MINISTERUL SĂNĂTĂȚII AL REPUBLICII MOLDOVA
INSTITUȚIA PUBLICĂ UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE „NICOLAE TESTEMIȚANU” DIN REPUBLICA MOLDOVA

Cu titlu de manuscris
CZU: 616.24-002.5-022.3:616-052:614.21(043.2)

NOROC Ecaterina

EVALUAREA ȘI PRIORITIZAREA FACTORILOR DE RISC ÎN TRANSMITEREA TUBERCULOZEI REZISTENTE LA PACIENȚII SPITALIZAȚI

313.02 MICROBIOLOGIE, VIRUSOLOGIE MEDICALĂ

TEZĂ DE DOCTOR ÎN ȘTIINȚE MEDICALE

Conducător ştiinţific — **CRUDU Valeriu**
dr. șt. med., conferențiar cercetător

Consultanți ştiinţifici: — **LANGE Christoph**
dr. hab. șt. med., prof. univ.
Centrul de cercetări Borstel, Germania

NIEMANN Stefan
dr. hab. șt., prof. univ.
Centrul de cercetări Borstel, Germania

Autor — **NOROC Ecaterina**

Chișinău, 2024

©Noroc Ecaterina, 2024

CUPRINS

ADNOTARE 5
LISTA TABELELOR 8
LISTA FIGURILOR 9
LISTA ABREVIERILOR 11
INTRODUCERE 13
1 EPIDEMIOLOGIA TUBERCULOZEI REZISTENTE ȘI POLITICILE DE SĂNĂTATE PUBLICĂ ELABORATE ÎN STOPAREA TRANSMITERII ACESTEI INFECȚII 21
1.1 Tuberculoza în context general 21
1.2 Tuberculoza rezistentă în context mondial, regional și național 26
1.3 Răspunsul național în controlul tuberculozei 31
1.4 Diagnosticul tuberculozei 35
1.5 Importanța secvențierii întregului genom al *Mycobacterium tuberculosis* 37
1.6 Transmiterea nosocomială a TB și politici în controlul infecției 46
1.7 Concluzii în baza capitolului 1 50
2 MATERIALE ȘI METODE 52
2.1 Caracteristici generale privind metodologia de cercetare 52
2.2 Proiectarea și design-ul cercetării 52
2.3 Metodele de cercetare aplicate 54
2.4 Metodele de laborator aplicate 55
2.4.1 Metode bacteriologice 56
2.4.2 Testarea fenotipică a sensibilității la preparatele antituberculoase 56
2.4.3 Concentrații critice pentru testarea LJ TSM 57
2.4.4 Izolarea ADN-ului genomic 57
2.4.5 Secvențierea întregului genom și caracterizarea genotipică 58
2.5 Analiza rezultatelor obținute 58
2.5.1 Prelucrarea matematico-statistică a datelor colectate 58
2.6 Concluzii în baza capitolului 2 59
3 DINAMICA LOCAȚIEI PACIENȚILOR ȘI EVALUAREA FACTORILOR DETERMINANȚI CARE AR PUTEA INDUCE INSUCCESUL TRATAMENTULUI 60
3.1 Descrierea populației de studiu 60
3.2 Analiza descriptivă a pacienților spitalizați în cadrul spitalului 62
3.3 Studierea migrării pacienților spitalizați în interiorul instituției 63
3.4 Analiza descriptivă a cohortei pacienților spitalizați cu tuberculoză 67
3.5 Evaluarea factorilor determinanți care ar putea favoriza prezența mutațiilor genetice și influența succesul tratamentului 71
3.5.1 Evaluarea factorilor care ar putea fi asociați cu mutațiile genetice la medicamentele antituberculoase 75
3.5.2 Evaluarea factorilor determinanți care ar putea influența rezultatul tratamentului 84
3.6 Concluzii în baza capitolului 3 89

4 ANALIZA FILOGENETICĂ ȘI IDENTIFICAREA CLUSTERELOR DE TRANSMITERE 91
4.1 Prevalența genotipului de rezistență la medicamente 91
4.2 Deducerea evenimentelor de transmitere de la pacient la pacient 95
4.3 Analiza epidemiologică moleculară.....96
4.4 Secvențierea integrală a genomului micobacterian și analiza distanței genetice spațiale 96
4.5 Limitările studiului 105
4.6 Concluzii în baza capitolului 4 105
5 EVALUAREA CUNOȘTINȚELOR EPIDEMIOLOGICE ÎN DOMENIUL CONTROLULUI INFECȚIEI TB PRIN CHESTIONAREA PERSONALULUI MEDICAL CE ACTIVEAZĂ ÎN INSTITUȚIA MEDICALĂ.....107
5.1 Riscul de infectare cu *M. tuberculosis* în cadrul spitalelor.....107
5.2 Evaluarea gradului de risc.....108
5.3 Caracteristicile demografice și amplasarea personalului medical în secțiile spitalului 109
5.4 Evaluarea cunoștințelor practice în domeniul controlului infecției tuberculoase.....110
5.5 Concluzii în baza capitolului 5 119
CONCLUZII GENERALE.....120
RECOMANDĂRI 121
BIBLIOGRAFIE 122
ANEXE.....138
DECLARAŢIA PRIVIND ASUMAREA RĂSPUNDERII 149
CURRICULUM VITAE 150

ADNOTARE

Noroc Ecaterina. **„Evaluarea și prioritizarea factorilor de risc în transmiterea tuberculozei rezistente la pacienții spitalizați”**

Teză de doctor în științe medicale, Chișinău, 2024

Structura tezei: introducere, cinci capitole, concluzii generale și recomandări, bibliografia din 241 de titluri, 17 anexe, 122 pagini de text de bază, 37 de figuri și 15 de tabele. Rezultatele obţinute sunt publicate în 15 lucrări ştiinţifice.

Cuvinte-cheie: tuberculoza, multidrogrezistența, transmitere nosocomială, Ural, Beijing.

Scopul lucrării: evaluarea și prioritizarea factorilor de risc în transmiterea TB rezistente la pacienții spitalizați în Republica Moldova.

Domeniul de studiu: transmitere nosocomială, control al infecției TB.

Obiectivele cercetării: documentarea și evaluarea fenomenului de transmitere nosocomială a tuberculozei printre pacienții spitalizați pentru tratamentul specific în spitalul de profil; Identificarea mutațiilor genice care conferă rezistență la medicamentele anti-tuberculoase în tulpinile de *Mtbc* multidrogrezistente și evaluarea factorilor determinanți responsabili pentru insuccesul tratamentului; Analiza filogenetică și identificarea principalelor clustere responsabile de transmiterea nosocomială prin aplicarea metodelor de secvențiere integrală a genomului micobacterian și deducerea evenimentelor de transmitere directă bazată pe distanța genetică; Evaluarea cunoștințelor în domeniul controlului infecției în tuberculoză în rândul personalului medical care activează în spitalul de profil.

Noutatea şi originalitatea ştiinţifică. Noutatea cercetării derivă din complexitatea, unicitatea realizării studiului și a metodelor de secvențiere utilizate în identificarea potențialelor cazuri de tuberculoză nosocomială.

Rezultatele obținute. Secvențierea întregului genom (WGS) a fost efectuată din tulpinile TB RR/MDR pentru a identifica pacienții index presupuși ai pacienților spitalizați care au dezvoltat TB RR/MDR în timpul unei monitorizări de 2 ani. Supravegherea moleculară detaliată a pacienților a relevat o rată scăzută de transmitere nosocomială a tulpinilor TB RR/MDR în instituția spitalicească de nivel național. Nu au fost identificate mutații la nivel de gene responsabile de rezistența la 4 dintre medicamentele noi (Clofazimină, Linezolidă, Bedaquilină, Delamanid), ceea ce conferă încredere în aplicarea regimurilor noi de tratament. Insuccesul la tratament ar putea fi cauzat de prezența mutațiilor în genele responsabile pentru rezistența la unul din cele 2 medicamente anti-microbiene (Moxifloxacină și Levofloxacină).

Semnificaţia teoretică. Rezultatele studiului vor suplini cadrul normativ privind respectarea controlului infecției în sistemul spitalicesc și va contribui la respectarea tuturor normelor privind stoparea transmiterii nosocomiale a tuberculozei în sistemul spitalicesc.

Valoarea aplicativă. Cercetarea realizată va completa măsurile de control al infecției prin prisma măsurilor complexe orientate spre evitarea transmiterii nosocomiale a tuberculozei în instituțiile spitalicești. Materialele cercetării pot fi aplicate în cadrul instruirilor și creșterii capacității personalului medical.

Implementarea rezultatelor ştiinţifice. Rezultatele cercetării servesc bază privind reglementarea, păstrarea și fortificarea măsurilor de control al infecției în sectorul spitalicesc.

РЕЗЮМЕ

Норок Екатерина. «**Оценка и приоритезация факторов риска передачи лекарственно-устойчивого туберкулеза у госпитализированных больных**»

Диссертация доктора наук в области медицины, Кишинев, 2024 г.

Структура диссертации: введение, пять глав, общие выводы и рекомендации, библиография из 241 названий, 17 приложений, 122 страниц основного текста, 37 рисунков, 15 таблиц. Полученные результаты опубликованы в 15 научных статьях.

Ключевые слова: туберкулез, множественная лекарственная устойчивость, внутрибольничный путь передачи, URAL, Beijing.

Цель статьи: оценка и приоритет факторов риска в передачи резистентного туберкулеза у госпитализированных пациентов в Республике Молдова.

Область исследования: внутрибольничный путь передачи, контроль туберкулеза.

Задачи исследования: документирование и оценка явления внутрибольничной передачи туберкулеза среди больных, госпитализированных для специфического лечения в специализированный стационар; Идентификация генных мутаций, обуславливающих устойчивость к противотуберкулезным препаратам у штаммов *Mtbc* с множественной лекарственной устойчивостью, и оценка детерминант, ответственных за неэффективность лечения; Филогенетический анализ и идентификация основных кластеров, ответственных за внутрибольничную передачу, с применением методов интегрального секвенирования генома микобактерий и выводом событий прямой передачи на основе генетической дистанции; Оценка знаний в области инфекционного контроля при туберкулезе у медицинского персонала, работающего в специализированном стационаре.

Научная новизна и оригинальность исследования. Научная новизна исследования вытекает из сложности и уникальности исследования, а также методов секвенирования, используемых для выявления потенциальных случаев нозокомиального туберкулеза.

Результаты. Полногеномное секвенирование (WGS) было выполнено из штаммов ТБ с УР/МЛУ для выявления пациентов с предполагаемым индексом госпитализированных пациентов, у которых развился ТБ с УР/МЛУ в течение 2 лет наблюдения. Детальное молекулярно-генетическое исследование выявило низкий уровень нозокомиальной передачи штаммов ТБ с УР/МЛ в условиях национальной больницы. Не выявлено мутаций на уровне генов, ответственных за устойчивость к 4 новым препаратам (клофаземин, линезолид, бедаквилин, деламанид), что дает уверенность в применении новых схем лечения. Неэффективность лечения могла быть обусловлена наличием мутаций в генах, ответственных за резистентность к 2 противомикробным препаратам (моксифлоксацин и левофлоксацин).

Теоретическая значимость. Результаты исследования дополнят нормативную базу по соблюдению инфекционного контроля в стационарной системе и будут способствовать соблюдению всех норм по остановке внутрибольничной передаче туберкулеза в стационарных лечебных учреждениях.

Практическое значимость. Проведенное исследование дополняет мероприятия по инфекционному контролю, направленных на недопущение нозокомиального пути передачи туберкулеза в стационарных лечебных учреждениях. Материалы исследования могут быть применены при обучении и повышении квалификации медицинских работников.

Внедрение научных результатов. Результаты исследований служат основой для регулирования, поддержания и усиления мер инфекционного контроля в больничном секторе.

ANNOTATION

Noroc Ecaterin "**Evaluation and prioritization of risk factors in transmission of drug-resistant strains to in-patients TB care**"

Thesis of doctor in medicine, Chisinau, 2024

Structure of the thesis: introduction, five chapters, general conclusions and recommendations, bibliography of 241 titles, 17 appendices, 122 pages of basic text, 37 figures, 15 tables. The obtained results are published in 15 scientific papers.

Key words: tuberculosis, multidrug resistance, nosocomial transmission, Ural, Beijing.

Aim of study: evaluation and prioritization of risk factors in the transmission of resistant TB to hospitalized patients in the Republic of Moldova.

Field of study: nosocomial transmission, TB infection control.

Study objectives: documentation and evaluation of the phenomenon of nosocomial transmission of tuberculosis among patients hospitalized for specific treatment in the specialized hospital; Identification of gene mutations conferring resistance to anti-tuberculosis drugs in multidrug-resistant *Mtbc* strains and evaluation of the determinants responsible for treatment failure; Phylogenetic analysis and identification of the main clusters responsible for nosocomial transmission by applying the methods of integral sequencing of the mycobacterial genome and inferring direct transmission events based on genetic distance; Evaluation of knowledge in the field of infectious control in tuberculosis among the medical staff working in the specialized hospital.

The scientific novelty and originality. The scientific novelty it emerges from the complexity and uniqueness of the study, but also of the sequencing methods used to identify potential cases of nosocomial tuberculosis.

Results. Whole genome sequencing (WGS) was performed from RR/MDR TB strains to identify putative index patients of hospitalized patients who developed RR/MDR TB during a 2-year follow-up. Detailed molecular surveillance of patients revealed a low rate of nosocomial transmission of RR/MDR TB strains in the national hospital setting. No mutations were identified at the level of genes responsible for resistance to 4 of the new drugs (Clofazimine, Linezolid, Bedaquiline, Delamanid), which gives confidence in the application of new treatment regimens. Treatment failure could be caused by the presence of mutations in the genes responsible for resistance to 2 antimicrobial drugs (Moxifloxacin and Levofloxacin).

The theoretical significance. The results of the study will supplement the normative framework regarding compliance with infection control in the hospital system and will contribute to compliance with all norms regarding stopping the nosocomial transmission of tuberculosis in the hospital system.

The applicative value. The research carried out will complement infection control measures through the prism of complex measures aimed at avoiding nosocomial transmission of tuberculosis in hospital institutions. The research materials can be applied in training and training of medical personnel.

Implementation of scientific results. Research results serve as a basis for regulating, maintaining and strengthening infection control measures in the hospital sector.

LISTA TABELELOR

Tabelul 3.1. Caracteristicile cohortei inițiale de studiu, pe secții spitalicești.....62
Tabelul 3.2. Compararea cohortelor în baza parametrilor demografici și clinici.....67
Tabelul 3.3. Cohorta pacienților cu tuberculoză, după tipul de caz și localizarea procesului de tuberculoză, conform repartizării în secțiile spitalicești.....69
Tabelul 3.4. Cohorta pacienților cu tuberculoză, în funcție de confirmarea bacteriologică, conform repartizării în secțiile spitalicești.....70
Tabelul 3.5. Caracteristicile demografice și clinice ale pacienților cu TB-MDR confirmată prin cultură a căror tulpini TB-MDR au fost supuse secvențierii.....72
Tabelul 3.6. Gene și mutații care conferă rezistență la medicamente antimicrobiene în tulpinile de TB MDR, supuse secvențierii, n (%).....74
Tabelul 3.7. Factori asociați mutației *fabG1 -15c>t&katG S315T* la INH.....76
Tabelul 3.8. Factori asociați mutației *katG S315T* la INH.....77
Tabelul 3.9. Factori asociați mutației *rpoB S450L* la Rifampicină.....78
Tabelul 3.10. Factori determinanți care ar putea determina insuccesul** la tratamentul antituberculos a pacienților cu TB-MDR (n=268).....85
Tabelul 3.11. Factori determinanți care ar putea determina insuccesul (deces sau eșec) la tratamentul antituberculos a pacienților cu TB-MDR (n=268).....86
Tabelul 3.12. Factori asociați rezultatului nefavorabil la tratamentul antituberculos printre persoanele care au prezentat tulpini *Mtbc* cu mutații responsabile de rezistența la PZA.....87
Tabelul 3.13. Factori asociați rezultatului nefavorabil la tratamentul antituberculos printre persoanele care au prezentat tulpini *Mtbc* cu mutații responsabile de rezistența la MFX.....88
Tabelul 3.14. Factori asociați rezultatului nefavorabil la tratamentul antituberculos printre persoanele care au prezentat tulpini *Mtbc* cu mutații responsabile de rezistența la LFX.....89

Tabelul 4.1. Caracteristicile pacienților cu MDR/RR-TB internați inadecvat.....104

LISTA FIGURILOR

Fig. 1.1. Incidența prin cazuri noi și recidive în 18 țări ale Regiunii Europene OMS cu prioritate înaltă pentru tuberculoză 28
Fig. 1.2. Numărul de cazuri estimate și notificate cu tuberculoză RR/MDR și rata de detecție a RR/MDR-TB (cazuri noi și recidive toate localizările); Republica Moldova 2014-2021 29
Fig. 1.3. Numărul de cazuri estimate și notificate cu tuberculoză pulmonară RR/MDR și rata de detecție a tuberculozei RR/MDR-TB cu localizare pulmonară (cazuri noi și recidive); Republica Moldova 2017-2021 30
Fig. 1.4. Ponderea cazurilor cu tuberculoză RR/MDR printre cazurile noi și re-tratamente, 2014-2021, Republica Moldova.....30
Fig. 1.5. Rezultatele tratamentului tuberculozei sensibile și rezistente, Republica Moldova, cohorte 2012-2021 31

Fig. 3.1. Diagrama de studiu 61
Fig. 3.2. Numărul și ponderea pacienților internați în IFP, în perioada de înrolare în studiu, în conformitate cu secțiile spitalicești.....62
Fig. 3.3. Durata mediană de spitalizare a pacienților internați în IFP (număr zile), în perioada de studiu, repartizată după secții și numărul de internări 63
Fig. 3.4. Numărul și ponderea internărilor, în perioada de studiu, după tipul de secție.....64
Fig. 3.5. Migrarea pacienților dintr-o secție în alta (75 de transferuri din 2627 de internări).....64
Fig. 3.6. Numărul de transferuri în secții, după profilul de rezistență al pacientului transferat (75 de pacienți transferați din 2627 de internări).....66
Fig. 3.7. Durata mediană de spitalizare (număr zile) a pacienților transferați (n= 75) după tipul de rezistență al complexului *M. tuberculosis*. 66
Fig. 3.8. Numărul și ponderea pacienților cu rezultat pozitiv în culturi, conform tipului de rezistență.....70
Fig. 3.9. Distribuirea pacienților cu TB non-MDR și TB-MDR confirmată prin cultură conform profilului secției (abs.,%).....71
Fig. 3.10. Numărul și ponderea mutațiilor genetice care conferă rezistență la medicamentele anti-microbiene în tulpinile de TB MDR, supuse secvențierii 73
Fig. 3.11. Rezultatele tratamentului, cohorta TB-MDR a căror tulpini *Mtbc* au fost supuse secvențierii.....84

Fig. 4.1. Distribuția genotipurilor în cohorta TB RR/MDR 95
Fig. 4.2. Filogenia de probabilitate maximă a 268 de izolate TB RR/MDR 97
Fig. 4.3. Distribuirea geografică a genotipurilor rezistente 98
Fig. 4.4. Rețeaua filogenetică reprezentând relația genomică a tuturor izolatelor de la pacienți pe baza unei analize de tip secvență multilocus genomului de bază (cgMLST).....99
Fig. 4.5. Analiza grupului molecular bazat pe distanța genetică 100
Fig. 4.6. Distribuirea genotipurilor pacienților focus în cohorta non-MDR și cohorta MDR.....101
Fig. 4.7. Numărul de surse potențiale 102
Fig. 4.8. Suprapunerea timpului de spitalizare (zile) la pacienții focus referind la potențiale lor surse de infectare 103
Fig. 4.9. Evenimente probabile de transmitere nosocomială.....103

Fig. 5.1. Repartizarea personalului medical după stagiul de muncă 109
Fig. 5.2. Repartizarea personalului medical după tipul secției în care activează 110
Fig. 5.3. Instruirea personalului medical în domeniul prevenirii și controlului infecțiilor în contextul TB 111
Fig. 5.4. Repartizarea personalului medical în dependență de respectarea politicilor, regulilor și liniilor directoare de control al infecției în domeniul TB 112
Fig. 5.5. Factorii care contribuie la răspândirea infecției tuberculoase în spital 114
Fig. 5.6. Cele mai eficiente metode în controlul infecției tuberculozei.....115
Fig. 5.7. Percepția personalului medical cu referire la expunerea riscului de a achiziționa TB în instituția în care activează (IFP) 116
Fig. 5.8. Percepția personalului medical cu referire la expunerea riscului de a achiziționa TB în cadrul IFP în dezagregare după tipul secției și stagiul de muncă 116
Fig. 5.9. Percepția personalului medical cu referire la expunerea riscului de a achiziționa TB în cadrul instituțiilor spitalicești (de ordin general).....117
Fig. 5.10. Percepția personalului medical cu referire la expunerea riscului de a achiziționa TB în cadrul spitalelor de profil general în dezagregare după tipul secției și stagiul de muncă 117
Fig. 5.11. Percepția personalului medical privind expunerea riscului de a achiziționa TB în comunitate 118
Fig. 5.12. Percepția personalului medical cu referire la expunerea riscului de a achiziționa TB în cadrul spitalelor de profil general în dezagregare după tipul secției și stagiul de muncă 118

