.5

DOI: 10.15587/2313-8416.2015.51530

## HIDRADENITIS SUPPURATIVA SUCCESSFULLY TREATED WITH ADALIMUMAB

© I. Bukhari, A. Al Zahrani

*Гнійний гідраденіт (ГГ) – це захворювання шкіри, що характеризується формуванням численних кіст, абсцесів та свищевих трактів в зоні апокринних залоз. Етіологія і патогенез ГГ невідомі. Існуючі медичні та хірургічні терапевтичні практики мають мінімальний ефект лікування цього захворювання. Біологічний засіб Адалімумаб – це новий перспективний засіб лікування ГГ*

**Ключові слова:** Гнійний гідраденіт, біопрепарати, апокринні залози, адалімумаб

**Aim:** To discuss the new beneficial effect of adalimumab in the management of hidradenitis suppurativa(HS).

**Case:** We report a 25-year-old arabic female with a 14-year history with long-standing poorly controlled active hidradenitis suppurativa who was successfully treated with adalimumab.

**Discussion:** Hidradenitis suppurativa is a skin disorder characterized by the formation of multiple cysts, abscesses and sinus tracts in apocrine gland-bearing areas. The aetiology and pathogenesis of HS are unknown. Current medical and surgical therapies are only minimally effective at treating the disease. The biologic agent Adalimumab is a new promising agent for the treatment of HS.

**Conclusion:** The biologic agent adalimumab is an effective treatment for HS

**Keywords:** Hidradenitis suppurativa, biologics, apocrine glands, adalimumab

### 1. Introduction

Hidradenitis suppurativa (HS) is a chronic inflammatory disease of the skin characterized by recurrent nodules, abscesses, sinus tract formation and scarring affecting mainly areas rich with apocrine glands including the axillae, groin, buttocks, perianal and submammary regions. The disease initially presents during puberty and is more common in females. Treatment options include oral antibiotics, isotretinoin, finasteride, prednisone, cyclosporine, surgery, carbon dioxide laser therapy and radiotherapy. Recently, the efficacy of different biologics has been demonstrated. We report a patients with long-standing active hidradenitis suppurativa who was successfully treated with adalimumab.

### 2. The case

A 25-year-old arabic female presented with a 14-year history of painful discharging nodules, sinuses and cysts involving axillae (Fig. 1, a), submammary region and groin. Her past medical history was negative ex-

cept for mild acne vulgaris affecting the face. There was no history of inflammatory bowel disease or any other medical illnesses. Physical examination of the axillary areas, submammary and the groins revealed multiple erythematous tender nodules with discharging sinuses and abscesses. Some areas were macerated due to the continuous severe inflammation. Other areas showed healed hypertrophic scars. Her baseline investigations including complete blood count, liver function tests, renal function tests, lipid profile, antinuclear antibodies, antidouble stranded DNA, complement 3 and 4 and c reactive proteins were within normal limits. Culture of the discharge from the abscesses was negative. So the patient was diagnosed as a case of HS. Initially, she was treated with oral isotretinoin 1 mg per kg for 5 months with no improvement then a course of oral doxycycline 100 mg once daily for 12 weeks failed to improve the condition. A single course of Infliximab (three intravenous infusions at weeks 0, 2 and 6) was started for 10 weeks with minimal improvement. Over a period of few months