LISTA ABREVIERILOR

ADN	Acidul dezoxiribonucleic
AMK	Amicacină
ARV	Antiretroviral (tratament)
ATI	Anesteziologie și Terapie Intensivă
BAAR	Bacili acido-alcool rezistenți
BCG	Bacilul Calmette–Guérin
BDQ	Bedaquilină
BPaL	Bedaquilină, pretomanid și linezolid (regim de tratament)
BPaLM	Bedaquilină, pretomanid, linezolid și moxifloxacin (regim de tratament)
CAP	Capreomicină
CFZ	Clofazimină
CI	Controlul infecției
CS	Cicloserină
CTAB	Bromura de cetrimoniu
DLM	Delamanid
DOT	Tratament direct observat
DOTS	Curs scurt de terapie observată direct
DS	Deviația standard
EMB	Etambutol
ETH	Etionamidă
FFP2/FFP3	Respirator cu piesa faciala filtranta de clasa FFP2 sau FFP3
FP	Ftiziopneumologie
GU	Unități de creștere (grow unit)
IFP	Instituția Medico-Sanitară Publică, Institutul de Ftiziopneumologie "Chiril Draganiuc"
IÎ	Intervalul de încredere
INH	Isoniazidum
IQR	Intervalul inter quartile
K	Kaliu (potasiu)
KAN	Kanamicină
LFX	Levofloxacină
LJ	Lowenstein-Jenses
LSR	Laboratorul Supranațional de Referință
LZD	Linezolid
MFX	Moxifloxacină
MPT64	Proteină secretată de tulpinile MTB în creștere activă
Mtbc	*Micobacterium tuberculosis complex*
Na	Natriu (Sodiu)
NaCl	Clorura de natriu (sodiu)
NGS	Secvențierea de generație următoare
OFX	Ofloxacină
OMS	Organizația Mondială a Sănătății
OR	*Odds ratio* // Raportul șanselor
PAS	Acid para - aminosalicilic
PTO	Protionamidă
PZA	Pirazinamidă
RIF	Rifampicinum
RR	Rezistență la rifampicină
SNP	Polimorfism cu o singură nucleotidă
STM	Streptomicină
TB	Tuberculoza
TB RR/MDR	Tuberculoza multidrogrezistentă sau rezistentă față de rifampicină
TE	Tris cu EDTA tampon
TSM	Testarea sensibilității la medicamente (antituberculoase)
UV	Ultraviolete
WGS	Secvențierea întregului genom

Lista de definiții utilizate în teză

Denumire	Definiția
Confirmare bacteriologică	caz de tuberculoză cu cel puțin un rezultat pozitiv la examinările de laborator (GeneXpert, microscopie, cultură etc.).
Migrant	persoana care s-a aflat peste hotarele țării cel puțin 3 luni în ultimele 12 luni înainte de diagnosticul TB.
Notificarea cazului de TB	
Caz nou	pacientul care nu a administrat niciodată tratament cu medicamente antituberculoase în asociere pe o perioadă mai mare de o lună de zile.
Caz cu re-tratament	include cazurile de TB care au avut cel puțin un tratament anterior pentru TB.
- recidivă	pacientul care a fost evaluat vindecat sau tratament încheiat în urma unui tratament antituberculos și care are un nou episod de TB.
- după eșec	pacientul care începe un re-tratament după ce a fost evaluat **eșec** al unui tratament anterior.
- după ce a fost pierdut din supraveghere	pacientul care începe un re-tratament după ce a fost evaluat **pierdut din supravegherea medicală** la un tratament anterior și la care se decide reluarea tratamentului.
- alt tip de re-tratament	pacientul care începe un re-tratament, dar care nu se încadrează în categoriile de re-tratament expuse mai sus.
Rezultate de tratament	
Vindecat	Pacient cu TB pulmonară confirmată bacteriologic la inițierea tratamentului, care a urmat o cură completă de tratament conform recomandărilor PCN în domeniul TB, cu dovezi de răspuns bacteriologic și fără dovezi de eșec.
Tratament încheiat	Pacientul care a urmat o cură completă de tratament conform recomandărilor PCN în domeniul TB, dar care nu are criteriile pentru a fi evaluat ca vindecat sau eșec.
Eșec	Pacient al cărui regim de tratament ar trebuit să fie întrerupt sau modificat cu un nou regim de tratament. Motivele pentru modificarea regimului includ: lipsa răspunsului clinic sau bacteriologic, sau ambele; reacție adversă la medicament; dovada unei rezistențe suplimentare la medicamentele incluse în regim.
Pierdut din supraveghere	Pacientul care nu a inițiat tratamentul pentru TB sau care l-a întrerupt pentru 2 luni consecutive sau mai mult.
Deces	Pacientul care a decedat (din orice motiv) înainte de începerea tratamentului sau în timpul tratamentului pentru TB. Se disting două categorii: deces din cauza progresării TB și deces din altă cauză.
Ne-evaluat	Pacient pentru care nu a fost atribuit nici unul dintre rezultatele de tratament stipulate mai sus. Include cazurile „transferate” către o altă unitate de tratament a căror rezultat al tratamentului este necunoscut; exclude cazurile pierdute din supraveghere.
Succes	Cuprinde pacienții cu rezultat de vindecare și tratament încheiat.
Insucces	Înglobează pacienții cu rezultatele de tratament: eșec, pierdut din supraveghere, ne-evaluat, deces.

INTRODUCERE

Actualitatea și importanța temei. Tuberculoza (TB) se numără printre principalele cauze de morbiditate și mortalitate la nivel mondial și este asociată cu o povară socială și de sănătate publică importantă [1].

Unul dintre scopurile de bază ale Obiectivelor de Dezvoltare Durabilă pentru perioada 2015-2030 este de a pune capăt epidemiei de TB la nivel mondial [2]. În conformitate cu acest obiectiv, Strategia OMS de eradicare a TB (END TB), aprobată de către Adunarea Mondială a Sănătății în 2014, ține o reducere cu 90% a deceselor cauzate de TB și o scădere cu 80% a ratei de incidență a TB până în anul 2030 [3].

TB multidrogrezistentă (MDR) sau cu rezistentă la rifampicină (RR) este un semn distinctiv al epidemiei de TB în țările post-sovietice [4]. Peste 50% din toate cazurile de TB înregistrate în regiunea europeană (Regiune) a Organizației Mondiale a Sănătății (OMS) revine Rusiei și Belarusiei [5]. Potrivit ultimelor date ale OMS, succesul tratamentului pentru pacienții cu TB RR/MDR este unul ineficient, 60% dintre pacienți fiind vindecați față de ținta stabilită de 85% [1].

Republica Moldova este una dintre cele 18 țări ale regiunii europene a OMS în cadrul căreia controlul TB este prioritar și una dintre cele 30 de țări ale lumii cu cea mai mare povară a TB RR/MDR [6].

Potrivit datelor OMS, Republica Moldova a diagnosticat și a notificat în 2014 – 814 cazuri cu TB RR/MDR (sau 54,2% din numărul estimat) și 508 cazuri cu TB RR/MDR (sau 50,8% din numărul estimat) în anul 2021, date care concluzionează că rata de detecție privind cazurile cu TB RR/MDR rămâne încă neatinsă de țară, ținta OMS fiind de 85% [7]. Pe parcursul anilor 2014-2021, ponderea cazurilor cu TB RR/MDR a variat între 24,4% (2018) și 32,9% (2019) printre cazurile noi. Ratele de succes la tratamentul TB printre cazurile cu TB sensibilă și printre cazurile cu TB RR/MDR pe parcursul anilor 2014-2021 nu au atins țintele de 85% și 75%, respectiv, stabilite de către OMS [7]. Cauzele de bază ale insuccesului la tratament sunt atribuite în mare parte decesului, eșecului la tratamentul specific și pierduților din supravegherea medicală.

Republica Moldova a reacționat prin răspuns prompt la povara TB. Din anul 2001 în țară derulează Programe naționale de control al TB o dată la 5 ani, aprobate prin hotărâri de Guvern și care au drept scop reducerea poverii TB ca problemă de sănătate publică în țară. Republica Moldova a implementat cu succes o serie de politici și măsuri care vizează prevenirea și îngrijirea TB, inclusiv implicarea constantă a asistenței medicale primare în depistarea timpurie și tratamentul direct observat. În Republica Moldova este asigurat accesul universal la diagnosticul și tratamentul TB de calitate pentru toate persoanele, cu o acoperire geografică completă. Au fost

dezvoltate politici de suport pentru aderență la tratamentul TB. Republica Moldova este prima țară din Regiune care a asigurat disponibilitatea metodei rapide de diagnostic GeneXpert la nivelul întregii rețele de laboratoare care efectuează microscopia (57 de laboratoare). A fost modernizat diagnosticul de laborator prin implementarea mai multor metode rapide de diagnosticare (Bactec MGIT 960, Line Probe Assay, Pyrosequencing, etc.). În dezvoltarea politicilor de control al TB, țara a urmat recomandările OMS și a altor organizații din domeniu. În pofida intervențiilor aplicate, inclusiv în depistarea timpurie a TB, aplicarea metodelor noi și rapide de diagnostic pentru TB, asigurarea accesului universal și gratuit la tratament etc., Republica Moldova nu atinge țintele stabilite de către OMS [7], atât la capitolul depistare, cât și la rezultatele de tratament, continuând să se confrunte cu o povara înaltă de TB, inclusiv cu forme rezistente.

Datele literaturii subliniază asupra faptului, că principalul factor care determină epidemia TB RR/MDR este transmiterea activă a bacteriilor *Mycobacterium tuberculosis complex (Mtbc)* rezistente la medicamente în comunități [8]. Transmiterea nosocomială a TB prezintă, de asemenea, o provocare majoră pentru un control eficient al TB, iar prezența acestui fenomen ar putea duce la un risc mai mare de infectare cu TB rezistentă a pacienților spitalizați, a persoanelor care îi vizitează, dar și a personalului medical. Mai multe studii au încercat să evalueze care este rolul transmiterii nosocomiale a *Mtbc* rezistente la medicamente în timpul spitalizărilor prelungite, dar până în prezent acesta rămâne încă neelucidat [9,10]. Studiul operațional „Studierea fenomenului de transmitere nosocomială a tuberculozei multidrogrezistente prin analiza genotipică a diversităţii ADN (acid dezoxiribonucleic) a tulpinilor *Mycobacterium tuberculosis*" desfășurat în Republica Moldova în anul 2012, a constatat existența fenomenului de re-infecţie în 68% cazuri. Prin urmare, izolarea pacienților cu TB prin internarea și tratarea acestora în spitale, ar putea induce majorarea numărului de cazuri cu TB rezistentă, iar acestea, la rândul lor vor necesita costuri mult mai înalte pentru îngrijire și tratament. Ca urmare a aplicării metodelor standardizate de genotipare moleculară pe un eșantion retrospectiv de izolate *Mtbc*, s-a constatat că peste 5% dintre pacienții cu TB sensibilă la momentul diagnosticului, au dezvoltat TB RR/MDR în perioada spitalizării în staționarele de ftiziopneumologie din Republica Moldova, ceea ce indică o presupusă transmitere nosocomială [10].

În Republica Moldova, transmiterea nosocomială a TB devine o preocupare majoră, deoarece spitalele și unitățile de asistență medicală pot fi surse de infecție pentru populațiile cu risc de a dezvolta TB. Literatura de specialitate punctează asupra diferitor metode utilizate pentru a elucida fenomenul de transmitere nosocomială, iar secvențierea întregului genom s-a dovedit a fi un instrument valoros pentru identificarea sursei focarelor de TB și urmărirea transmiterii tulpinilor de *Mtbc*, care este crucială pentru punerea în aplicare a unor măsuri eficiente de control.

Secvențierea întregului genom (WGS) a izolatelor clinice de *Mtbc* a fost utilizată pentru a identifica evenimentele de transmitere pe baza distanței genetice scăzute dintre tulpinile transmise [11]. Dinamica transmiterii între pacienți și persoanele de contact poate fi astfel discernată din evenimentele de reinfectare cu o tulpină de TB RR/MDR diferită [12].

Întreruperea ciclului de transmitere a *Mtbc* este crucială pentru un control eficient al TB, ceea ce impune implementarea intervențiilor menite să reducă la minimum riscul de transmitere a TB prin diagnosticarea rapidă și timpurie, gestionarea adecvată a pacienților cu TB și implementarea practicilor de control al infecției TB [13,14,15].

Datele care reflectă situația epidemiologică prin TB în țară, precum și alte studii realizate la subiectul transmiterii intra-spitalicești a TB RR/MDR, inclusiv datele literaturii de profil sugerează faptul că transmiterea nosocomială în staționarele de ftiziopneumologie devine o problemă stringentă în controlul TB. Cercetarea anterioară care a identificat transmiterea nosocomială a tulpinilor RR/MDR de *Mtbc* în 5,1%, a constatat acest fapt prin aplicarea metodelor care au determinat unități repetitive intercalate cu 24 de locusuri micobacteriene-număr variabil de repetări în tandem (MIRU-VNTR) și spoligotipare [10]. Rezultatele existente devin insuficiente, în contextul existenței metodelor și tehnologiilor noi, care permit determinarea transmiterii nosocomiale, ceea ce impune necesitatea efectuării unei cercetări de studiere a fenomenului de transmitere nosocomială a TB RR/MDR în Republica Moldova într-un aspect aprofundat, prin aplicarea noilor metode și tehnologii contemporane de secvențiere a întregului genom micobacterian.

Scopul lucrării: evaluarea și prioritizarea factorilor de risc în transmiterea TB rezistente la pacienții spitalizați în Republica Moldova.

Obiectivele lucrării:

1. Documentarea și evaluarea fenomenului de transmitere nosocomială a tuberculozei printre pacienții spitalizați pentru tratamentul specific în spitalul de profil;
2. Identificarea mutațiilor genice care conferă rezistență la medicamentele anti-tuberculoase în tulpinile de *Mtbc* multidrogrezistente și evaluarea factorilor determinanți, responsabili pentru insuccesul tratamentului;
3. Analiza filogenetică și identificarea principalelor clustere responsabile de transmiterea nosocomială, prin aplicarea metodelor de secvențiere integrală a genomului micobacterian și deducerea evenimentele de transmitere directă bazată pe distanța genetică;
4. Evaluarea cunoștințelor în rândul personalului medical care activează în spitalul de profil în domeniul controlului infecției în tuberculoză.

Ipoteza cercetării:

1. Urmărirea prospectivă a locației pacientului internat în staționarul de ftiziopneumologie privind elucidarea evenimentelor de transmitere nosocomială a TB RR/MDR;
2. Aplicarea metodelor contemporane bazate pe tehnologia de secvențiere a întregului genom micobacterian ce permite depistarea transmiterii nosocomiale a TB RR/MDR;
3. Implementarea măsurilor de control al infecției în cadrul staționarelor de ftiziopneumologie pentru reducerea substanțială a fenomenului de transmitere nosocomială a TB, în special, a TB RR/MDR.

Sinteza metodologiei de cercetare și justificarea metodelor de cercetare alese. Metodologia prezentei lucrări a fost formulată și definitivată urmând metodele expuse în lucrările științifice din domeniu, bazată pe materialele metodico-didactice tematice din domeniul cercetat, documente de politici și materiale informative de nivel național și internațional.

Problema ştiinţifică soluţionată în domeniul respectiv. Cercetarea prospectivă detaliată a tuturor pacienților spitalizați în cadrul spitalului de profil a demonstrat o rată de transmitere nosocomială a TB RR/MDR redusă în perioada de cercetare.

1. Cohorta cu TB RR/MDR existentă este concentrată în 2 linii de descendențe de TB (Beijing și Ural).
2. Analizele filogeografice au evidențiat modele distincte geografic de transmitere pentru tulpinile Beijing MDR, dar mai restrânse pentru tulpinile Ural MDR.
3. Fiecare grup presupus de transmitere a TB RR/MDR a avut o rezistență distinctă la medicamente antituberculoase de linia a doua.

Importanţa teoretică a cercetării. Transmiterea TB RR/MDR reprezintă o provocare majoră pentru controlul TB în mai multe țări, inclusiv pentru Republica Moldova, dar o înțelegere detaliată a dinamicii locale privind transmiterea tuberculozei și a TB RR/MDR este evazivă. Progresele și posibilitățile tot mai largi în domeniul secvențierii întregului genom micobacterian și dezvoltarea de noi abordări statistice pentru combinarea datelor în timp și spațiu, epidemiologice și genomice pentru aprecierea fenomenului de transmitere nosocomială cu o rezoluție înaltă, oferă noi oportunități în acest domeniu.

Valoarea aplicativă a lucrării. Este o cercetare în premieră care a secvențiat toate izolatele de *Mtbc* dintr-un spital în care toți pacienți au fost monitorizați zilnic, urmărind locația lor în cadrul secțiilor și a saloanelor, cât și transferul lor în alte secții și oferă informații unice asupra complexității transmiterii TB RR/MDR în Republica Moldova.

Etapele cercetării au inclus: studierea literaturii de profil, determinarea locației desfășurării studiului (IFP), determinarea eșantioanelor de cercetare (pacienți spitalizați și personal medical),

etapizarea proceselor referitoare la dinamica locației pacientului, monitorizarea clinică și microbiologică a pacientului timp de 2 ani, gruparea pacienților în funcție de rezultatele microbiologice, aplicarea metodelor microbiologice specifice etapelor de studiu (selectarea tulpinilor, re-creșterea tulpinilor, izolarea ADN-ului, secvențierea) și chestionarea personalului medical. În studiu au fost incluși 2740 de pacienți spitalizați în cadrul IFP în perioada 01 iulie 2014-30 iunie 2015; 56 personal medical care activează în cadrul secțiilor clinice ale IFP. Metode aplicate: istorică, colectare de date, statistică, epidemiologică, microbiologică și analitică. Prelucrarea statistică a materialului acumulat a fost efectuată utilizând programul de analiză statistică SPSS.

Rezultatele cercetării au fost implementate în cadrul IMSP Institutul de Ftiziopneumologie "Chiril Draganiuc", Laboratorul Național de Referință în microbiologia tuberculozei, începând cu anul 2015, documentat prin Actul de implementare a inovației nr. 41 din 05 mai 2023.

Aprobarea rezultatelor ştiinţifice. Rezultatele cercetării științifice au fost prezentate și apreciate la multiple conferințe și congrese naționale și internaționale în domeniul tuberculozei:

1. Conferință științifică națională cu participare internațională „Noi abordări în controlul bolilor respiratorii. Integrarea serviciilor", 20 – 21 Decembrie 2023. Chișinău, Republica Moldova.
2. Conferința științifico-practică consacrată Zilei Mondiale de combatere a tuberculozei cu genericul „DA! Putem învinge tuberculoza" 24 martie 2023. Chișinău, Republica Moldova;
3. Conferința Mondială a Uniunii UNION privind sănătatea pulmonară, Eveniment virtual, 2022;
4. Societatea Europeană de Micobacteriologie. Valencia, Spania, 2019;
5. Cea de-a 48-a Conferință Mondială a Uniunii privind sănătatea pulmonară. Guadalajara, Mexico, 2017;
6. A III-a Conferință Națională a secțiunii de tuberculoză. Timișoara, România 2016;
7. Cea de-a 47-a Conferință Mondială a Uniunii privind sănătatea pulmonară. Liverpool, Marea Britanie, 2016;
8. Congresul Societății Europene de Respirologie. Munich, Germania, 2014.

Lucrare a fost prezentată, discutată şi aprobată la şedinţa Disciplinei de Microbiologie și Imunologie, Departamentul Medicină Preventivă, USMF „Nicolae Testemiţanu" din 16.06.2023, prin Procesul Verbal nr. 12 şi la şedinţa Seminarului Ştiinţific de profil 313. Imunologie, microbiologie, virusologie, specialitățile 321.09. Boli infecțioase, tropicale și parazitologie medicală, 313.02. Microbiologie, virusologie medicală din 04.07.2023, prin Procesul Verbal nr. 5.

Publicaţii la tema tezei. Au fost publicate 15 lucrări științifice, inclusiv 6 articole în revistele din bazele de date Web of Science și SCOPUS, 2 articole în reviste din Registrul Național al revistelor de profil, categoria B, 7 teze în lucrările conferinţelor științifice internaţionale (peste hotare). Rezultatele studiului au fost raportate în cadrul a 3 participări cu comunicare națională și internațională. Ca rezultate ale studiului au fost conferite un certificate de inovație și un act de implementare.

Volumul și structura tezei. Teza este scrisă în limba română cu titlu de manuscris. Este expusă pe 122 pagini text de bază, tehnoredactate la calculator şi conţine: introducere, adnotarea în limbile română, rusă și engleză, lista tabelelor, lista figurilor, lista abrevierilor, 5 capitole cu rezultate proprii şi discutarea lor, concluzii și recomandări practice, bibliografie din 241 de titluri de referință, 17 anexe, declarația pe propria răspundere și CV-ul autorului. Materialul iconografic conţine 15 tabele și 37 figuri.

În **„Introducere”** sunt redate: actualitatea și importanța lucrării, care argumentează actualitatea și importanța prezentei cercetări. Sunt formulate scopul și obiectivele studiului, este elucidată noutatea și originalitatea științifică a lucrării, importanța teoretică şi valoarea aplicativă a rezultatelor obţinute.

Sinteza literaturii de specialitate la problema studiată este prezentată în **capitolul 1** „*Epidemiologia tuberculozei rezistente și politicile de sănătate publică elaborate în stoparea transmiterii acestei infecții*”, fiind evidențiate cunoștințele actuale din domeniul de cercetare. În descrierea capitolului sunt prezentate analizele critice ale cercetării anterioare și evidențiate lacunele și oportunitățile pentru cercetarea ulterioară. De asemenea, capitolul conține o sinteză riguroasă și coerentă a informațiilor, inclusiv cărți, articole de reviste, studii de cercetare, documente de politici și alte surse relevante, care sunt actuale și iau în considerare cele mai recente inovații și cercetări în domeniul TB și, în particular, în domeniul transmiterii nosocomiale, toate fiind prezentate într-un mod organizat, laconic și logic.

În **Capitolul 2** „*Material şi metode de cercetare*” sunt descrise metodele de cercetare aplicate, prin prezentarea tipologiei metodelor și etapelor de realizare a cercetării științifice. Prezenta lucrarea este una comprehensivă, structurată pe etape și desfășurată după modelul liniar; bazată pe analiza documentelor relevante domeniului și cercetării operaționale, precum studiul observațional prospectiv în rândul pacienților și studiul descriptiv în rândul personalului medical. Metodologia cercetării ne-a permis să utilizăm datele necesare cu scop de a evalua și prioritiza factorii de risc în transmiterea TB rezistente la pacienții spitalizați în Republica Moldova. Au fost aplicate metode complexe în cadrul cercetării, inclusiv prin acumularea materialului clinic și de observare statistică, dar și aplicarea metodelor de diagnostic de laborator de ultimă generație

(testare fenotipică și genotipică). Eșantioanele incluse în studiu (pacienți și personalul medical) sunt reprezentative din punct de vedere statistic. Interpretarea datelor s-a efectuat în baza semnificației statistice ($p<0,05$) la intervalul de confidență de 95%.

În **capitolul 3** "*Dinamica locației pacienților și evaluarea factorilor determinanți care ar putea induce la insuccesul tratamentului*", sunt descrise populația de studiu și dinamica locației pacientului în interiorul spațiilor spitalicești (salon, secție, spital). Transferurile între secții au fost observate în 3% cazuri, în cele mai frecvente cazuri, acestea fiind condiționate de indicații clinice. Sunt expuse analize referitoare la durata de spitalizare în conformitate cu locația pacientului (cea mai lungă durată medie de spitalizare a fost în secția MDR - 129 zile, iar cea mai scurtă în secția non-TB de 9 zile). Capitolul conține caracteristicile generale ale sub-eșantioanelor rezultate în urma monitorizării microbiologice a pacienților incluși în studiu, inclusiv analiza comparativă cu cohorta pacienților TB, notificați la nivel național (2014) și care prezintă o similaritate statistică după parametrii de bază, precum sexul, grupul de vârstă și statutul de migrant. Capitolul înglobează analize referitoare la determinarea mutațiilor genetice care conferă rezistență la preparatele antimicobacteriene în tulpinile de TB RR/MDR supuse secvențierii și elucidează factorii determinanți care ar putea fi responsabili de insuccesul tratamentului. Prezența mutațiilor genetice responsabile de rezistența la medicamentele utilizate pentru tratamentul TB a fost determinată la 13 dintre 17 medicamente antimicrobiene supuse analizei și care variază de la 100% (INH și RIF, medicamente de linia I) până la 6,0% (CS, medicament de linia II). Nu au fost identificate mutații la nivel de gene responsabile de rezistența la CFZ, LZD, BDQ și DLM. Rezultatele tratamentului antituberculos în cohorta TB RR/MDR au înregistrat un succes la tratament de 48,1%. Analiza bivariată a determinat că tulpinile de *Mtbc* care au prezentat mutații în genele responsabile pentru rezistența la MFX și LFX au șanse mai mari de a avea insucces la regimurile aplicate pentru tratamentul TB RR/MDR.

În **capitolul 4** „*Analiza filogenetică și identificarea clusterelor de transmitere*" este caracterizat modul în care s-au monitorizat prospectiv pacienții spitalizați pentru a detecta evenimentele de transmitere a tulpinilor TB RR/MDR în cadrul IFP. Se descrie analiza detaliată a suprapunerii fiecărui pacient dintr-un anumit salon, secție sau în spital pentru fiecare zi a anului.

Capitolul reliefează rezultatele în urma aplicării metodelor de secvențiere a întregului genom micobacterian pe toate tulpinile TB RR/MDR (de la pacienții cu indice presupus și de la pacienții cu TB sensibilă la medicamente care au dezvoltat ulterior TB RR/MDR în timpul monitorizării). Sunt elucidate date privind identificarea evenimentelor de transmitere probabilă (2 cazuri). Informația expusă în acest capitol rezumă o rată scăzută de transmitere nosocomială a tulpinilor TB RR/MDR în cadrul IFP și conduce asupra unor constatări limitate datorită clonalității ridicate

a tulpinilor de *Mtbc* la pacienții cu TB RR/MDR, în special, în lineage 2 - Ural. Se reliefează faptul că transmiterea nosocomială a TB RR/MDR în Republica Moldova este mult mai scăzută comparativ cu transmiterea extraspitalicească.

Capitolul 5 „*Evaluarea cunoștințelor epidemiologice în domeniul controlului infecției TB prin chestionarea personalului medical ce activează în instituția spitalicească*" a avut drept obiectiv de a evalua cunoștințele și practicile lucrătorilor medicali care activează în cadrul IFP. Personalul medical a fost reprezentat de medici (ftiziopneumologi și pneumologi) în 12,5% (n=7) cazuri și de asistenți medicali în 87,5% (n=49) cazuri. Informația prezentată în acest capitol descrie rezultatele obținute în cadrul chestionărilor în baza cărora s-a determinat că personalul medical din cadrul IFP a demonstrat cunoștințe vădite în aplicarea măsurilor de control al infecției TB.

Cuvinte-cheie: tuberculoza, multi-drogrezistența, transmitere nosocomială, Ural, Beijing.

Aprobarea etică

Studiul "Evaluarea și prioritizarea factorilor de risc în transmiterea tuberculozei rezistente la pacienți spitalizați" a fost aprobat de către Comitetul de Etică a Cercetării al Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu" cu numărul #15_49/2014, Chișinău, Republica Moldova.

1 EPIDEMIOLOGIA TUBERCULOZEI REZISTENTE ȘI POLITICILE DE SĂNĂTATE PUBLICĂ ELABORATE ÎN STOPAREA TRANSMITERII ACESTEI INFECȚII

1.1 Tuberculoza în context general

TB este o boală transmisibilă care reprezintă o cauză majoră a stării generale precare a sănătății și în consecință una dintre principalele cauze ale mortalității prin maladii infecțioase, la nivel mondial. Până la începutul pandemiei COVID-19, TB reprezenta cauza principală a deceselor generate de un singur agent infecțios, aceasta poziționându-se chiar înaintea infecției HIV/SIDA [16].

TB este cauzată de *Mtbc*, care se răspândește atunci când persoanele infectate, răspândesc bacteria în aer, spre exemplu, prin intermediul tusei. Este estimat că o pătrime din populația planetei este infectată cu TB [17], însă majoritatea dintre aceștia nu ajung să dezvolte boala propriu-zisă [18,19]. Capacitatea organismului de a forma un răspuns imun adecvat la infecția cu TB este crucială în astfel de situații. Glanda tiroidă joacă un rol important în activarea celulelor sistemului monocitic-macrofage prin căi directe și indirecte, care pot implica proteina C-kinaza. Această activare ajută la eliminarea agentului patogen al TB din organism [20]. Citokinele care se formează în timpul răspunsului inflamator al organismului la infecția cu TB controlează forma răspunsului imun specific. Citokinele reglează, de asemenea, interacțiunea dintre sistemul imunitar și sistemul endocrin la nivel sistemic, prin modularea reacțiilor-cheie de apărare [21,22].

Din numărul total de persoane care se îmbolnăvesc anual de TB, 90% sunt adulți, fiind înregistrate mai multe cazuri în rândul bărbaților decât al femeilor. TB afectează de regulă plămânii (TB pulmonară), însă poate afecta și alte organe. Din fericire, regimurile medicamentoase disponibile pot vindeca majoritatea pacienților [23], iar tratamentul TB este considerat a fi printre cele mai rentabile intervenții de sănătate [24]. Inițierea tratamentului specific adecvat, poate reduce eficient transmiterea și poate preveni răspândirea bolii.

Principalul factor care determină epidemia TB, inclusiv a TB rezistente în Europa de Est este transmiterea activă a bacteriilor *Mtbc* cu tulpini rezistente la medicamentele anti-microbiene utilizate în tratamentul TB [25].

Se disting mai multe categorii de rezistență ale *Mtbc*:

- Monorezistența - rezistența micobacteriilor la un singur medicament antituberculos;
- Polirezistența - rezistența micobacteriilor la două sau mai multe medicamente antituberculoase, cu excepția combinației Isoniazidum (INH) și Rifampicinum (RIF);

- Multidrogrezistența (MDR) - rezistenţa la INH şi RIF, cu sau fără rezistenţă la alte medicamente (dar nu la fluorochinolone și/sau medicamente din grupul A[1]);
- Rezistența la rifampicină (RR) - rezistenţa la RIF detectată prim metode genotipice sau fenotipice, cu sau fără rezistenţă la alte medicamente anti-TB; RR este categorisită drept TB-MDR;
- Rezistența prextensivă (pre-XDR) - rezistența la INH şi RIF și la orice fluorochinolonă (levofloxacina (LFX) și moxifloxacina (MFX));
- Rezistența extensivă (XDR) - rezistența la INH şi RIF, inclusiv la orice fluorochinolonă (LFX și MFX) și cel puțin un medicament suplimentar din grupa A (tuberculoză cu rezistență extinsă la medicamente) [26].

Mecanismul principal de dobândire a rezistenței la *Mtbc* este acumularea de mutații punctuale în polimorfismul de nucleotid unic, care codifică ținte de medicamente sau enzimele de conversie, iar rezistența la medicamente apare prin selectarea mutațiilor în timpul tratamentului inadecvat [27,28]. Polimorfism de Nucleotid Unic reprezintă o variație comună la nivelul unui singur nucleotid (A, C, T sau G) din genomul uman și reprezintă cea mai mică formă de variație genetică între oameni. Spre deosebire de alte bacterii, care adesea dobândesc rezistență prin sisteme de transfer de gene, cum ar fi schimbul de plasmide, mutațiile *Mtbc* rezultă, de obicei, din polimorfisme cu un singur nucleotid, inserții sau deleții mari [29]. Cu toate acestea, rezistența primară apare atunci când tulpinile rezistente sunt transmise în același mod ca și tulpinile sensibile la medicamente. Unii cercetători au presupus inițial că tulpinile rezistente sunt mai puțin virulente sau rata de transmisie este mai mică decât la tulpinile sensibile la medicamente, din cauza mutațiilor potențial dăunătoare [30].

Transmiterea TB RR/MDR este principalul mecanism responsabil pentru prevalența crescută a acestei afecțiuni, în comparație cu dobândirea rezistenței prin tratament inadecvat al TB sensibile la medicamente [31,32,10]. Acest consens este confirmat de datele de supraveghere de rutină, care indică faptul că majoritatea cazurilor noi de TB RR/MDR apar la persoanele care nu au primit anterior tratament antituberculos [33,32,34]. Totuși, aceste date nu dau un răspuns clar la întrebările esențiale, cu privire la modul și persoanele între care se transmite TB RR/MDR [35].

SNP-urile sunt situate în diferite regiuni ale genomului uman și pot afecta diverse aspecte ale funcționării organismului, inclusiv sensibilitatea la anumite boli, metabolismul

[1] Medicamentele din grupa A sunt în prezent levofloxacină sau moxifloxacină, bedaquilină și linezolid

medicamentelor, răspunsul la terapia medicamentoasă sau chiar caracteristici fizice și comportamentale. În contextul unui studiu efectuat în Spania, rețelele genetice au apărut ca o abordare utilizată pe scară largă pentru a înțelege transmiterea agenților patogeni, fără a se baza pe date epidemiologice suplimentare. Datele de aliniere SNP au fost folosite pentru a stabili relația genetică între tulpini, ceea ce a condus la identificarea a 22 de legături lipsă în 14 din 21 de rețele genetice. Cu toate acestea, rețelele genetice pot să nu ofere o reflectare exactă a transmiterii din cauza eșecului lor de a integra informații importante, cum ar fi efectele timpului scurs de la infecție, diversitatea în interiorul gazdei și potențiala existență a clonelor multiple în aceeași gazdă. Acești factori pot influența substanțial numărul de substituții observate și probabilitatea de transmitere.

Prin urmare, în timp ce rețelele genetice pot oferi informații valoroase, rezultatele lor necesită a fi interpretate cu prudență și nu ar trebui să servească drept bază unică pentru înțelegerea dinamicii transmisiei [36]. Cercetătorii și-au propus să investigheze posibilitatea transmiterii TB înainte de manifestarea simptomelor. În acest context, au analizat un caz care implica un pacient (G1449) identificat drept transmițător credibil al TB înainte ca acesta să prezente simptome. G1449, probabil, a infectat o altă persoană cu mai puțin de 2 ani în urmă, ceea ce sugerează că transmiterea TB poate avea loc înainte de apariția simptomelor [36].

Pe lângă explorarea transmiterii pre-simptomatice, același studiu a examinat și posibilitatea când transmiterea ar putea să aibă loc până la sosirea persoanelor în țară (Spania). Analizând orele de sosire ale cetățenilor străini, studiul a demonstrat că probabil transmiterea a avut loc după ce toate persoanele au sosit în țară având o probabilitate mare de a transmite TB. Cu toate acestea, în baza analizei, s-a presupus că transmisia a avut loc înainte de sosire la cinci cazuri, însă aceste persoane nu au fost identificate ca transmițători credibili. Rezultatele studiului a evidențiat provocările identificării cu acuratețe a transmiterii TB înainte de sosire și subliniază importanța eforturilor continue de îmbunătățire a strategiilor de control și prevenire a TB [36]. Mai mult ca atât, studiul a evaluat dacă indivizii pentru care s-au estimat perioade mai lungi între infecție și diagnostic au dezvoltat cazuri secundare de TB. S-a constatat că timpul estimat până la diagnosticare a fost unul mai lung pentru persoanele pentru care se prevedea că au infectat două sau mai multe cazuri secundare. Acest lucru sugerează că diagnosticarea întârziată poate contribui la creșterea transmiterii și subliniază importanța diagnosticului și tratamentului prompt în controlul TB [36]. În general, studiul oferă dovezi științifice importante privind faptul că transmiterea TB poate avea loc până la apariția simptomelor, ceea ce are implicații importante în dezvoltarea strategiilor de control și prevenire a TB. Concluziile studiului subliniază necesitatea eforturilor

continue pentru a îmbunătăți controlul, diagnosticul și tratamentul TB, cu scopul final de a reduce povara globală a acestei boli.

David Dowdy și coaut. subliniază importanța luării în considerare a „punctelor fierbinți" (focare) - o altă provocare în controlul eficient al TB. Autorul prezintă un model simplu de transmitere a TB în Rio de Janeiro, care sugerează că o parte semnificativă a transmiterii TB la nivel comunitar are loc în „puncte fierbinți" mici (focare) definite geografic. Povara transmiterii TB în aceste puncte fierbinți este mai mare decât povara incidenței prin TB, ceea ce indică despre faptul că eforturile de control al TB în aceste zone ar putea avea un impact mai mare asupra controlului TB la nivel comunitar. De asemenea, autorul a observat că cartografierea geospațială anterioară în Brazilia a identificat grupuri de incidență cu TB care corelează cu statutul socio-economic scăzut [37]. Strategiile care vizează aceste grupuri, cum ar fi investigarea contacților și reducerea disparităților socio-economice, pot avea un impact disproporționat în controlul TB. În schimb, ignorarea acestor puncte fierbinți ar putea limita eficacitatea strategiilor de control al TB [38]. Dowdy susține acest argument, demonstrând că un caz de TB activă într-un focar generează de 2,6 ori mai multe infecții secundare decât un caz similar din comunitatea generală, din cauza condițiilor de aglomerație și a sensibilității mai mari la TB. În general, acest studiu subliniază importanța abordării focarelor în eforturile de control al TB pentru a obține rezultate mai bune în lupta împotriva acestei boli [38].

Eforturile de control împotriva TB au fost subminate de apariția și răspândirea TB rezistente la medicamente. Dovezile actuale sugerează că cele mai multe cazuri de TB RR/MDR sunt, probabil, rezultatul transmiterii bacteriilor în timpul tratamentului [39,40,30]. Au fost identificați mai mulți factori care contribuie la transmiterea rezistenței, inclusiv diagnosticul și tratamentul tardiv [41], factori legați de pacient, cum ar fi vârsta condiția fizică și statutul imunitar, precum și caracteristicile bacteriilor în sine, cum ar fi imunogenitatea [42].

Factori și comorbidități. Pacienții infectați cu virusul imunodeficienței umane (HIV) reprezintă una din categoriile cele mai sensibile ale populației de a dezvolta TB [43]. Riscul de TB rezistentă la medicamente este mai mare în rândul persoanelor infectate cu HIV, decât la pacienții HIV seronegativi. Mecanismele implicate în dezvoltarea rezistenței dobândite la rifampicină la pacienții infectați cu HIV nu sunt pe deplin clare. Unul dintre mecanismele menționate în cadrul studiilor a fost malabsorbția medicamentelor antimicobacteriene (RIF și Etambutol (EMB)) asociată cu rezistența dobândită la medicamente care duc la eșecul tratamentului [44], iar regimul optim pentru tratamentul TB RR/MDR la pacienții cu HIV rămâne a fi încă unul discutabil [45].

Potrivit Martei Gomes și coaut. există factori independenți care sunt asociați cu TB rezistentă la medicamente, inclusiv diabetul zaharat, consumul de droguri intravenoase și

tratamentul anterior al TB [46,47,48,49]. OMS estimează că pacienții cu diabet zaharat alcătuiesc aproximativ 8% din cazurile noi de TB diagnosticate anual. Combinația dintre TB și diabet zaharat reprezintă o amenințare globală pentru sănătate, deoarece populațiile expuse riscului pentru fiecare dintre aceste boli continuă să se suprapună. O posibilă cauză a asocierii dintre diabetul zaharat și TB rezistentă la medicamente este potențiată de malabsorbția medicamentelor anti-TB în rândul pacienților diabetici, ceea ce duce la o eficacitate redusă a tratamentului [50,51].

Constatările indică faptul că utilizatorii de droguri injectabile au un risc mai mare de a dezvolta TB rezistentă la medicamente, comparativ cu persoanele care nu-și injectează droguri. Consumul de droguri intravenoase a fost determinat drept un factor de risc semnificativ, care poate fi atribuit diagnosticului tardiv de TB, dar și la legătura dintre consumul de droguri intravenoase și TB rezistentă la medicamente [52,53,54].

Tratamentul anterior al TB, un alt factor de risc bine stabilit pentru TB rezistentă la medicamente, cu toate că TB rezistentă la medicamente poate fi transmisă de la o persoană la alta, cele mai multe cazuri de rezistență apar din cauza tratamentului inadecvat, fapt ce permite ca o tulpină rezistentă la medicamente să devină dominantă. Deși nu sunt date disponibile privind genotiparea, nu se exclude și faptul că pot exista clustere posibile [55,56].

Unul dintre obstacolele în controlul TB, inclusiv în Republica Moldova, este tratamentul implicit, acesta fiind caracterizat prin întreruperea tratamentului pentru o durată de cel puțin 2 luni consecutive [57]. Acest fapt poate submina controlul eficient al TB, deoarece pacienții care întrerupt tratamentul pot rămâne purtători ai infecției [58], prezentând un risc crescut de reactivare a bolii [59] și de mortalitate asociată cu aceasta [60].

Studiu desfășurat în Republica Moldova în perioada anilor 2019-2021 a evaluat particularitățile clinice și epidemiologice ale recidivelor de TB la 139 de pacienți care suferă de etilism cronic [61]. Pacienții cu recidive de TB pulmonară și care sufereau de etilism cronic au prezentat în mare parte boli cronice concomitente, care au influențat negativ evoluția TB și eficacitatea terapiei medicamentoase. Prin urmare, există o legătură directă între gravitatea procesului TB și intensitatea etilismului cronic la pacienții care suferă de această afecțiune, iar procesul TB în timpul recidivelor bolii se caracterizează prin evoluție mai severă decât în cazul celor diagnosticați cu cazuri noi de TB [61].

Condiționarea reciprocă dintre TB și alte boli rămâne o problemă în asigurarea controlului eficient al TB în Republica Moldova. Prezența comorbidităților precum HIV/SIDA, diabetul zaharat, tulburărilor comportamentale rezultate din consumul de droguri și alcool etc. pot induce la dificultăți în diagnosticul precoce al TB și a inițierii tratamentului specific, urmare inclusiv a

paucisimptomaticei, accesului limitat la serviciile medicale, dar și a conștientizării simptomelor de TB.

Progresul în eliminarea TB în regiunea Europei de Est a fost grav afectată de pandemia COVID-19, care a cauzat întreruperi ale serviciilor și bariere în accesul la îngrijire, conducând la o reducere substanțială a diagnosticului TB și a înrolării în tratament în această perioadă. De asemenea, războiul din Ucraina a declanșat o escaladare a crizei umanitare care poate avea un impact grav asupra progresului în atingerea țintelor regionale pentru TB [62]. Pandemia COVID-19 a avut un impact negativ asupra serviciilor de control al TB din regiune în 2020, ducând la oprirea progresului remarcabil din anii precedenți [63]. Ca urmare, numărul de pacienți TB RR/MDR diagnosticați și înrolați în tratament a scăzut cu 17,7% la nivel de Regiune, iar rezultatele tratamentului la pacienții cu TB cazuri noi și recidive au rămas comparabile cu anul precedent și nu a existat o reducere semnificativă a succesului tratamentului [64].

Principala intervenție pentru prevenirea TB este tratamentul preventiv, împreună cu prevenirea și controlul infecției TB, cât și vaccinarea BCG pentru copii. OMS recomandă tratamentul preventiv împotriva TB pentru anumite grupuri, inclusiv pentru persoanele care trăiesc cu HIV și pentru persoanele care provin din contact din focarele de TB confirmate bacteriologic. În 2021, 3,5 milioane de persoane au primit tratament preventiv împotriva TB, cu o reducere nesemnificativă față de anul 2019, însă într-un număr mai mare decât în anii precedenți. Cu toate acestea, numărul total de persoane care au primit tratament din 2018-2021 reprezintă doar 42% din obiectivul de 30 milioane stabilit pentru perioada de 5 ani, 2018-2022 [34].

1.2 Tuberculoza rezistentă în context mondial, regional și național

TB rămâne una dintre cele mai răspândite boli infecțioase la nivel global, iar acest subiect abordează provocările și soluțiile în controlul și prevenirea acesteia, inclusiv, diagnosticul și tratamentul cazurilor cu TB RR/MDR.

Situația alarmantă a TB RR/MDR poate fi rezultatul a două decenii de abordare inadecvată a sănătății publice în ceea ce privește controlul TB și, în special, a stocurilor de medicamente de primă și de a doua linie care au dus la mono-terapie virtuală în timpul prăbușirii Uniunii Sovietice, utilizarea de medicamente de calitate joasă și practici clinice greșite [65,66,67,68,69]. Dovezi recente din Uniunea Europeană [65,67,69,70] arată clar că mai multe abateri de la ghidurile recomandate [71] apar chiar și în țările unde venitul pe cap de locuitor este mai mare, țări cu incidență scăzută a TB, creând oportunități pentru dezvoltarea tulpinilor foarte rezistente și răspândirea acestora [72].

În 2020, cincizeci de țări din regiunea europeană a OMS (în continuare Regiune) au raportat rezultatele testelor pentru rezistența la Rifampicină, iar acoperirea globală cu testele de sensibilitate la medicamente în regiune a fost raportată a fi de cel puțin 92% pentru Rifampicină printre cazurile de TB pulmonară confirmate bacteriologic. Rate înalte de TB RR/MDR printre cazurile noi au fost înregistrate în Ucraina, Kârgâzstan, Republica Moldova și Tadjikistan și care au variat de la 20% la 29%. În 14 țări/zone au fost raportate rate de TB RR/MDR printre cazurile de TB anterior tratate și care au variat între 15% și 49%. În unele dintre țările cu prioritate înaltă pentru TB precum Belarus, Federația Rusă, Kârgâzstan, Republica Moldova și Armenia, ratele TB RR/MDR printre cazurile anterior tratate au fost chiar mai mari, depășind în unele țări 50% [73].

La nivel de Regiune, în anul 2020, au fost înrolați în tratament cu regimuri respective 32.544 de pacienți cu TB RR/MDR și 11.979 pacienți cu rezistență pre-extinsă la medicamente antituberculoase (pre-XDR-TB). De remarcat că, anual, la nivel de Regiune, numărul de cazuri cu TB RR/MDR care încep tratamentul corespunzător, depășește numărul de pacienți notificați cu TB RR/MDR în aceeași perioadă, ceea ce indică despre faptul că mai multe țări cu prioritate înaltă pentru TB raportează un număr mai mare de cazuri înrolate în tratament decât diagnosticate. Această discrepanță în raportare ar putea fi atribuită raportărilor incomplete, restanțelor pacienților cu TB RR/MDR, eșecurilor frecvente la tratament și întreruperilor tratamentului care duc la reînrolarea aceloraşi pacienți în aceeași cohortă anuală, dar și supravegherea insuficientă [73].

Pentru a obține o perspectivă generală asupra evoluției controlului tratamentului TB în Regiune, și anume în Europa de Est, putem analiza Planul de acțiune de control TB 2023-2030. Conform statisticilor, țările din Europa de Est și Asia Centrală găzduiesc 24% din cazurile globale de TB RR/MDR și 47% dintre cazurile pre-XDR-TB.

Republica Moldova este una dintre cele 18 țări ale regiunii europene a OMS în cadrul căreia controlul TB este prioritar și una dintre cele 30 de țări ale lumii cu povară a TB RR/MDR [6].

Un semn distinctiv al epidemiei de TB în fostele țări ale Uniunii Sovietice este rata înaltă a TB RR/MDR, sau rezistentă în particular la Izoniazidă și Rifampicină [74] [10]. Odată cu destrămarea Uniunii Sovietice la începutul anilor ‘90, rata cazurilor de TB și TB RR/MDR a început să crească în noile state independente, în mare parte din cauza crizei socio-economice, care a deteriorat sistemele de sănătate [75] [76]. În anii '90 ai secolului XX, în municipiul Chișinău, precum și în întreaga țară, s-a observat o creștere semnificativă a principalilor indicatori epidemiologici ai TB, cum ar fi incidența și mortalitatea. În spitalul municipal de TB din mun. Chișinău, rata de deces prin TB a crescut de zece ori [77].

Deși există un număr mare de cercetări în acest domeniu, dovezile sunt limitate privind legătura dintre evenimentele istorice specifice sau practici de sănătate publică de apariție a

tulpinilor de *Mtbc* rezistente la medicamente, în special, în țările puternic afectate de TB, precum Republica Moldova. Cu toate acestea, este recunoscut faptul că combinația dintre tulburările sociale și economice, eșecurile sistemelor de sănătate și încarcerarea în masă a creat un mediu propice selecției și transmiterii TB rezistente la medicamente în Regiune. Înțelegerea contextului istoric și a factorilor care contribuie la apariția TB rezistente la medicamente este crucială pentru dezvoltarea strategiilor eficiente de control și prevenirea TB în viitor.

Republica Moldova are o incidență ridicată a TB și conform statisticilor publicate la nivel național, înregistrează cele mai mari procentaje ale cazurilor de TB RR/MDR la nivel regional [78].

Potrivit estimărilor OMS, Republica Moldova urma să depisteze, în anul 2014 - 154 cazuri la 100 mii populație (diapazon: 91-140), real fiind diagnosticate 100 cazuri la 100 mii populație și în 2021 - 86 cazuri la 100 mii populație, real fiind diagnosticate 67 cazuri la 100 mii populație. În rândul celor 18 țări ale regiunii cu prioritate pentru TB, Republica Moldova s-a clasat în perioada 2014-2022 pe locul doi (după Kârgâzstan) privind incidența cazuri noi și recidive conform Fig. 1.1 [79] [80] [81].

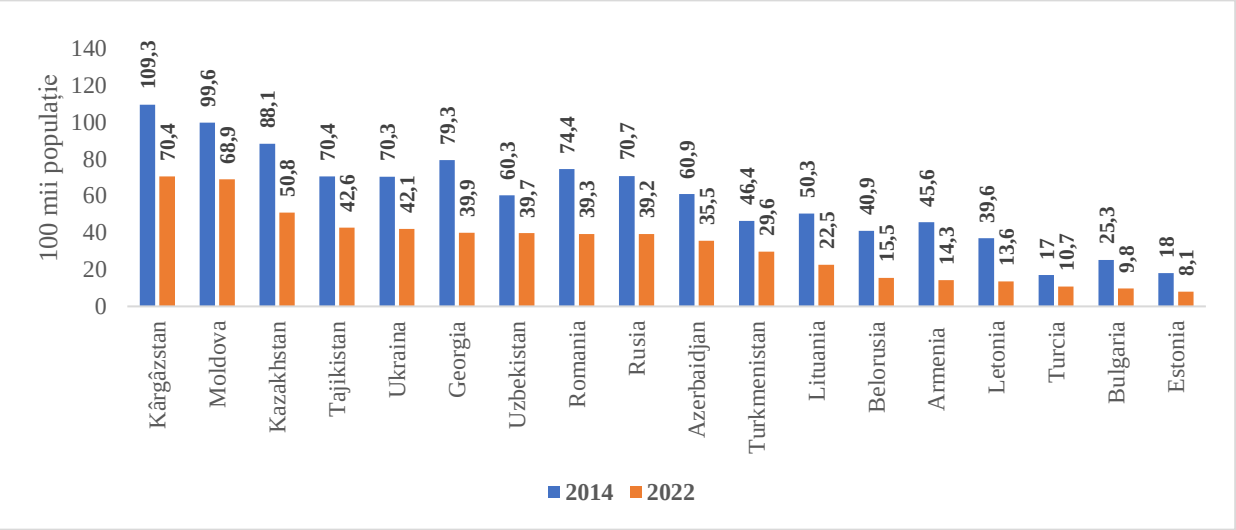


Fig. 1.1. Incidența prin cazuri noi și recidive în 18 țări ale Regiunii Europene OMS cu prioritate înaltă pentru tuberculoză

Urmare a implementării metodelor contemporane de diagnostic, în țară a crescut semnificativ rata de depistare a cazurilor cu TB, atingând rata maximă în anul 2006 (rata de notificare a cazurilor noi și recidivelor a fost de 135 la 100 mii populație), după care din anul 2007, incidența globală prin TB a fost inversată și de atunci continuă să scadă cu o medie anuală de (3,8%). Astfel, către finele anului 2022, incidența globală prin TB s-a înjumătățit (reducere cu 49%) față de anul 2006 și s-a redus de circa 1,5 ori (reducere cu 30%) față de anul 2014. În pofida

scăderii ușoare a incidenței globale prin TB, aceasta rămâne un subiect de mare îngrijorare pentru Republica Moldova.

O provocare majoră pentru sănătatea publică din țară rămâne a fi TB RR/MDR, datorită nivelului ridicat al rezistenței la medicamente și a ratei semnificative de eșecuri în tratamentul cazurilor de TB RR/MDR. Estimările OMS au calculat pentru anul 2014 - 1500 [diapazon: 1200-1600] și pentru anul 2021 – 1000 [diapazon: 790-1200] de cazuri de tuberculoză (toate formele) de a fi depistate cu TB RR/MDR. În realitate, Republica Moldova a diagnosticat și a notificat în 2014 – 814 cazuri cu TB RR/MDR (sau 54,2% din numărul estimat) și 508 cazuri cu TB RR/MDR (sau 50,8% din numărul estimat) în anul 2021 (Fig. 1.2). Datele din Fig. 1.2, demonstrează o îmbunătățire a ratei de detecție privind cazurile cu TB RR/MDR către anii 2018-2019 (73%), urmată de o reducere a acesteia până la 51%, explicând-se prin repercusiunea pandemiei COVID-19 în accesarea serviciilor de diagnosticare a TB, inclusiv a TB rezistente [79] [80] [81].

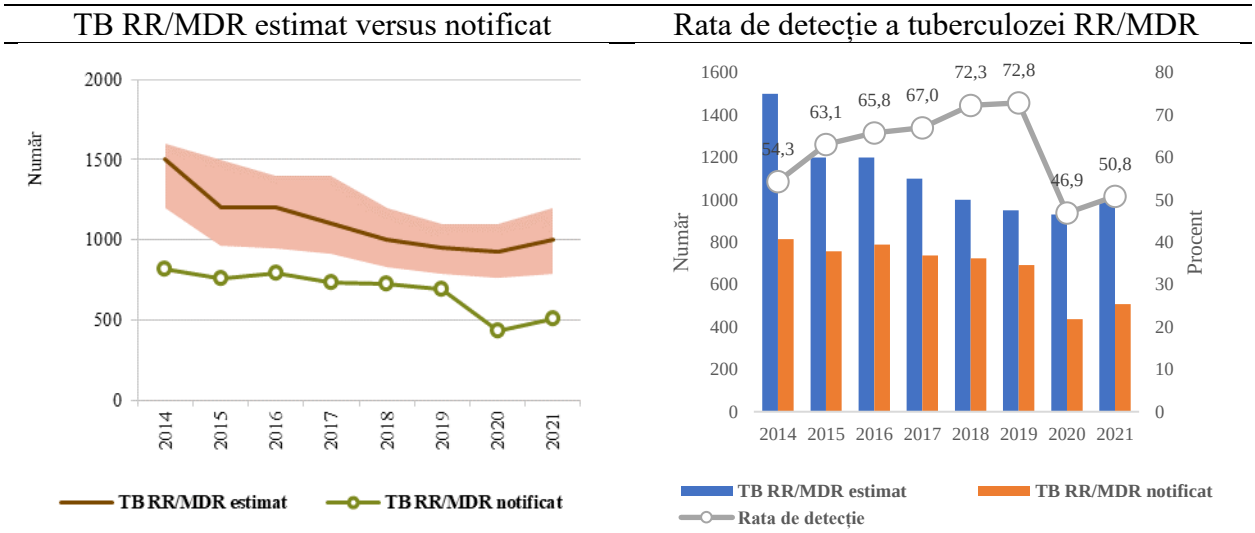


Fig. 1.2. Numărul de cazuri estimate și notificate cu tuberculoză RR/MDR și rata de detecție a RR/MDR-TB (cazuri noi și recidive toate localizările); Republica Moldova 2014-2021

Notă: aria umbrită reprezintă banda de incertitudine (diapazonul)

TB pulmonară reprezintă reperul în transmiterea infecției. La acest capitol, cazurile cu TB pulmonară s-au redus de la 3680 (90,4 la 100 mii populație) în 2014 la 1945 (63,1 la 100 mii populație) în 2021 cu o reducere anuală de (3,9%). Un alt aspect elucidat în rapoartele OMS este ponderea cazurilor cu TB pulmonară RR/MDR care demonstrează capacitatea țării de a diagnostica cazurile cu TB RR/MDR printre cazurile deja notificate cu TB pulmonară. În urma estimărilor OMS, bazate pe numărul de cazuri notificate cu TB pulmonară (disponibile începând cu anul 2017), rata de detecție a cazurilor cu TB RR/MDR a variat pe parcursul ultimilor cinci ani

de la 65% (2019) la 89% (2018), aspect ce denotă capacitatea laboratorului de a diagnostica TB RR/MDR printre cazurile deja confirmate cu TB pulmonară (Fig. 1.3) [79] [80] [81].

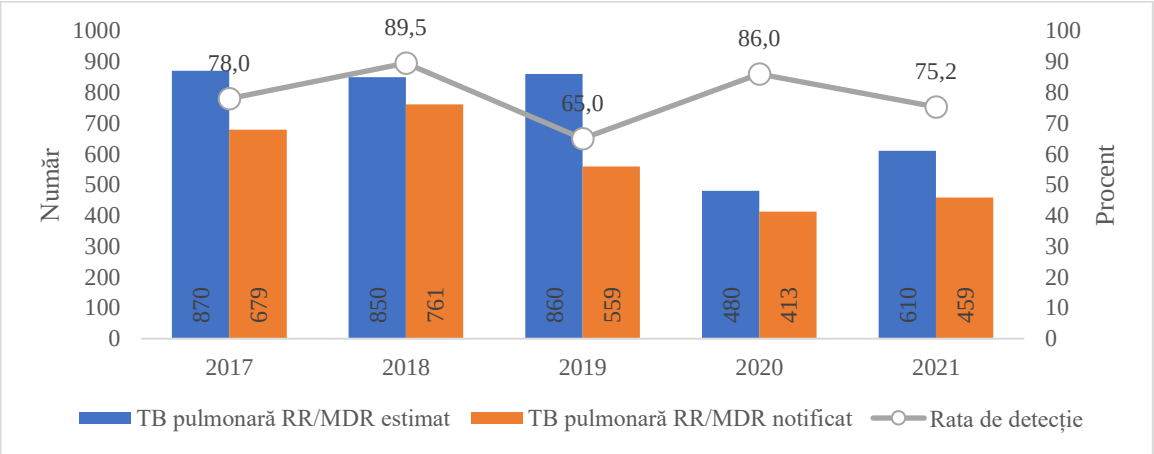


Fig. 1.3. Numărul de cazuri estimate și notificate cu tuberculoză pulmonară RR/MDR și rata de detecție a tuberculozei RR/MDR-TB cu localizare pulmonară (cazuri noi și recidive); Republica Moldova 2017-2021

Rata cazurilor cu confirmare bacteriologică printre cazurile cu TB pulmonară a variat de la 61,1% (2014) la 77,5% (2022), fapt ce denotă o îmbunătățire în aplicarea pe larg a metodelor de diagnosticare a TB, dar și în accesibilitatea populației la metodele de diagnosticare, în special, a metodelor rapide (precum ar fi Xpert MBT/RIF).

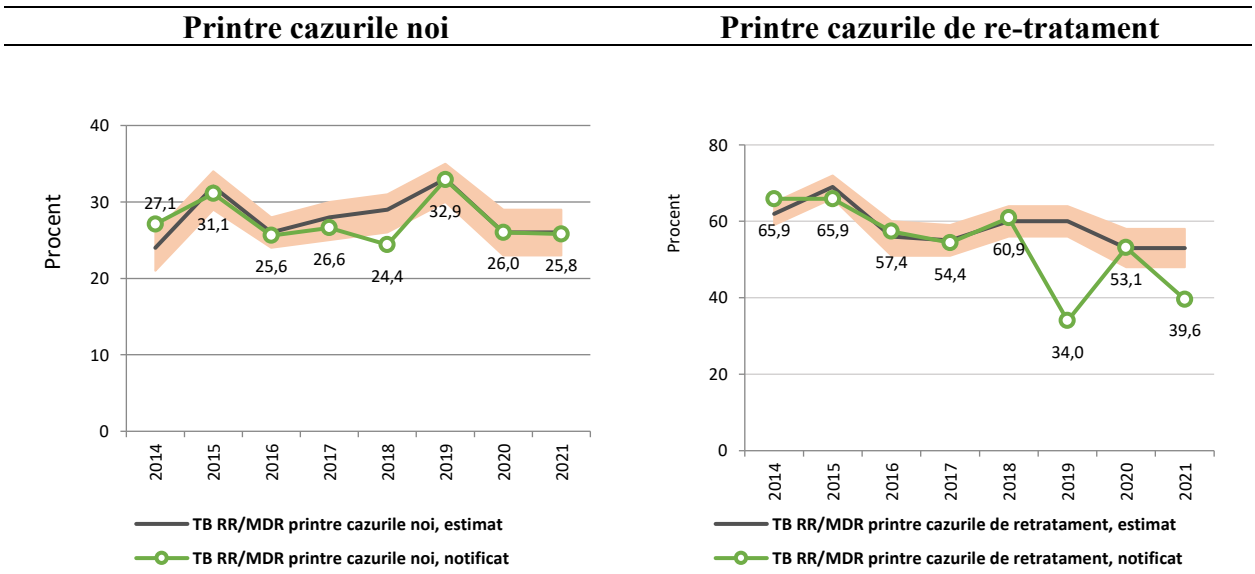


Fig. 1.4. Ponderea cazurilor cu tuberculoză RR/MDR printre cazurile noi și re-tratamente, 2014-2021, Republica Moldova

Notă: aria umbrită reprezintă banda de incertitudine (diapazonul)

OMS a estimat pentru anul 2014 o pondere de 24% (diapazon: 21-26) a cazurilor cu TB RR/MDR printre cazurile noi și de 62% (diapazon: 59-65) printre cazurile de retratament, real fiind depistate 27,1% de cazuri în rândul celor noi și de 65,9% în rândul cazurilor de retratament (Fig. 1.4.) [79,80,81].

Pe parcursul anilor 2014-2021, se observă că ponderea cazurilor cu TB RR/MDR printre cazurile noi nu excedă aria diapazonului, cu excepția anului 2019 (cazuri noi), 2019 și 2021 (re-tratamente), fapt ce ar putea indica o problemă în aplicarea metodelor de diagnostic sau unele lacune în notificarea și raportarea datelor pentru această perioadă. Observăm că diagnosticarea TB RR/MDR printre cazurile notificate, în general, corespund estimărilor internaționale.

Ratele de succes la tratamentul TB printre cazurile cu TB sensibilă și printre cazurile cu RR/MDR nu au atins țintele de 85% și 75%, respectiv, stabilite de către OMS [7]. Cauzele de bază a insuccesului la tratament fiind atribuite în mare parte decesului, eșecului la tratamentul pentru TB și pierduților din supravegherea medicală (Figura 1.5.) [79,80,81].

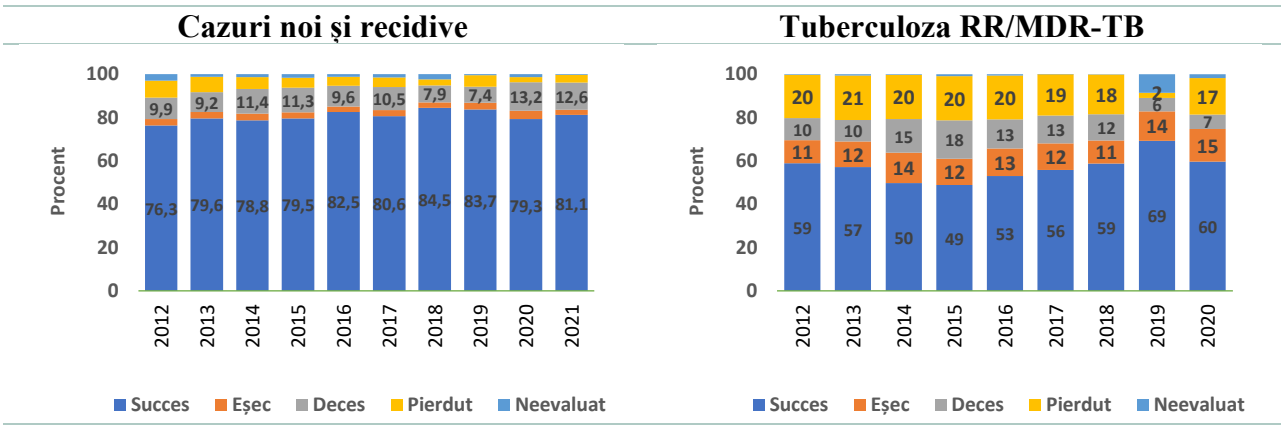


Fig. 1.5. Rezultatele tratamentului tuberculozei sensibile și rezistente, Republica Moldova, cohorte 2012-2021

Notă: Pierdut = pierdut din supravegherea medicală; Succes = cazuri vindecate plus cazuri cu tratament încheiat

Ponderea pacienților pierduți din supravegherea medicală a oscilat între 4% pentru TB sensibilă și 17% pentru TB rezistentă în rândul pacienților care au inițiat tratamentul în 2021 și 2020, respectiv. Rata înaltă a pierduților din supraveghere, ar putea fi cauzată de rezervele în aplicarea intervențiilor centrate pe pacient necesare în finalizarea cu succes al tratamentului, cum ar fi suportul motivațional, nutrițional și social, consilierea psihologică pe durata întregii perioade de tratament, accesibilitatea la medicamentele necesare pentru diminuarea reacțiilor adverse în perioada administrării tratamentului în condiții de ambulatoriu etc.. De menționat și faptul că întreruperea frecventă a tratamentului duce la dezvoltarea rezistenței la medicamentele antituberculoase [82,83].

1.3 Răspunsul național în controlul tuberculozei

În Republica Moldova, începând cu anul 2001 derulează Programe naționale de control al TB, aprobate prin hotărâri de Guvern o dată la 5 ani. Actualmente în țară derulează Programul

Național de Răspuns la Tuberculoză pentru anii 2022-2025 [84] care are drept scop reducerea poverii TB ca problemă de sănătate publică în Republica Moldova.

Ministerul Sănătății deține controlul primordial în controlul TB din țară. Acesta își exercită atribuțiile prin intermediul IFP, care deține unitatea de coordonare și monitorizare a implementării Programului Național pentru Controlul TB în colaborare cu alte entități guvernamentale și neguvernamentale, dar și a partenerilor de dezvoltare. În acordarea asistenței ftiziopneumologice sunt implicate structurile spitalicești și cele de ambulatoriu. Structurile spitalicești reprezintă instituția de nivel național (IFP) și două spitale de nivel municipal, localizate în mun. Chișinău și mun. Bălți. IMSP IFP, în calitate de instituție națională, acordă asistență specializată ftiziopneumologică pentru populația adultă din întreaga țară, cel din mun. Chișinău – deservește populația adultă din municipiul Chișinău și copii din întreaga țară, iar spitalul municipal din Bălți – deservește populația municipiului Bălți și regiunea de nord a țării. Asistența de ambulatoriu este acordată prin intermediul centrelor de asistență medicală teritorială din mun. Chișinău, cabinetelor de ftiziopneumologie din cadrul secțiilor consultative ale spitalelor raionale și a centrelor/oficiilor medicilor de familie, la nivel comunitar. O altă structura a serviciului ftiziopneumologic din țară cuprinde laboratoarele de referință și centrele de microscopie. Laboratoarele de referință (4 la număr) deservesc teritorial întreaga țară, dar și staționarele unde sunt localizate. Laboratorul Național de Referință în microbiologia tuberculozei(LNR) este localizat în cadrul IFP, iar celelalte 3 regionale în cadrul clinicii Vorniceni (departament al IFP), IMSP Spitalului Clinic Bălți și IMSP Spitalului Municipal Bender (regiunea de est a țării). Centrele de microscopie sunt localizate în cadrul spitalelor raionale și centrelor de asistență medicală teritorială din municipiul Chișinău.

Pe durata anilor, în țară au fost înregistrate progrese majore privind controlul TB. Republica Moldova s-a aliniat strategiei DOTS (Directly Observed Treatment Strategy) din anul 2001 prin programe pilot, iar către sfârșitul anului 2004 aceasta a cuprins întreaga țară. DOTS este o strategie de tratament standardizată recomandată de OMS pentru tratarea TB și care se bazează pe cinci elemente de bază: 1) diagnosticul bacteriologic prin microscopie a fiecărui caz suspect de TB; 2) tratament cu un regim standardizat de medicamente antituberculoase; 3) administrarea medicamentelor în mod direct observat (adesea de către un lucrător de sănătate) pentru a asigura conformitatea și completarea tratamentului; 4) monitorizarea efectelor secundare ale medicamentelor și respectarea tratamentului; 5) monitorizarea sistematică a rezultatelor tratamentului și raportarea acestora. Strategia DOTS are o eficacitate ridicată în tratarea TB și a fost implementată cu succes în multe țări, fiind considerată drept o abordare esențială în lupta împotriva TB la nivel mondial.

Republica Moldova a implementat cu succes o serie de politici și măsuri care vizează prevenirea și îngrijirea pacienților cu TB cu implicarea constantă a asistenței medicale primare în depistarea timpurie și tratamentul direct observat. Este asigurat accesul universal la diagnosticul și tratamentul TB de calitate pentru toată populația, cu o acoperire geografică completă. Au fost dezvoltate politici de suport pentru un tratament adecvat al TB. Republica Moldova este prima țară din regiune care a extins disponibilitatea metodei rapide GeneXpert la nivelul întregii rețele de laboratoare care efectuează microscopia (59 de laboratoare). A fost modernizat diagnosticul de laborator cu alte metode rapide de diagnosticare. În dezvoltarea politicilor de control al TB, țara a urmat recomandările OMS și a altor organizații din domeniu.

Politici de tratament pentru TB. În Republica Moldova tratamentul TB pentru toți pacienții este gratuit. În perioada studiului (2014-2015) tratamentul pentru TB a fost ghidat de Protocolul Clinic Național – 123, Tuberculoza la adulți, elaborat în conformitate cu ghidurile de tratament ale OMS și aprobat de către Ministerul Sănătății [85].

Astfel, pacienții cu TB sensibilă primeau un tratament standard cu 4 medicamente (INH, RIF, PZA, EMB) în primele 2-3 luni (în funcție de realizarea conversiei sputei), în următoarele 4 luni se continua cu 2 preparate: INH și RIF. În majoritatea cazurilor, durata totală a tratamentului pentru tuberculoza sensibilă era de 6 luni, iar în unele cazuri, durata tratamentului putea fi prelungită.

În cazul formelor mai grave de TB, cum ar fi TB RR/MDR sau TB XDR, regimurile de tratament erau complexe, mai lungi, necesitând o combinație de medicamente antituberculoase și alte intervenții medicale. Pacienților cu TB RR/MDR li se administra un tratament cu un regim standardizat compus din cinci medicamente de linia a 2-a[2], inclusiv o flurochinolonă (LVX și MFX), un preparat antituberculos injectabil de linia a 2-a (capreomicina (CAP) sau amikacină (AMK)), etionamidă (ETH), cicloserina (CS) și/sau pirazinamidă (PZA). Tratamentul era ajustat, la necesitate în baza rezultatelor testelor de sensibilitate fenotipice sau moleculare la medicamente antituberculoase. Durata tratamentului TB RR/MDR depindea de momentul conversiei culturii sputei și consta din faza intensivă de 6-8 luni urmată de faza de continuare cu o durată de 12-16 luni.

---

[2] Medicamente de linia a 2-a:
Grupul A = levofloxacin sau moxifloxacin, bedaquiline și linezolid;
Grupul B = clofazimine și cycloserine sau terizidone; și
Grupul C = ethambutol, delamanid, pyrazinamide, imipenem–cilastatin sau meropenem, amikacin (sau streptomycin), ethionamide sau prothionamide, and p-aminosalicylic acid.

La pacienții cu TB sensibilă cu microscopia frotiului pozitivă la BAAR, în special, la cei cu o evoluție avansată a boli, precum și la pacienții cu TB RR/MDR tratamentul se iniția în unul din spitalele specializate pentru tratamentul TB, unde pacienții erau spitalizați pentru o perioada de 4-6 luni sau cel puțin până la realizarea conversiei sputei.

Tratamentul TB este de durată. Acesta varia de la 6 pînă la 24 luni pentru regimurile mai vechi de tratament, ceea ce poate condiţiona reducerea complianţei la tratament a pacientului. Pacienții cu TB RR/MDR necesită un tratament prelungit (de cel puțin 18 luni) care presupune utilizarea unei game mai largi de medicamente de linia a două cu toxicitate mai crescută față de preparatele de prima linie. Dacă nu li se acordă tratament adecvat, pacienții pot rămâne contagioși și rămân a fi o sursă de transmitere ulterioară [27]. Aplicarea regimurilor noi de tratament, în special, pentru TB cu forme rezistente și care urmăresc micșorarea duratei de tratament până la vindecare devin directive prioritare pentru cercetări.

Pacienții cu TB XDR adesea sunt spitalizați pentru tratament, ceea ce crește costurile atât pentru sistemul de sănătate, cât și pentru pacient și probabil crește riscul de transmitere nosocomială [86]. Deși medicația în cazul tratamentului TB rezistente la medicamente este aproape întotdeauna asigurată prin tratamentul direct observat [87], eficiența acestei metode este des dezbătută. Întreruperea tratamentului prezintă îngrijorări etice cu privire la riscurile pentru sănătate pe care le prezintă pacienții infecțioși, pentru contactele lor din familia apropiată și comunitatea, în general [88]. Acest lucru generează problema echilibrării drepturilor individuale, cum ar fi autonomia și libertatea de circulație, cu dreptul comunității la un mediu sănătos [89].

Tratamentul în timpul spitalizării este supravegheat de medicul ftiziopneumolog din staționar, iar după externarea din spital, pacientul continuă să primească tratamentul antituberculos în condiții de ambulatoriu. În sistemul de ambulatoriu, tratamentul pentru TB este supravegheat în cadrul spitalului raional de către medicul ftiziopneumolog și/sau de către medicul de familie la nivel de asistență medicală primară, cel mai apropiat de domiciliul pacientului. Pacientul trebuie sa vina zilnic la oficiul medicului ftiziopneumolog sau celui de familie pentru a-și primi medicația sub observație directă a lucrătorului medical.

Recent, au fost recomandate de către organizațiile internaționale (OMS) regimuri scurte de tratament pentru TB cu o durată între 6 și 9 luni, în funcție de tipul de rezistență și gravitatea TB. Beneficiile regimurilor scurte de tratament TB includ o perioadă mai scurtă de tratament, o eficacitate mai mare în combaterea TB și o reducere a riscului de apariție a efectelor secundare asociate cu medicamentele antituberculoase. Cu toate acestea, regimurile scurte de tratament a TB nu sunt adecvate pentru toate formele de TB și nu sunt întotdeauna eficiente în tratarea formelor

mai grave de TB. De aceea, este important ca un medic specialist să recomande un tratament adecvat în funcție de tipul rezistenței și severitatea TB.

Începând cu anul 2021, Republica Moldova a început să implementeze regimuri scurte de tratament, de 9 luni, pentru TB RR/MDR în cadrul unui studiu operațional de studiere a regimului scurt de tratament în Regiune.

La sfârșitul anului 2021, numărul țărilor care utilizează BDQ în regimul lor de tratament pentru TB rezistentă a crescut la 124, în timp ce 109 de țări utilizau regimuri mai lungi cu medicamente administrate pe cale orală, iar altele 92 utilizau regimuri scurte pentru tratamentul TB RR/MDR. Deși a existat o variație considerabilă a acoperirii testelor pentru TB RR/MDR în rândul țărilor, 20 din cele 30 de țări cu povară ridicată de TB RR/MDR au obținut o acoperire de testare de peste 80%. Cu toate acestea, acoperirea globală a testelor pentru rezistența la fluorochinolone a fost mult mai mică, de aproximativ 50%, și cu o acoperire de aproape 100% în Regiune și sub 20% în regiunea Pacificului de Vest [34].

Potrivit OMS, diminuarea duratei TB prin depistare și tratament va reduce, inclusiv prevalența prin TB, dar și transmiterea acesteia [34].

1.4 Diagnosticul tuberculozei

Pentru confirmarea etiologică a TB pacienților li se colectează probe biologice înainte de inițierea tratamentului antituberculos, acestea fiind apoi examinate în laboratoarele de referință din zona de deservire.

Tradițional, diagnosticul TB se bazează pe trei metode principale: microscopia prin colorația Ziehl-Neelsen pentru detectarea bacteriilor acido-alcool rezistente (BAAR), însămânțarea pe medii nutritive solide (LJ) și lichide (BACTEC MGIT 960) pentru detectarea și identificarea micobacteriilor. Utilizarea acestor metode bacteriologice a dus la o identificare cu 20-40% mai mare a cazurilor de TB cu emisie bacteriană comparativ cu metoda microscopică și a furnizat culturi de *Mtbc* necesare pentru a determina sensibilitatea la medicamente antituberculoase [26].

În prezent, există două tipuri de teste pentru determinarea sensibilității la medicamente: culturale (fenotipice) și moleculare (genotipice). Aceste tehnologii se completează reciproc și sunt esențiale pentru diagnosticarea și tratamentul eficient al TB [90,91].

Cu referire la analiza și evaluarea sensibilității la medicamente a *Mtbc* la copiii cu TB pulmonară, trebuie menționat că majoritatea copiilor (75,4%) au rămas sensibili la medicamentele de linia întâi. În rândul tulpinilor diagnosticate cu rezistență la medicamente, rata de TB RR/MDR a fost de 16,8%, ceea ce indică o vulnerabilitate epidemiologică [26]. Este dificil să se detecteze

rezistența la TB la copii din cauza mai multor factori, cum ar fi dificultatea acestora de a expectora sputa, prezența frecventă a formelor extrapulmonare ale bolii și simptomele care se suprapun cu alte afecțiuni comune ale copilului [92]. Tratamentul TB la copii și adolescenți are propriile caracteristici datorită absenței frecvente a bacteriilor, ceea ce face imposibilă determinarea sensibilității la medicamente, precum și restricțiile de vârstă privind utilizarea anumitor medicamente antituberculoase, cât și modalitățile de administrare a acestora [93].

Una dintre cele mai importante măsuri pentru depistarea și prevenirea TB la copii și adolescenți este identificarea, diagnosticarea și tratamentul pacienților adulți cu TB [94] [95]. În plus, identificarea contacților pacienților cu TB este crucială pentru depistarea, controlul și prevenirea răspândirii bolii, inclusiv la copii [96].

Potrivit standardelor internaționale actuale pentru gestionarea TB, cea mai utilizată, eficientă și economă metodă de depistare este cea pasivă, care implică pacientul simptomatic să se prezinte direct la serviciul de asistență medicală primară [97,98]. În prezent, medicul de familie din asistența medicală primară efectuează o examinare clinică inițială și apoi referă pacientul la serviciul specializat în ftiziopneumologie pentru investigații și stabilirea diagnosticului de TB [99,100].

În conformitate cu ghidurile operaționale ale OMS [101], depistarea activă a TB în țările cu venituri medii și mici se bazează pe examinarea anumitor grupuri de populație cu risc sporit de îmbolnăvire. Conform Protocolul Clinic Național „Tuberculoza la adult”, versiunea publicată în 2020 [102], grupurile cu risc sporit de îmbolnăvire în Republica Moldova sunt contacții bolnavilor de TB identificați prin ancheta epidemiologică, persoanele care au suferit anterior de TB sau au sechele post-tuberculoase, persoanele HIV infectate, cele cu imunitate compromisă sau care primesc tratament imunosupresiv (tratament cortizonic, chimioterapie, radioterapie, terapie biologică anti-TNF-α), pacienții cu diabet zaharat, boli psihice sau internați în instituții specializate, migranții, persoanele fără adăpost, personalul din echipele de asistență medicală urgentă și din instituțiile specializate în ftiziopneumologie [98,99].

Introducerea și utilizarea pe scară largă a testului GeneXpert MTB/RIF a îmbunătățit stabilirea diagnosticului și a redus atât timpul de inițiere a tratamentului, cât și timpul de confirmare a cazurilor cu TB rezistentă la medicamente, astfel reducând transmiterea TB în rândul populației generale, cât și transmiterea nosocomială. Astfel, putem concluziona că îmbunătățirea serviciilor de diagnosticare au jucat un rol important în reducerea poverii TB.

1.5 Importanța secvențierii întregului genom al *Mycobacterium tuberculosis*

Pentru o perioadă extinsă de timp, instrumentele de genotipare moleculară au fost utilizate pentru a defini lanțurile de transmisie a clusterelor de tulpini de *Mtbc*. Pentru o astfel de analiză sunt utilizate o varietate de instrumente, cum ar fi: prezența/absența secvențelor distanțiere (Spoligotyping), lungimea modelelor repetate în tandem (24-loci-MIRU-VNTR) sau, mai recent, prin secvențierea întregului genom micobacterian (WGS). Fiecare metodă a fost propusă ca tehnică de genotipare în calitate de standard de aur pentru detectarea evenimentelor de transmisie într-un anumit interval de timp, iar selectarea metodei optime pentru o anumită întrebare este dificilă, deoarece parametrii importanți (de exemplu, intervalul de timp pe care îl poate cuprinde un anumit focar) nu sunt bine definite [103].

Secvențierea întregului genom, ca instrument de diagnostic molecular, a fost foarte dezvoltat în cercetarea TB începând cu anunțarea primei secvențe complete a genomului H37Rv în 1998. Raportarea sensibilității și specificității pentru unele medicamente antituberculoase comune au fost de peste 80% [104] [105], dar puține studii au evaluat prognozarea TB RR/MDR și XDR pe baza WGS [106].

Studiile naționale privind rezistența la medicamente efectuate între 2006 și 2017 au evidențiat o creștere a prevalenței TB RR/MDR în rândul noilor cazuri de la 5,0% în 2000 la 26% în 2017, iar în rândul pacienților tratați anterior, de la 33,2% la 56% în baza datelor din Registrul Național al TB (SIME TB) [107,108]. Pentru a investiga baza genomică a tuberculozei rezistente în Republica Moldova, cercetătorii au efectuat secvențierea întregului genom al izolatelor de micobacterii de la 190 de pacienți cu tuberculoză sensibilă la medicamentele antituberculoase, TB RR/MDR (non-XDR) și TB XDR care au fost identificate și colectate ca parte al studiului TB-portal [109]. Studiul a implicat analiza genomică a 278 de izolate *Mtbc* (239 rezistente și 39 sensibile la medicamente) de la 190 de pacienți diagnosticați cu TB [110]. Studiul s-a axat pe analiza izolatelor din două genotipuri dominante - H3 (Ural) și Beijing [111], care au fost distribuite aproape în proporție egală - 41% pentru Ural și, respectiv, 38% pentru grupul de linie Beijing. Analiza filogenetică bayesiană [112] a SNP-urilor genomice a demonstrat structuri evolutive diferite între probele Beijing/2.2.1 și H3/4.2.1. Testele de sensibilitate la medicamentele antituberculoase de primă și de a doua linie au fost determinate utilizând testarea sensibilității fenotipice la medicamente [110].

Studiile anterioare ale focarelor locale de TB au descoperit una sau mai multe tulpini cu o diversitate mică care circulă, ceea ce este interpretat ca dovadă a transmiterii rapide de la persoană la persoană a unei singure linii, de obicei, rezistente la preparatele antituberculoase, mai degrabă decât dezvoltarea rezistenței la medicamente în timpul tratamentului [113,114]. Prevalența

subliniilor H3/4.2.1 în Republica Moldova face dificilă determinarea cazurilor de reactivare sau reinfectare. Studiul a constatat o similitudine genomică ridicată între tulpinile circulante și o variație genomică semnificativă între probele pereche cu aceeași clasificare a liniei [115]. Acest lucru sugerează că transmiterea de la persoană la persoană a TB rezistente la medicamente este probabil mult mai frecventă decât se recunoaște în prezent. Studiul a observat, de asemenea, modele similare în sublinia Beijing/2.2.1, indicând faptul că efectul structurii genealogice a tulpinii circulante nu este specific unei singure linii [116,10,117,118]. Studiul a remarcat faptul că acoperirea scăzută a locațiilor cu SNP-uri rezistente la medicamente ar putea afecta detectarea variantelor rezistente la medicamente de frecvență scăzută în analiza lor. Unele probe discordante au avut o acoperire scăzută în aceste locuri [110].

În studiu s-a utilizat secvențierea genomică pentru a furniza dovezi convingătoare ale unei tulpini clonale predominante, cu o diversitate foarte mică în rândul probelor analizate. Această structură a populației sugerează că indivizii pot fi reinfectați de o tulpină circulantă strâns legată, la fel de frecvent ca infecția inițială care nu a fost complet eradicată prin tratament. Rezultatele studiului au constatat, de asemenea, că secvențierea genomică a furnizat dovezi convingătoare că în cazurile clasificate anterior ca recidive (folosind genotiparea specifică locusului) au fost, de fapt, reinfectarea datorită diversității genomice semnificative dintre probele pereche longitudinale [110].

Secvențierea întregului genom (WGS) a izolatelor clinice de *Mtbc* este utilizată pentru a identifica evenimentele de transmitere pe baza distanței genetice scăzute dintre tulpinile transmise [11]. Dinamica transmiterii între pacienți și persoanele de contact poate fi astfel diferențiată de evenimentele de reinfecție cu o tulpină TB RR/MDR diferită [12].

Prin aplicarea metodelor standardizate de genotipare moleculară pe un eșantion retrospectiv de izolate *Mtbc* pe parcursul anilor 2009-2011, s-a constatat că aproximativ 5% dintre pacienții cu TB pan-sensibilă la momentul inițial, au dezvoltat TB RR/MDR în timpul tratamentului în spitalele din Republica Moldova, ceea ce indică o posibilă transmitere nosocomială [119].

Combinarea rezultatelor genotipării izolatelor din complexul *Mtbc* cu datele epidemiologice tradiționale permite confirmarea sau excluderea transmiterii TB ca parte a supravegherii cazurilor cu TB [118,120]. Disponibilitatea datelor privind secvențierea întregului genom a crescut în ultimii ani, în principal datorită scăderii costurilor de secvențiere [121]. În plus, mulți cercetători partajează acum datele brute din proiectele lor în depozite publice cu acces deschis, cum ar fi Arhiva de citire a secvențelor de informații despre biotehnologie a Centrului Național pentru Biotehnologie [122]. Aceste date brute privind secvențierea întregului genom

micobacterian care sunt disponibile public pentru mii de izolate, permit reutilizarea pe scară largă și dezvoltarea de analize suplimentare și complementare [123,124].

În prezent, pentru a efectua secvențierea completă a genomului, se utilizează, în general, culturi izolate pe medii nutritive, deoarece este necesară o cantitate relativ mare de ADN, de calitate, pentru a genera date complete pentru o anumită probă. În ciuda eforturilor depuse pentru a efectua secvențierea integrală a genomului direct din spută, rezultatele sunt variabile [125].

Pentru a crește eficacitatea și a reduce costurile aplicațiilor de secvențiere, ar fi benefic să fie incluse în fluxurile de lucru pentru diagnosticarea TB, în principal al TB rezistente prin identificarea mutațiilor care răspund de un anumit fenomen de rezistență.

Este important să se țină cont de faptul că analiza și interpretarea datelor de secvențiere de următoarea generație, cât și secvențierea genomului integral, utilizate pentru a detecta rezistența la medicamentele indicate în tratamentul TB direct din probele clinice, necesită o abordare analitică standardizată, validată, coordonată și colaborativă în laboratoarele respective [126].

Metodele tradiționale de genotipare includ fingerprinting-ul ADN IS6110 [127], Spoligotyping (bazat pe CRISPR) [128] și numărul variabil de repetații în tandem ale unităților interspersate repetitive ale micobacteriilor (MIRU-VNTR) [129], care este cea mai utilizată metodă în prezent [130]. Metoda MIRU-VNTR se bazează pe numărul de copii al unei secvențe în modele de repetații în tandem derivate din 24 de loci distincte din genom [131]. Dacă doi pacienți au același model de genotipare tradițională, cum ar fi un model MIRU-VNTR de 24 de loci (sau o diferență de până la un loc [131]), sunt considerați a fi în cadrul aceleiași căi locale de transmitere.

Introducerea iminentă a secvențierii întregului genom (WGS) în laboratoarele de referință, care va înlocui în cele din urmă MIRU-VNTR, este de așteptat în curând să schimbe practicile de urmărire a contacților. În timp ce tastarea 24-loci MIRU-VNTR poate indica o legătură între două tulpini, sugerând transmiterea între două persoane, ar putea sugera, de asemenea, că două persoane au dobândit TB în aceeași zonă cu prevalență ridicată și apoi și-au reactivat boala. În Anglia, acest lucru este tipic pentru migranți sau strămutați care tind să se stabilească într-o singură regiune. Secvențierea întregului genom are mai multe beneficii față de tastarea MIRU-VNTR [132], în primul rând, permite determinarea rapidă a dovezilor genetice ale rezistenței la medicamente și poate reduce în cele din urmă costurile și poate înlocui testarea sensibilității fenotipice [133,117,134]. În al doilea rând, s-a dovedit a fi utilă în investigarea transmiterii TB, cu o rezoluție mai bună decât MIRU-VNTR, și poate indica, de asemenea, direcția de răspândire, care nu a fost posibilă anterior [135].

Deoarece rezistența la medicamente a izolatelor complexului *Mtbc* este cauzată de variații cromozomiale, predominant polimorfisme de un singur nucleotid și uneori cu inserții și deleții, [28] secvențierea integrală a genomului are potențialul de a identifica toate mutațiile asociate rezistenței la medicamente într-un anumit izolat clinic de *Mtbc* [136]. Secvențierea întregului genom a avansat foarte mult capacitatea de a urmări transmiterea directă a *Mtbc* [137], însă cu toate acestea, nu este încă pe deplin clar cum ar trebui folosite toate informațiile genetice generate de WGS.

Secvențierea integrală a genomului a expus o gamă largă de diversitate genetică în cadrul gazdei în infecția cu TB. O serie de studii au raportat cu privire la eterogenitatea micobacteriei în cadrul gazdei și implicațiile sale pentru controlul TB [120] [138]. În special, unele studii au raportat că variabilitatea genomică la un pacient cu TB poate fi mai mare decât variabilitatea observată între oricare două cazuri legate epidemiologic [120]. Alte studii au sugerat că diversitatea în cadrul gazdei poate confunda atât diagnosticul fenotipic, cât și diagnosticul molecular rapid pentru rezistența la medicamente, cu impact sever asupra eficacității tratamentului și conducând la selectarea clonelor rezistente la medicamente în timpul tratamentului [139].

Într-un studiu dezvoltat pe baza altor analize existente, pentru interpretarea mutațiilor detectate prin secvențierea țintită de generația următoare sau secvențierea întregului genom pentru medicamentele-cheie de prima și a doua linie, regulile specifice pot ajuta cercetătorii să interpreteze cel mai bine datele genetice generate de secvențiere pentru a determina profilurile complete de rezistență ale tulpinilor clinice și pentru a ghida tratamentul adecvat al infecțiilor.

A fost utilizată o abordare a experților, bazată pe consens, pentru a dezvolta o procedură standardizată pentru clasificarea mutațiilor asociate rezistenței la medicamente. Datele colectate au fost utilizate pentru a calcula frecvența fiecărei mutații în izolate *Mtbc* rezistente și sensibile, și pentru a deriva un raport de probabilitate. În această abordare, probabilitatea și cotele au fost utilizate pentru a evalua în mod obiectiv dacă mutațiile au fost asociate pozitiv sau negativ cu rezistența fenotipică. Folosind acest raționament, pragurile adoptate în mod obișnuit în medicina bazată pe dovezi au fost adaptate pentru a clasifica mutațiile *Mtbc* [140] [141] [142].

În cazul preparatului antimicrobian Isoniazidum (INH), nu au fost pe deplin clarificate mecanismele moleculare ale rezistenței față de *Mtbc*, cele mai frecvente mutații care conferă rezistență la izoniazidă au fost observate în regiunile genei katG și fabG1/inhA sau mabA/inhA [143]. Revizuirea a inclus date colectate din 127 de studii care au analizat tulpini izolate din 42 de țări în perioada anilor 1992-2014. Pentru a estima sensibilitatea și specificitatea detectării rezistenței la INH utilizând mutațiile identificate în revizuirea lui Miotto ca predictor, s-au utilizat doar mutațiile cu grad de încredere înalt, mediu și scăzut. Sensibilitatea și specificitatea estimată

pentru detectarea rezistenței la INH au fost de 78% (95%IC: 77,6-79,1) și, respectiv, 100,0% (95%IC: 99,7-100,0). Este important de menționat că această estimare nu a inclus mutațiile asociate cu rezistența fenotipică la INH, care nu au putut fi clasificate din cauza datelor insuficiente [144].

În cazul RIF, un alt antibiotic de primă linie utilizat în tratamentul TB, rezistența acesteia față de *Mtbc* este cel mai frecvent asociată cu mutații într-o regiune bine definită, de 81 de perechi de baze a genei rpoB [145]. În general, mai mult de 95% din *Mtbc* rezistente la RIF au mutații care apar în această regiune și care determină rezistența la RIF [146] [28].

Un alt studiu care a fost efectuat în nordul orașului Lima, Peru, între anii 2009 și 2012, care a investigat transmiterea TB în familii cât și rezultatele tratamentului antituberculos. În această perioadă au fost colectate șaizeci și trei de izolate de TB, iar cel mai mare grup de izolate (n=148) a fost selectat pentru secvențiere pe baza disponibilității culturii pentru extragerea ADN-ului. Cultura de pe mediul solid Lowenstein-Jensen a fost utilizată pentru a crește bacteriile din specimene de spută, iar testarea sensibilității la medicamente a fost efectuată pe toate culturile pozitive. A fost constatat că metodele tradiționale de genotipare au o rezoluție mai mică în identificarea clusterelor de transmisie în comparație cu secvențierea întregului genom, în special, atunci când se ia în considerare variația regiunilor. Proporția diversității genomice legată direct de rezistența la medicamente a fost, de asemenea, identificată a fi scăzută și s-a sugerat că rata lentă a evoluției modelului MIRU-VNTR de-a lungul deceniilor ar putea explica gradul ridicat de diversitate genomică observată. Cu toate acestea, MIRU-VNTR poate oferi în continuare o rezoluție suficientă în setările de prevalență scăzută, unde majoritatea cazurilor de TB tind să fie importate [133] [117]. Pe parcursul studiului au fost identificate multe legături genomice folosind un prag de distanță SNP ≤ 5 care nu au fost descoperite în cadrul investigațiilor de contact ale familiilor, oferind dovezi că transmiterea tuberculozei poate avea loc oriunde în comunitate și că numai investigația contacților din cadrul familiilor poate să nu fie suficientă pentru a identifica și trata cazurile secundare de TB [42].

Mai multe studii epidemiologice moleculare din Africa Subsahariană și zonele rulare ale Vietnamului [147] sugerează că cea mai mare transmitere a *Mtbc* are loc între gospodării, mai degrabă decât în interiorul acestora, ceea ce subliniază importanța identificării setărilor semnificative pentru transmitere. Intervențiile specifice pot fi implementate pe baza acestor cunoștințe pentru a îmbunătăți controlul infecțiilor și identificarea activă a cazurilor. Unitățile sanitare, în special, în zonele endemice de HIV, reprezintă un cadru critic pentru transmiterea TB din cauza mixului de pacienți infecțioși cu persoane sensibile la infectare. Întârzierile în diagnosticare și izolarea cazurilor infecțioase cresc riscul transmiterii nosocomiale [148] [149].

Autorii cercetării „Studiul dinamicii transmisiei izolatelor de tuberculoză cu secvențierea întregului genom în sudul Suediei” au efectuat o analiză a legăturilor epidemiologice cu genotiparea într-o țară cu o povară scăzută, unde TB în cea mai mare parte este raportată la migranți și la persoanele fără adăpost. Incidența scăzută a TB în țară reprezintă o provocare pentru urmărirea epidemiologică a contactului, care este crucială pentru controlul și prevenirea răspândirii infecțiilor [150] [128] [151]. Pentru a aborda acest lucru, studiul a folosit comunicarea personală ca bază pentru urmărirea epidemiologică, urmată de genotiparea tulpinilor izolate [152]. Populația studiului a fost formată din izolate de la 801 de pacienți cu TB, eligibili și care au urmat tratament pe parcursul anilor 2004 și 2014 din cadrul a patru clinici de boli infecțioase și o clinică pediatrică din județul Scania, Suedia. Ultimele 93 de izolate au fost selectate pentru secvențierea întregului genom datorită conexiunilor epidemiologice în perechi sau grupuri. Majoritatea pacienților erau adulți la momentul diagnosticării, iar TB pulmonară a fost cea mai frecventă formă de TB. În comparație cu metodele tradiționale de genotipare și de urmărire epidemiologică, secvențierea integrală a genomului a avut o potrivire generală ridicată în identificarea transmisiilor de grup în această populație de pacienți cu sarcină redusă [153]. Cu toate acestea, studiul a constatat, de asemenea, că metoda de genotipare MIRU-VNTR a grupat opt pacienți suplimentari în comparație cu WGS, ceea ce este în concordanță cu alte studii care sugerează că MIRU-VNTR supraestimează transmiterea *Mtbc* în țările cu incidență scăzută [152] [154].

Studiul a evidențiat provocarea depistării contactului epidemiologic la sub-populațiile cu abuz de alcool și/sau droguri, persoanele fără adăpost, condiții de viață precare și vârstă înaintată. Aceste populații sunt mai sensibile de a avea tulpini endemice care pot provoca focare de TB, ceea ce face dificilă identificarea țării de infecție și măsurarea eficacității controlului TB în Suedia [155]. Un punct forte al studiului este acoperirea ridicată între legăturile epidemiologice și WGS, ceea ce a permis identificarea izolatelor TB cu o identitate comună a tulpinii, care se deosebesc doar printr-un număr mic de SNP-uri într-o comparație pe perechi. Studiul a constatat, de asemenea, că o întrerupere de 12 SNP-uri a fost valabilă în Suedia (țară cu incidență prin TB joasă). Cu toate acestea, studiul a remarcat că, deși WGS oferă o rezoluție crescută față de clusterizarea bazată pe MIRU-VNTR, este posibil să nu fie suficientă pentru rezolvarea completă a lanțurilor de transmisie [152,156,117].

Studiile efectuate pe diferite cohorte din Republica Moldova au demonstrat că cohorta TB RR/MDR este în mare parte împărțită în două genotipuri: Ural și Beijing [25] [10] [157] [158]. În articolul „Transmitere nosocomială recentă și genotipuri de *Mycobacterium tuberculosis* multidrog rezistentă”, autorii prezintă o desfășurare geografică a genotipului molecular Beijing. În Letonia, Japonia și regiunea Mării Aral din Asia Centrală, majoritatea izolatelor cu rezistență TB

RR/MDR aparțin genotipului molecular Beijing [159,160,161]. În Letonia și în alte țări din fosta Uniune Sovietică, există un procent ridicat de genotipuri Beijing în rândul cazurilor de TB RR/MDR, în timp ce în Japonia și Vietnam, doar un procent mic din genotipurile Beijing izolate au avut TB RR/MDR [162,163]. În Letonia, tipul molecular Beijing este asociat cu o rată ridicată de TB RR/MDR, care este, de asemenea, tipic pentru țările din fosta Uniune Sovietică. Prevalența genotipului familiei Beijing variază între diferite țări și nu este neapărat asociată cu rezistența la medicamente [164,165].

Asociere puternică între transmiterea recentă a TB, rezistența la medicamente multiple și genotipul Beijing din regiunea baltică a fost reflectată într-un alt studiu de referire [166,167]. Din cele 73 de cazuri de tuberculoză TB RR/MDR, 74% au fost grupate, indicând o transmitere recentă, în timp ce doar 34% dintre cazurile sensibile la medicamente au putut fi grupate [168]. Japonia nu a arătat o diferență în ratele de grupare între TB RR/MDR R și izolatele sensibile la medicamente [169,170,171]. Legăturile epidemiologice au fost găsite în 32% din cazurile de TB RR/MDR grupate în spitale, iar proporția scăzută a legăturilor epidemiologice care utilizează metode convenționale de urmărire a contactelor sugerează necesitatea unei combinații de metode convenționale și moleculare în investigarea clusterelor. Studiile efectuate în nordul Olandei și Norvegia au descoperit proporții mai mari de conexiuni epidemiologice în rândul cazurilor de TB RR/MDR grupate [172,173].

Ratele ridicate de grupare a tipurilor moleculare a *Mtbc* RR/MDR indică transmiterea continuă a TB rezistente în populația studiată, spitalizarea în secțiile de TB fiind cel mai semnificativ factor de risc pentru transmiterea recentă. Tratamentul anterior este recunoscut ca fiind cel mai puternic factor de risc pentru TB RR/MDR, potrivit unei revizuiri recente [164].

Capacitatea WGS de a deduce cu încredere evenimente de transmitere directă pe baza distanței genetice în cadrul studiului nostru este limitată de clonalitatea ridicată a câtorva grupuri cu prevalență ridicată, unde 92% dintre tulpinile TB RR/MDR din Republica Moldova aparțin unor grupuri presupuse de transmitere [158]. În cadrul articolului este descrisă circulația recentă a 3 clustere distincte de *Mtbc* (1 din linia Ural și 2 din linia Beijing) responsabile pentru marea majoritate a cazurilor de TB RR/MDR în Moldova. În timp ce aceste clustere împărtășesc mutații similare care conferă rezistență INH și RIF, există mutații în clustere suplimentare specifice care conferă rezistența la preparatele antituberculoase importante de linia a doua și critice pentru succesul tratamentului TB RR/MDR. Rețelele largi de transmitere bazate pe asemănarea genomică au arătat că >85% din toate cazurile de TB cu cultură pozitivă din Republica Moldova ar putea fi cartografiate în grupuri presupuse de transmitere și că majoritatea (>54%) dintre aceste cazuri au fost găsite în 35 de grupuri mari de transmisie [158].

Rolul transmiterii recente a fost și mai pronunțat pentru cazurile de TB RR/MDR, printre care > 92% au fost găsite în grupuri de transmitere presupuse (și > 67% găsite în cadrul celor 35 de grupuri mari de transmitere). Persoanele cu TB RR/MDR au avut șanse de peste 3 ori mai mari de a se afla într-un grup mare de transmitere în comparație cu persoanele cu TB pan-sensibilă. Alte co-variabile notabile asociate cu șansele crescute de a fi într-un grup mare de transmitere au inclus reședința urbană, încarcerarea anterioară și antecedentele de tratament anterior pentru TB. În cadrul studiului s-a descoperit că perechile cu perioade mai apropiate de diagnostic și care trăiesc în aceeași localitate au avut cea mai mare similitudine genomică și că pentru perechile din localități diferite, proximitatea spațială mai apropiată a fost asociată cu o asemănare genomică mai mare [158]. Această analiză dezvăluie că eterogenitate este asociată cu multiplele epidemii suprapuse de TB RR/MDR transmise, dintre care unele se datorează clusterelor care s-au extins în întreaga țară, în timp ce altele sunt până acum limitate la anumite subregiuni. Cel mai remarcabil fiind faptul că cele mai mari 2 grupuri de transmitere ale liniei Beijing se găsesc în apropierea Transnistriei, unde, în unele localități, ratele de incidență a TB RR/MDR depășesc 200 de cazuri la 100.000 de persoane/an [158].

Analizele anterioare ale datelor de supraveghere au relevat o eterogenitate spațială uimitoare a TB RR/MDR în Moldova, iar incidența TB RR/MDR fiind diversă pentru diferite localități ale țării [174].

Un studiu genomic raportat recent, efectuat în rândul pacienților diagnosticați cu TB în perioada anilor 2013 și 2014 din cadrul spitalului municipal din Chișinău, a descris concentrația locală de izolate din linia 4.2.1 Ural printre TB RR/MDR [25]. În studiul realizat mai mult de 6 ani la nivel național, s-a constatat că izolatele MDR din această linie sunt prezente în toată țara și se află în mod obișnuit în clusterele de transmisie, deși până acum acest lucru a fost raportat doar sporadic în afara Republicii Moldova [175]. Studiile anterioare au descoperit că această descendență este responsabilă pentru TB RR/MDR din cauza reinfectării [10]; acum este evident că aceste tulpini RR/MDR sunt transmise frecvent în mediul comunitar. Evaluările regionale au sugerat un rol important al liniilor Beijing și Ural în epidemiile actuale de TB [176]; studiile actuale confirmă și se bazează pe aceste date perspective, dezvăluind la rezoluție înaltă dinamica suprapusă a acestor două clustere în Republica Moldova [158].

Pe lângă factorii de mediu și de gazdă, factorii bacterieni ar trebui, de asemenea, să fie luați în considerare atunci când se încearcă înțelegerea evenimentelor semnificative de transmitere. Analiza WGS combinată cu un model simplu de infecție *in vitro* poate servi ca o platformă rapidă de screening pentru variante strâns legate. În cazul în care factorii bacterieni se dovedesc a fi implicați, sunt necesare investigații suplimentare asupra genelor candidate și a polimorfismelor

pentru a le caracteriza temeinic și, în cele din urmă, pentru a defini determinanții virulenței *Mtbc*, transmisibilității sau evaziunii sistemului imunitar [177].

Aplicarea abordărilor bazate pe secvențierea întregului genom pentru analiza similarității izolatelor de *Mtbc* și determinarea clusterelor este cunoscută pentru puterea sa discriminatorie ridicată în evaluarea dinamicii de transmitere [178] [179] [180] [117] [181], fie utilizând tipizarea secvențelor multicentrice ale genomului de bază (cgMLST) [182] [178], fie distanțele SNP [118] [117] [180] [183]. Abordările bazate pe WGS compară relația genetică dintre genotipurile tulpinilor clinice luate în considerare, deși de obicei excluzând porțiunile mari și repetate ale genomului (10% numai pentru genele PE/PPE) [184], cu presupunerea că tulpinile extrem de similare sunt legate printr-un eveniment recent de transmitere [118] [117].

În cadrul studiului „Secvențierea întregului genom al *Mycobacterium tuberculosis* pentru predicția rezistenței la medicamente" [106], au fost selectate un total de 215 izolate de *Mtbc*, pentru analiza mutațiilor genetice, cu 137 de tulpini colectate din Shanghai și alte 78 de tulpini din Rusia. Cea mai răspândită mutație care conferă rezistență la medicamente pentru rifampicină a fost rpoB Ser450Leu. WGS a fost capabil să prezică un procent ridicat de tulpini rezistente fenotipic pentru RIF și EMB, cu 88,37% și respectiv 82,07% pentru tulpinile interne din China și 38,30% și, respectiv, 72,33% pentru tulpinile din Rusia. Cea mai comună mutație pentru tulpinile rezistente la EMB fenotipic a fost embB Met306Val. Cu toate acestea, sensibilitatea și specificitatea WGS în prezicerea rezistenței la medicamentele de linia a doua au fost mai scăzute în comparație cu medicamentele de linia întâi [106].

Aceste constatări sugerează că WGS are potențialul de a servi ca un instrument valoros în prezicerea rezistenței la medicamente antituberculoase, în special, pentru medicamentele de primă linie, și ar putea fi folosite pentru a ghida deciziile de tratament și a limita răspândirea tulpinilor rezistente [106].

Analiza lui Mortensen B., cu privire la utilizarea WGS în diferite setări a arătat că, în timp ce modelele complexe de contact și posibilitatea de răspândire consecutivă a izolatelor similare fac dificilă delimitarea dinamicii TB în medii cu incidență ridicată, mai multe studii au aplicat cu succes WGS pentru investigațiile focarelor, atât în regiuni cu incidență scăzută, cât și în regiunii cu incidență ridicate. În plus, ratele estimate de mutație *Mtbc* de 0,3-0,5 SNP [118] [180] [185] [186] per genom pe an sunt similare cu rata globală de mutație de 0,47 SNP per genom pe an. Deși stabilirea unui prag mai mic specific pentru transmiterea probabilă este dificilă din cauza evoluției intrapacient și a infecțiilor mixte [139] [187] [188], WGS poate identifica în continuare sub-clustere mai mici în cadrul unor clustere genomice mai mari, permițând detectarea evenimentelor de transmisie în regiuni cu incidență ridicată. În cele din urmă, combinația dintre WGS și datele

epidemiologice oferă o înțelegere unică a expansiunii clonale de *Mtbc*, făcând supravegherea bazată pe WGS un instrument promițător pentru acțiuni de sănătate publică direcționate [183].

1.6 Transmiterea nosocomială a TB și politici în controlul infecției

Transmiterea TB se face prin contactul direct cu o persoană infectată care elimină bacteriile în aer prin tuse, strănut sau vorbit. De obicei, pentru a se răspândi, bacteria trebuie să fie inhalată de către o persoană sănătoasă și să ajungă în plămâni, unde poate dezvolta boala. Este important de reținut că, deși oricine poate fi infectat cu bacilul TB, un sistem imunitar sănătos poate preveni dezvoltarea bolii, iar respectarea măsurilor de prevenire și control poate reduce riscul de transmitere a acesteia.

Principalul factor care conduce epidemia de TB RR/MDR în Europa de Est, este transmiterea activă a complexului *Mtbc* rezistent la tratamentul medicamentos în cadrul comunităților [25].

Transmiterea nosocomială. Fenomenul transmiterii intraspitalicești a TB devine o problemă actuală și o provocare majoră pentru un control eficient al TB. Prezența acestuia în staționarele de ftiziopneumologie ar putea expune riscului de transmitere a bolii, în special, a TB rezistente printre pacienții spitalizați, a persoanelor care îi vizitează, dar și a personalului medical.

Transmiterea în spitale și clinici poate fi redusă prin utilizarea abordărilor, precum: găsirea activă a cazurilor de TB nediagnosticate prin supravegherea tusei și utilizarea metodelor de diagnostic molecular rapid, izolarea în condiții de siguranță și asigurarea tratamentului adecvat [189]. Studiul operaţional, realizat în anul 2012, „Studierea fenomenului de transmitere nosocomială a tuberculozei multidrogrezistente prin analiza genotipică a diversităţii ADN a tulpinilor *Mycobacterium tuberculosis*" a constatat prezenţa fenomenului transmiterii intra-spitalicești. Rezultatele studiului au demonstrat re-infectarea cu TB în 68% cazuri, subliniând că internarea pentru izolare și tratament a pacienţilor cu TB în spitale ar putea favoriza creșterea numărului de cazuri cu TB forme rezistente. Acestea, la rândul său, suportă costuri sistemice mult mai mari pentru îngrijire și tratament. Epidemia de TB RR/MDR din Republica Moldova este asociată cu transmiterea locală a mai multor tulpini de *Mtbc*, inclusiv clustere distincte de *Mtbc* cu o rezistență înaltă la medicamente, cu distribuții geografice și profiluri de rezistență la diferite medicamente. Datele studiului demonstrează rolul supravegherii genomice cuprinzătoare pentru înțelegerea transmiterii *Mtbc* și evidențiază urgența intervențiilor pentru întreruperea transmiterii *Mtbc* foarte rezistentă la medicamente [158].

Transmiterea infecției TB în spitale rezultă în a fi o cauză majoră de eșec al tratamentului în regiunile cu o incidentă înaltă de TB. Această constatare evidențiază importanța finalizării

tratamentului, întru prevenirea cazurilor de recidive timpurii şi excluderea pericolului infectării altor persoane [190]. Analizele existente arată un risc crescut de contaminare încrucișată în secțiile TB. Conducând o analiză comparativă, experienţa internaţională evidențiază faptul că aceasta este o problemă specifică a ţărilor cu economie în tranziţie, condiționată de predominanța unui număr mare de TB RR/MDR în spitale, aceasta fiind, la rândul ei, un rezultat al deficiențelor în managementul cazurilor de TB RR/MDR şi al lipsei experienţei. Însă, cu regret, în majoritatea spitalelor de TB (atât din ţară, cât şi în ţările din regiune) amploarea şi cauzele transmiterii nosocomiale a TB nu este studiată suficient [190], inclusiv transmiterea nosocomială a *Mtbc* rezistente la medicamente în timpul spitalizărilor prelungite [9] [10].

În unele dintre fostele state membre ale Uniunii Sovietice, persoanele bolnave de TB, în special, cei infectați cu TB rezistentă la tratamentele medicamentoase, ajung a fi spitalizați pentru perioade îndelungate de timp, iar transmiterea TB poate avea loc din cauza condițiilor spitalicești, care au măsuri inadecvate de control al infecțiilor [191]. Unele studii remarcă îngrijorări cu privire la reinfectarea cu tulpini TB RR/MDR în timpul tratamentului în spitale [192] [193].

În urma unui studiu inițiat de ideea transmiterii TB rezistente în spitalele de profil din țară, au fost selectate și studiate rezultatele a 196 de tulpini pare, recoltate de la 98 de pacienţi cu TB. Dintre acestea 182 tulpini *Mtbc* au fost izolate de la pacienţii din prima grupă (pacienţii cu TB cazuri noi și recidive, re-tratamente după eşec sau abandon) şi 14 tulpini de la pacienții din grupa a doua (pacienţii din cadrul proiectului European FP7) [190]. Pentru toți acești pacienți prima probă izolată a fost cea din sputa recoltată la internare în staționar, iar cea de a doua, din sputa recoltată după câteva luni de tratament. În urma studierii a 134 de tulpini *Mtbc*, s-a demonstrat că genotipul cu cel mai mare grad şi proces de răspândire şi care a fost cel mai predispus de a transmite infecția printre pacienții examinați în acest studiu este genotipul Ural. Identificarea tulpinilor cu un potențial de răspândire foarte rapid fiind un criteriu epidemiologic de o importanță majoră [190].

Prin urmare, cu ajutorul rezultatelor obținute în urma utilizării metodei DNA fingerprinting (RFLP), a fost constatat că din numărul total de pacienți participanți în cadrul studiului, în cadrul a 42,9% dintre cazuri a fost identificată o re-infectare cu o altă tulpină, acest rezultat presupune fenomenul de transmitere nosocomială [190].

Din punct de vedere istoric, testarea fenotipică a sensibilității la preparatele antimicobacteriene a fost standardul de referință; cu toate acestea, infrastructura, cerințele tehnice și timpul îndelungat de răspuns a afectat extinderea și impactul utilizări [194]. În ultimul deceniu, testarea sensibilității cu utilizarea metodelor moleculare (de exemplu, GeneXpert MTB/RIF [Cepheid, Sunnyvale, CA, SUA]) sau teste cu sondă pe linie (de exemplu, Genotip MTBDRplus

și Genotip MTBDRsl [Hain Lifescience, Nehren, Germania]) a înlocuit testarea sensibilității fenotipice [191], fie a fost utilizat în paralel sau secvențial, cu toate că vizează doar un număr mic de mutații care cauzează rezistență.

Deși detectarea rapidă și precisă a TB este un factor-cheie în controlul răspândirii bolii, succesul tratamentului se bazează în mare parte pe informații precise cu privire la sensibilitatea la medicamentele antituberculoase, în special, în cazurile care manifestă rezistență la medicamente [195] [196]. Odată cu introducerea medicamentelor și regimurilor noi de tratament, este esențial să se ofere un profil de sensibilitate la medicamente pentru pacienții cu TB pentru a selecta terapii eficiente [197] [198] [199] [200] [201].

Transmiterea nosocomială a TB RR/MDR a fost constatată prin unități repetitive intercalate micobacteriene cu 24 de locusuri - număr variabil de repetări în tandem (MIRU-VNTR) și spoligotipare în cadrul a patru spitale din Republica Moldova. Rezultatele studiului au determinat că 5,1% dintre pacienții cu TB pan-sensibilă la momentul inițial au fost identificați cu TB RR/MDR în timpul tratamentului spitalizat, iar în 75% din cazuri, tulpina TB RR/MDR a fost diferită genetic de tulpina non-MDR-TB la momentul inițial, sugerând o rată ridicată de transmitere nosocomială a TB RR/MDR. Cea mai mare proporție (40,3%) dintre izolatele TB RR/MDR de urmărire a fost asociată cu tulpina *Mtbc* genotipul Ural 163-15 [202]. De menționat că, într-un studiul realizat în anul 2010 în Letonia, se accentuează faptul că transmiterea nosocomială a TB RR/MDR se datorează măsurilor inadecvate de control al infecțiilor în spitale [164].

Într-un studiu realizat în Republica Moldova în perioada anilor 2010-2019, s-a efectuat o analiză genomică retrospectivă și prospectivă asupra cazurilor de TB cu cultură pozitivă diagnosticate în perioada de studiu. Au fost examinate tulpinile de *Mtbc* izolate de la pacienții cu TB din diferite regiuni ale țării în perioada 2010-2017, iar pentru studiul prospectiv s-au utilizat izolatele diagnostice inițiale din toate cazurile de TB cu cultură pozitivă apărute în perioada 2018-2019. În cadrul acestui studiu, au fost incluse, în special, tulpini de la pacienții cu forme severe de TB, dintre care doar 38,2% (n = 717) au fost sensibile la medicamente, în timp ce 61,8% (n = 1160) au prezentat rezistență la cel puțin INH și RIF. Dintre toate izolatele, 55,3% (n = 1014) au aparținut genotipului Ural (Lineage 4/sublineage 4.2.1), iar 43,8% (n = 804) au aparținut genotipului Beijing (Lineage 2/ sublineage 2.2.1). Analiza cartografică a relevat modele geografice distincte pentru cele trei grupuri majore TB RR/MDR: grupul 1, cuprinzând 243 de izolate Ural/ sublineage 4.2.1 care au fost distribuite pe scară largă, în timp ce grupul 2 și 3, care conțineau 102 și 121 tulpini Beijing/ sublineage 2.2.1, au fost concentrate în regiunea Transnistria [35]. Prin utilizarea rețelelor largi de transmisie bazate pe asemănarea genomică, s-a descoperit că peste 85%

din cazurile de TB cu cultură pozitivă din Republica Moldova pot fi atribuite grupurilor presupuse de transmitere, iar majoritatea acestor cazuri (>54%) se găsesc în 35 de grupuri mari de transmisie. De asemenea, s-a constatat că persoanele cu TB RR/MDR prezintă un risc de peste trei ori mai mare de a fi incluse într-un grup mare de transmitere în comparație cu cele cu TB sensibilă [35].

Conform unui studiu efectuat în 2010 în scopul evaluării activității staţionarelor de ftiziopneumologie din Republica Moldova, durata spitalizării pacienților cu TB activă a variat, la adulți, de la 51,2 zile în 2005 la 68,7 zile în 2010. Eficacitatea tratamentului antituberculos a fost evaluată la 2 585 pacienți, 82,8% dintre pacienții cu TB pulmonară bacteriologic pozitivi cazuri noi și 63,0% dintre pacienții cu retratamente prezentând conversia sputei. Pacienții cu TB pulmonară limitată cu bacterioscopie negativă au fost spitalizați în medie timp de 50 zile și au fost externați cu o îmbunătățire clinică semnificativă [203] [204]. Studiul a concluzionat că durata spitalizării pentru pacienții cu TB activă s-a majorat în timp. Cu toate acestea, la momentul desfășurării studiului s-a observat tendința pozitivă de reducere a duratei spitalizării, ceea ce a fost apreciat drept un bun rezultat. Durata spitalizării a variat de la un nivel la altul al spitalelor, spitalele regionale prezentându-se cu o durată medie de spitalizare mai scurtă [203].

Se conturează considerente de politici care ar trebui să pună accent pe managementul efectiv al tratamentului timpuriu, prin implementarea pe larg a tratamentului TB în condiții de ambulatoriu pentru a preveni transmiterea nosocomială, precum și asigurarea accesului universal la diagnosticul rapid al TB pentru a preveni dobândirea și transmiterea rezistenței la medicamentele antituberculoase [193].

Politici în controlul infecției. Întreruperea ciclului de transmitere a *Mtbc* este crucială pentru un control eficient al TB. Sunt necesare de a fi implementate intervenții care să permită identificarea rapidă a cazurilor sursă și a împiedica transmiterea de la persoană la persoană, prin reducerea concentrației de particule infecțioase în aer și a timpului de expunere a persoanelor sensibile pentru infecție. Aceste principii formează baza pentru prevenirea și controlul eficient al infecțiilor.

Controlul infecției TB este o combinație de măsuri menite să reducă la minimum riscul de transmitere a TB. Principiul de bază a controlului infecției este diagnosticarea rapidă și timpurie, precum și gestionarea adecvată a pacienților cu TB [13] [14].

Primele recomandări globale ale OMS referitoare la implementarea Controlului Infecției TB au fost elaborate și publicate în 1999 [205] [206] și ulterior adaptate pe parcursul anilor [15]. Recomandările recent actualizate de către OMS [15] prevăd o serie de măsuri orientate spre un control al infecției, care necesită a fi implementate la toate nivelurile, inclusiv la nivel de comunitate cu accent centrat pe persoană. Se includ principii cu activități de control la nivel

național, la nivel de instituții medicale de tip staționar și ambulatoriu, locuri aglomerate și comunități, nivel de focar, urmărirea contacților și individual.

Pentru nivelul național sunt elucidate 6 activități, precum: 1) identificarea și consolidarea unei entități de coordonare pentru Controlul Infecției TB, elaborarea unui plan, inclusiv cu buget și resurse umane pentru implementarea controlului infecției TB la toate nivelurile; 2) asigurarea proiectărilor, construcțiilor și renovărilor ce asigură principiile de bază ale controlului infecției; 3) supravegherea bolii TB în rândul lucrătorilor din domeniul sănătății; 4) abordarea activității de advocacy, comunicare și mobilizare socială pentru controlul infecției TB, inclusiv implicarea societății civile; 5) monitorizarea și evaluarea setului de măsuri de control al infecției cu TB; 6) activarea și desfășurarea cercetării operaționale. Alte 6 principii de control și 7 recomandări specifice sunt prevăzute pentru nivelul instituțiilor medicale ce asigură tratamentul TB. Acestea sunt axate, în special, pe: 1) implementarea setului de activități manageriale la nivel de instituție; 2) identificarea cu promptitudine a persoanelor cu simptome de TB, separarea pacienților infecțioși, eticheta tusei și igiena respiratorie, minimizarea timpului petrecut în instituțiile medicale; 3) intervenții de prevenire și îngrijire pentru lucrătorii din domeniul sănătății; tratamentul profilactic 4) utilizarea sistemelor de ventilație (naturală, mecanică); 5) utilizarea dispozitivelor de iradiere germicide cu ultraviolete sau ecranate; 6) protecției respiratorie.

1.7 Concluzii în baza capitolului 1

Deși *Mtbc* este o bacterie care cauzează TB, o boală respiratorie care afectează milioane de oameni, măsurile eficiente de prevenire și control, tratamentul adecvat poate crește semnificativ nivelul de recuperare, ajutând pacienții să se însănătoșească complet, reducând, astfel, probabilitatea de transmitere la alte persoane.

Există categorii de persoane (infectate cu virusul HIV; care urmează tratament cu imunosupresoare sau suferă de boli cronice precum diabetul zaharat; care trăiesc în condiții precare de igienă sau care sunt expuse la riscuri profesionale, cum ar fi lucrătorii din sectorul sănătății) mai sensibili la infecția cu *Mtbc*, inclusiv formele severe de TB, cum ar fi TB RR/MDR.

În Republica Moldova, apariția tulpinilor de TB RR/MDR reprezintă o provocare semnificativă pentru eforturile de control ale TB. În plus, transmiterea nosocomială a TB este o preocupare majoră, deoarece spitalele și unitățile de asistență medicală pot fi surse de infecție pentru populațiile cu risc de a dezvolta TB. Pentru a face față acestor provocări, secvențierea întregului genom s-a dovedit a fi un instrument valoros pentru identificarea sursei focarelor de tuberculoză și urmărirea transmiterii tulpinilor de *Mtbc*, care este crucială pentru punerea în aplicare a unor măsuri eficiente de control. Prin urmare, supravegherea sistematică, diagnosticarea

timpurie și tratamentul eficient sunt esențiale pentru controlul TB și prevenirea răspândirii acesteia.

Capacitatea WGS de a deduce cu încredere evenimente de transmitere directă pe baza distanței genetice este limitată din cauza clonalității ridicate a câtorva grupuri cu prevalență ridicată, unde 92% dintre tulpinile TB RR/MDR din Republica Moldova aparțin unor grupuri presupuse de transmitere [158]. Rețelele largi de transmitere, bazate pe asemănarea genomică, au arătat că >85% din toate cazurile de TB cu cultură pozitivă din Republica Moldova ar putea fi cartografiate în grupuri presupuse de transmitere și că majoritatea (>54%) dintre aceste cazuri au fost găsite în 35 de grupuri mari.

2 MATERIALE ȘI METODE

2.1 Caracteristici generale privind metodologia de cercetare

Prezenta lucrare este una comprehensivă, structurată pe etape [207] și desfășurată după modelul liniar; bazată pe analiza documentelor relevante domeniului și cercetări operaționale, precum studiul observațional prospectiv în rândul pacienților și studiul descriptiv în rândul personalului medical.

Etapizarea lucrării a cuprins pentru etapa I studierea revistei literaturii de specialitate, documentarea bibliografiei existente pe domeniul cercetat, inclusiv analiza documentelor de politici naționale și internaționale relevante domeniului.

Pentru etapa II-a a fost dezvoltat design-ul și elaborată metodologia cercetării. Luând în considerație că prezenta lucrare s-a bazat pe două cercetări, au fost dezvoltate design-uri separate pentru eșantioanele studiate (pacienți și personalul medical). S-a stabilit modalitatea de eșantionare, s-a proiectat planul și modalitatea de colectare a materialului primar și s-a determinat aplicarea metodele de laborator.

Etapa III-a a prezentei cercetări s-a focusat pe acumularea materialului primar și aplicarea metodelor de laborator pentru eșantionul de pacienți; s-a elaborat chestionarul și s-a aplicat personalului medical; s-au operaționalizat variabilele, prelucrând și analizând datele colectate în baza carora s-au formulat concluziile.

Protocolul studiului a fost discutat și aprobat la ședința catedrei Microbiologie, Virusologie și Imunologie, proces-verbal nr. 06 din 19 decembrie 2013 și la ședința Seminarului Științific de profil 03.00.07 Microbiologie (313.02 Microbiologie, virusologie medicală, 164.03 Microbiologie, proces-verbal nr. 02 din 26 decembrie 2013.

Bazându-ne pe rezultatele extrase și pe concluziile obținute urmare a revistei literaturii de specialitate și a documentației de politici existente și relevante domeniului, au fost conturate ipoteza, scopul și obiectivele prezentei cercetări.

2.2 Proiectarea și design-ul cercetării

Studiul privind cercetarea fenomenului transmiterii nosocomiale a infecției tuberculoase și evaluarea factorilor de risc asociați cu transmiterea TB MDR în condiții de staționar.

Cercetarea s-a bazat pe modelul studiului observațional prospectiv, întrucât acesta a fost unul inovativ și unic. În vederea realizării studiului, a fost aplicată următoarea strategie:

Etapa I. Au fost colectate listele pacienților cu diagnosticul stabilit de TB sau cu diagnostic sugestiv pentru TB, care au fost internați în perioada 01 iulie 2014 până pe 30 iunie 2015, în

secțiile clinice din cadrul IFP. Criteriile de includere în studiu au fost: 1) vârsta mai mare de 18 ani; 2) locuitor al Republicii Moldova (malul drept); 3) cu diagnosticul stabilit de TB sau cu diagnostic sugestiv pentru TB; 4) internat în IFP (toate secțiile). Numărul total al eșantionului obținut a fost de 2490 persoane.

Etapa II. S-a urmărit prospectiv locația pacienților la nivelul salonului din spital, în baza patului pe care l-a ocupat fiecare pacient în fiecare zi pe perioada spitalizării. Paturile au fost numerotate consecutiv de la 1 până la 300.

Etapa III. Monitorizarea zilnică a fiecărui pacient pe durata internării și monitorizarea clinică și microbiologică în următorii 2 ani după externare. În funcție de rezultatele monitorizării, a urmat:

a. Identificarea "pacienților focus" și a cohortei de pacienți cu TB RR/MDR;
b. Selectarea pacienților care au avut o tulpină TB non-MDR în episodul de boală la momentul înrolării în studiu și pe parcursul monitorizării au dezvoltat o tulpină MDR;
c. Identificarea pacienților din cohorta TB MDR, care au avut cel puțin o cultura pozitivă în perioada de studiu.

Etapa IV. Testarea specimenelor de spută: specimenele de spută au fost testate în cadrul LNR prin metoda microscopică, metodele bacteriologice pe mediul lichid și solid, ulterior cu efectuarea testelor de sensibilitate la preparatele antimicobacteriene. Culturile pozitive au fost reinoculate, după etapa de monitorizare și ulterior au fost supuse procesului de extragere a ADN-ului genomic micobacterian prin metoda bromurii de trimetil amoniu (CTAB).

Consecutivitatea metodelor aplicate pentru identificarea surselor a fost următoarea:

a. Re-inocularea tulpinilor perechi (tulpinile TB non-MDR și TB MDR) ale „pacienților focus";
b. Re-inocularea tulpinilor din cohorta TB MDR;
c. Izolarea ADN-ului genomic micobacterian;
d. Exportul ADN-ului purificat către Centrul de Cercetări din Bosrtel, Germania;
e. Secvențierea tuturor probelor de ADN;
f. Caracterizarea genotipică;
g. Identificarea rezistenței la preparatele antimicobacteriene prin tehnica de secvențiere;
h. Identificarea potențialelor surse pentru „pacienții focus", analizând cohorta de până la 5 bp;
i. Analiza epidemiologică a potențialelor surse cu suprapunerile pe spital/secție/salon.

Etapa V. Extragerea datelor din baza de date națională SIME TB pentru pacienții cu TB. Au fost extrase date socio-demografice (sex, vârstă, istoric de migrant), statut de rezidență (reședință rurală

sau urbană și sat/localitate de origine); date epidemiologice (contact apropiat, data stabilirii diagnosticului de TB, tipul de caz, localizarea și forma de TB).

Studiul privind evaluarea cunoștințelor epidemiologice în domeniul controlului infecției, prin chestionarea personalului medical care activează în secțiile clinice ale IFP.

A fost desfășurat un studiu descriptiv cu obiectivul de a reda competențele personalului medical (medici și asistente medicale) care activează în secțiile clinice ale spitalului. Pentru realizarea obiectivului, a fost elaborat un chestionar bazat pe literatura de profil [208] [209]. Chestionarul conține 29 de întrebări: 1) date generale (5 întrebări): vârsta, sex, profesia medicală, stagiul de muncă, secția în care activează; 2) cunoștințe și percepții privind controlul infecției TB (11 și 13 întrebări, respectiv). Chestionatul aplicat este alcătuit din întrebări cu răspunsuri precodificate cu una sau mai multe variante de răspuns și răspunsuri scalare. Înainte de participare la chestionare, personalul medical a fost informat despre scopul și obiectivele studiului. Chestionarele aplicate au fost anonime cu respectarea principiilor de confidențialitate.

În studiu au fost incluși medici și asistente medicale care activează în secțiile clinice ale IFP. Au fost completate 56 de chestionare (7 medici și 49 de asistenți medicali), număr care a reprezentat 85% din personalul medical angajat în cadrul secțiilor clinice ale IFP (n=67; medici – 12, asistente medicale - 55).

2.3 Metodele de cercetare aplicate

Pentru **cercetarea teoretică a problemei** studiate s-au aplicat următoarele metode:

1. Metoda istorică, utilizată în sinteză revistei bibliografice;
2. Metodele epidemiologică și analitică care a permis descrirea și analiza situației prin TB și TB RR/MDR în Republica Moldova, inclusiv în comparație cu alte țări din regiune.

Pentru **studierea fenomenului transmiterii nosocomiale a infecției tuberculoase și evaluarea factorilor de risc asociați cu transmiterea TB MDR în condiții de staționar,** au fost aplicate următoarele metode de cercetare:

1. Metoda de colectare **-** extragerea informației din documentația de evidență medicală;
2. Metoda statistică cu aplicarea procedeelor matematico-statistice pentru analiza datelor colectate;
3. Aplicarea metodelor de laborator pentru colectarea informației specifice pentru analiza fenomenului transmiterii nosocomiale a infecției tuberculoase, dar și a factorilor de risc. Au fost aplicate metodele: microbiologice, izolarea ADN-ului și secvențierea întregului genom micobacterian. Aplicarea metodelor de laborator este descrisă în sub-capitolul „Metode de laborator aplicate”.

4. Metoda analitică a permis interpretarea rezultatelor obținute și formularea concluziilor.

Pentru **studiul evaluarea cunoștințelor epidemiologice în domeniul controlului infecției prin chestionarea personalului medical care activează în secțiile clinice ale IFP s-a utilizat:**

1. Metoda de colectare a datelor în baza chestionării;
2. Metoda statistică cu aplicarea procedeelor matematico-statistice pentru analiza datelor colectate;
3. Metoda analitică cu scopul interpretării rezultatelor obținute și formularea concluziilor.

2.4 Metodele de laborator aplicate

Probele de spută de la toți pacienții înrolați în studiu au fost evaluate prin metodele microscopică și bacteriologică, iar în cazul prezenței coloniilor de *Mtbc*, acestea au fost testate prin metode fenotipice de sensibilitate la medicamente antituberculoase. Metodele microbiologice (microscopică și bacteriologică) au fost efectuate cel puțin la sfârșitul lunii a 2-a, a 5-a și la sfârșitul tratamentului la pacienții diagnosticați cu TB sensibilă la medicamentele antituberculoase, În cazul pacienților diagnosticați cu TB RR/MDR testarea microbiologică a fost efectuată lunar până când a fost atinsă conversia sputei prin metoda culturală și ulterior trimestrial până la sfârșitul tratamentului. Testarea de laborator, atât prin metodele microscopice, cât și prin metodele bacteriologice, inclusiv cu testarea sensibilității la preparatele antituberculoase a fost realizată în conformitate cu PCN-123 Tuberculoza la adult [85], iar tulpinile de *Mtbc* au fost colectate și depozitate în biobanca LNR din cadrul IFP.

Toți pacienții din cadrul studiului au fost monitorizați timp de 2 ani după data spitalizării. După finalizarea urmăririi, tulpinile din culturile de spută ale pacienților cu TB RR/MDR, cât și ale „pacienților focus" (pacienți cu TB non-MDR la momentul inițial și depistate cu TB RR/MDR în timpul urmăririi), au fost recultivate cu extragerea ulterioară a ADN-ul genomic micobacterian din probele stocate în biobanca laboratorului [210].

Pentru pacienții diagnosticați cu TB RR/MDR, a fost efectuată secvențierea întregului ADN genomic micobacterian pentru predicția genotipică a rezistenței la medicamente și compararea filogenetică. Suspecția de transmitere nosocomială a TB RR/MDR a fost considerată atunci când o tulpină TB RR/MDR a fost izolată în timpul urmăririi de la un pacient diagnosticat anterior cu TB non-MDR la medicamente antituberculoase de prima linie, de la momentul înrolării în studiu.

Secvențierea întregului genom micobacterian a fost efectuată în cadrul Centrului de Cercetare din Borstel, Germania. Datele secvențierii au fost utilizate pentru a identifica posibila sursă de transmitere nosocomială a tulpinilor TB RR/MDR.

2.4.1 Metode bacteriologice

Standardul de teste microbiologice pentru depistarea *Mtbc* efectuate la internare pentru toți pacienții spitalizați în IFP a fost microscopia frotiului de spută pentru bacili acido-alcool resistente, GeneXpert MTB/RIF (Cepheid, Sunnyvale, SUA) și metoda culturală a sputei prin metoda culturală lichidă BACTEC MGIT 960 (Becton Dickinson, SUA) și pe medii de cultură solide Lowenstein-Jenses (LJ). În cazul unei culturi de spută pozitivă, s-a efectuat un test inițial de sensibilitate la medicamentele de bază de prima linie (TSM fenotipic) față de INH, RIF, EMB, STM (streptomicină), iar la unii pacienți și pentru PZA. În plus, dacă TSM fenotipic a detectat TB RR/MDR sau rezistența față de rifampicină a fost detectată de către GeneXpert, s-a efectuat TSM fenotipic și pentru linia a doua de preparate, care include antibiotice din grupa de fluorochinolone (ofloxacina (OFX), LFX și MFX), din grupa celor injectabile (CAP sau AMK), etionamidă (ETH), cicloserina (CS) și acidul para-aminosalicilic (PAS). Pentru monitorizarea tratamentului, culturile de spută au fost înoculate pe medii de cultură solide (LJ) și supuse TSM fenotipic, în cazul când pozitivitatea culturii a persistat sau a fost solicitată de medicul curant.

Întru realizarea studiului, recultivarea izolatelor stocate în biobancă, a fost efectuată pe medii de cultură solide (LJ), fără repetarea suplimentară a testului de sensibilitate. În cercetare au fost luate în considerare rezultatele fenotipice ale testelor de sensibilitate din probele inițiale de spută testate la internare sau în timpul monitorizării tratamentului. Testele microbiologice pentru detecția *Mtbc* (microscopie, GeneXpert MTB/RIF (Cephied), culturi pe mediul lichid BACTEC MGIT 960 (Becton Dickinson, SUA) și culturi pe mediu solid (LJ)) au fost efectuate atât în conformitate cu instrucțiunile producătorilor, cât și în conformitate cu recomandările OMS. De asemenea, au fost efectuate teste fenotipice de sensibilitate la preparatele antimicobacteriene, utilizând concentrațiile critice, recomandate în ghidurile OMS.

2.4.2 Testarea fenotipică a sensibilității la preparatele antituberculoase

Culturile BACTEC MGIT 960 au fost incubate pentru o perioadă maximă de 6 săptămâni până a fi raportate cu rezultat negativ. Puritatea culturii BACTEC MGIT 960 a fost verificată prin colorație Ziehl-Neelsen, înocularea pe placă de agar cu sânge și utilizarea testului rapid de identificare cu antigen MPT64 (BD Microbiology Systems, SUA). Pentru pregătirea procedurii de inoculare privind testarea sensibilității, suspensiile micobacteriene au fost utilizate nediluate în prima și a doua zi după pozitivitate, în timp ce suspensiile din ziua a 3-a până în a 5-a au fost diluate la raportul 1:5 cu soluție salină sterilă. Testarea sensibilității pe medii lichide cu utilizarea sistemului BACTEC MGIT 960 a fost efectuată cu următoarele concentrații finale ale preparatelor antimicobacteriene: 1,0 μg/ml pentru STM, 0,1 μg/ml pentru INH, 1,0 μg/ml pentru RIF și 5,0 μg/ml pentru EMB. Rezultatele TSM au fost determinate în momentul în care tubul de control

afișează o creștere de > 400 de unități (GU) între ziua a 4-a și ziua a 13-a. Interpretarea rezultatelor TSM au fost după cum urmează: rezultat sensibil – dacă nu a fost detectată nici o creștere în tubul cu preparat antimicobacterian, intermediar – dacă a fost detectată o creștere în intervalul 1-99 GU și rezistent, dacă nivelul de creștere în tubul cu antibiotic a depășit > 100 GU.

2.4.3 Concentrații critice pentru testarea LJ TSM

În scopul testării sensibilității la antimicobacteriene pe medii solide, s-a luat 0,1 ml de spută decontaminată și s-a inoculat pe partea de pantă a mediului solid (LJ), iar ulterior au fost incubate la 37°C. Tuburile cu mediu solid (LJ) au fost examinate săptămânal timp de 8 săptămâni înainte de a fi declarate cu rezultat negativ. Culturile pozitive de pe mediu solid au fost utilizate pentru TSM la concentrații critice specifice pentru LJ. Preparatele antituberculoase recomandate pentru testarea sensibilității pe medii solide (LJ) și concentrațiile critice stabilite pentru testare au fost următoarele: INH 0,2 mg/L, RIF 40,0 mg/L, EMB 2,0 mg/L, STM 4,0 mg/L. Rezultatele „sensibile” sau „rezistente” au fost raportate după 3 săptămâni de la inoculare, în cazul în care tubul de control a avut creștere corespunzătoare. Rezultatul “sensibil” a fost declarat în cazul lipsei creșterii în tubul cu mediu solid și preparatul corespunzător, iar în cazul unei creșteri în tubul cu mediu și preparatul antimicobacterian a fost raportat drept tulpină rezistentă.

2.4.4 Izolarea ADN-ului genomic

Tulpinile de *Mtbc* au fost cultivate pe mediul LJ la 37°C, până când a fost observată o creștere excesivă. Coloniile au fost transferate într-un microtub de 2,0 ml care conținea 400 µl tampon cu Tris și EDTA (TE buffer) și au fost expuse la baia de apă (80°C timp de 20 de minute), pentru a inactiva bacteriile. Ulterior, au fost centrifugate timp de 3 minute la 13 000 g, după care a fost înlăturat supernatantul și s-a adăugat 400 µl tampon TE. În următoarea etapă s-a agitat cu utilizarea vortex-ului pentru a separa celulele. Imediat, s-a adăugat 50 µl de lizozim (10 mg/ml) și ulterior s-a agitat, după care s-a incubat tubul peste noapte la 37 °C. A doua zi, s-a adăugat 70 µl 10 % SDS, 5 µl proteinază K (10 mg/ml), s-a agitat ușor și s-a incubat toată soluția timp de 10 minute la 65 °C. Ulterior, s-a adăugat 100 µl 5M NaCl, 100 µl CTAB/NaCl (preîncălzit la 65 °C), urmat de agitare și incubare timp de 10 minute la 65 °C. Ulterior s-a adăugat 750 µl amestec de cloroform/izoamialcool (24:1), s-a inversat tubul de câteva ori și s-a centrifugat la temperatura camerei timp de 15 minute la 13 000 g. Supernatantul a fost transferat cu grijă într-un tub nou de tip microcentrifugă, unde s-a adăugat izopropanol în volum de 0,6 ml pentru a precipita acizii nucleici timp de 30 de minute la -20 °C (sau mai mult). A urmat etapa de centrifugare timp de 10 minute la temperatura camerei la 13 000 g, supernatantul a fost înlăturat și ADN-ul a fost purificat în 0,5 ml de etanol rece de 75 %, concomitent tubul a fost agitat, inversându-l de câteva ori, urmat

apoi de o centrifugare de 5 minute la temperatura camerei la 13 000 g, iar supernatantul a fost înlăturat cu precauție. Peletul de ADN a fost uscat la 60°C timp de aproximativ 10 minute, iar ADN-ul a fost în cele din urmă dizolvat în 100 µl tampon TE la 37° C timp de 30 de minute până când ADN-ul s-a dizolvat complet [211].

2.4.5 Secvențierea întregului genom și caracterizarea genotipică

Secvențierea întregului genom a ADN-ului micobacterian a fost efectuată după realizarea exportului ADN-ului către Centrul de Cercetare Borstel, Germania. Datele de secvențiere au fost utilizate pentru a identifica posibila sursă de transmitere nosocomială a tulpinilor TB RR/MDR.

Secvențierea întregului genom micobacterian a fost realizat folosind tehnologia Illumina (NextSeq 500 și kit de pregătire pentru biblioteci Nextera XT) conform instrucțiunilor producătorului (Illumina, San Diego, CA, SUA). Datele de citire brute (ENA study cu numărul de acces PRJEB58814) au fost mapate cu referire la genomul *Mtbc* H37Rv (NC_000962.3) folosind MTBseq [212] și țintind o acoperire minimă a genomului de 50x. Variante, inclusiv polimorfisme cu un singur nucleotid (SNP), inserții și deleții (InDels) au fost numite cu următoarele praguri: acoperire minimă de patru citiri atât în orientare înainte cât și inversă, patru citiri care apelează alelei cu cel puțin un scor phred de 20 și o frecvența a alelelor de 75%. Pentru o aliniere a SNP-urilor concatenată, s-a luat în considerare pozițiile genomului care au îndeplinit aceste praguri în cel puțin 95% din toate izolatele. Au fost excluse în continuare mutațiile în genele asociate rezistenței la medicamente și regiunile repetitive și atunci când > 1 mutație a avut loc într-o fereastră de 12 pb pentru a evita posibilele efecte de homoplasie și artefacte presupuse de recombinare.

Rezistența genotipică a medicamentelor a fost dedusă pe baza unui catalog organizat de mutații [213], utilizat de către Laboratorul Supranațional de Referință (LSR) din cadrul Centrului de Cercetare din Borstel, Germania, cu utilizarea bazei de date 2020-05-10. Linia filogenetică a fost determinată folosind un cod de bare SNP [214]. În scopul identificării tulpinilor asociate reinfectării „pacienților focus” cu o tulpină TB RR/MDR, s-a utilizat o măsurare a distanței genetice în perechi care nu depășește 12 SNP între tulpina non-MDR și tulpina TB RR/MDR de la același pacient. Tulpina TB RR/MDR a fost supusă, în continuare, unei analize de transmitere pentru a identifica presupusele cazuri de la care s-a putut asocia tulpina TB RR/MDR.

2.5 Analiza rezultatelor obținute

2.5.1 Prelucrarea matematico-statistică a datelor colectate

Datele pentru analiză (pacienți) au fost exportate din SIME TB aplicând criteriile de selecție în baza criteriilor de includere a datelor, acestea fiind complimentate cu date clinice și

microbiologice și suplimentate pe parcursul urmăririi (2 ani) cu date adiționale. Colectarea datelor în rândul personalului medical a fost bazată pe un chestionar completat direct în versiune electronică. Ambele tipuri de date (pacienți și personalul medical) au fost importate în Programul de analiză statistică SPSS (IBM SPSS Statistics for Windows, Version 20.0. Armonk, NY: IBM Corp), prin intermediul căruia au fost analizate. Calitatea datelor colectate a fost asigurată prin validarea vizuală în timpul colectării, includerea întrebărilor (parametrilor) de control, dar și prin aplicarea funcțiilor de verificare automatizată ale programului SPSS. Materialul obținut prin colectarea datelor a fost grupat după metodele de grupare: simplă, complexă și repetată, dar și tipologică și variațională.

Variabilele continue au fost exprimate ca medie/mediană cu deviația standard (DS) sau intervalul inter quartile (IQR) în mod corespunzător, în timp ce variabilele categoriale au fost prezentate ca frecvențe. Pentru comparațiile de medii/mediane a fost aplicat testul t-Student sau testul Mann-Whitney. Pentru compararea frecvențelor a fost folosit testul ksi^2 și Fisher exact (dacă grupul a fost mai mic de 30). Pentru determinarea legăturii între insuccesul tratamentului și prezența mutațiilor genetice responsabile de rezistența la medicamentele anti-microbiene s-a utilizat raportul șanselor /*Odds Ratio*/. Interpretarea valorilor raportului de șansă: OR=1 (nu există nici un fel de asociere între expunere (factorul de risc – *prezența mutației genetice*) și fenomen - *insucces la tratament*); OR>1 (expunerea reprezintă un factor de risc - *prezența mutației genetice* pentru apariția fenomenului - *insucces*); OR<1 (expunerea reprezintă un factor „protector” pentru fenomen - *insucces*).

Interpretarea rezultatelor obținute s-a bazat pe semnificația statistică ($p<0,05$) la intervalul de confidență de 95%. Valoarea $p<0,05$ a fost considerată drept una semnificativă.

2.6 Concluzii în baza capitolului 2

1. Lucrarea expusă prezintă o cercetare comprehensivă, organizată după modelul linear și care înglobează o vastă sinteză bibliografică, studiu observațional prospectiv desfășurat în rândul pacienților, aplicarea metodelor microbiologice inovative și studiu descriptiv desfășurat în rândul personalului medical.
2. În cadrul cercetării au fost aplicate metode complexe, inclusiv prin acumularea materialului clinic și observare statistică, dar și prin utilizarea metodelor de diagnostic de laborator de ultimă generație (testare fenotipică, izolarea ADN-genomic, secvențierea genomică) .
3. Eșantioanele incluse în studiu (pacienți și personalul medical) sunt reprezentative din punct de vedere statistic. Interpretarea datelor s-a efectuat în baza semnificației statistice ($p<0,05$) la intervalul de confidență de 95%.

3 DINAMICA LOCAȚIEI PACIENȚILOR ȘI EVALUAREA FACTORILOR DETERMINANȚI CARE AR PUTEA INDUCE INSUCCESUL TRATAMENTULUI

3.1 Descrierea populației de studiu

IFP este un spital terțiar, situat în municipiul Chișinău, capitala Republicii Moldova, care deservește populația adultă din toată țara, fiind specializat în diagnosticarea și tratamentul tuturor formelor de TB și a bolilor pulmonare non-TB.

La momentul inițierii studiului, IFP deținea 5 secții principale în care se internau pacienții: Ftiziopneumologie #1 (FP-1) cu 55 de paturi amplasate în 10 saloane; Ftiziopneumologie #2 (FP-2) cu 80 de paturi în 14 saloane; Ftiziopneumologie #3 (FP-3) cu 50 de paturi în 11 saloane; secția multidrogrezistentă (MDR) cu 50 paturi în 16 saloane; secția TB Extrapulmonară și Chirurgie cu 60 paturi în 20 de saloane; o unitate de terapie intensivă (ATI) cu 5 paturi. Secțiile FP-1 și FP-2 reprezintă secții TB (non-MDR), secția FP-3 reprezintă secția non-TB, iar secția Chirurgie – secție mixtă pentru TB și MDR.

Pacienții s-au internat în secții, în funcție de tipul bolii și profilul rezistenței la *Mtbc*. În secția FP-1, au fost internați pacienții notificați caz nou cu TB pulmonară non-MDR, iar în secția FP-2 - pacienți cu TB pulmonară non-MDR notificați cu retratament. În secția FP-3, de regulă, au fost internați pacienți cu boală pulmonară non-TB, dar în unele cazuri limitate au fost internați și pacienți cu TB pulmonară bacteriologic negativi (prin microscopie și cultură). În secția MDR au fost internați pacienți cu TB RR/MDR, iar în secția Chirurgie - pacienți cu TB extrapulmonară, dar și pacienți cu TB pulmonară cu indicații la tratament chirurgical.

În perioada spitalizării, pacienții au fost transferați, dintr-o secție în alta, atunci când un pacient internat într-o secție non-TB era diagnosticat cu TB sau când la un pacient cu TB se documenta un alt tip de rezistență. Transferul pacienților între secții a avut loc și în cazul indicațiilor pentru intervenție chirurgicală sau pentru terapie intensivă.

Pe durata spitalizării, pacienții aveau voie să se plimbe afară sau să fumeze (într-un spațiu special amenajat) în curtea spitalului, unde interacționau cu pacienții din alte secții, utilizau ascensorul în comun, foloseau aceleași scări și puteau comunica în timpul mesei. Accesul în cantină era permis doar pacienților cu microscopie negativă din secțiile FP-1 și FP-2. De menționat, că pacienților cu microscopie pozitivă nu le era permis să se deplaseze la cantină, în aceste cazuri, pacienții își primeau mâncarea la punctul de distribuție din secția lor și o consumau în saloane. Toți pacienții din secția MDR și secția FP-3 își primeau alimentația exclusiv la punctul

de distribuție din secțiile respective. O altă posibilitate de contact strâns între pacienții din aceeași secție a fost considerată administrarea zilnică a pastilelor și a injecțiilor în sala de proceduri din cadrul fiecărei secții.

În timpul deplasării în afara saloanelor din cadrul spitalului, precum și în timpul contactului cu personalul medical, toți pacienții erau obligați să poarte masca chirurgicală. Alte măsuri de control al infecțiilor aplicate în mod obișnuit au fost: purtarea măștilor de tip respirator (FFP2 sau FFP3) de către personalul medical, utilizarea lămpilor cu raze ultraviolete (UV), accesul limitat al pacienților în spațiile pentru personalul medical, ventilația naturală a saloanelor (limitată în timpul iernii), etc.

Fluxul derulării studiului este prezentat în Figura 3.1 Diagrama de studiu.

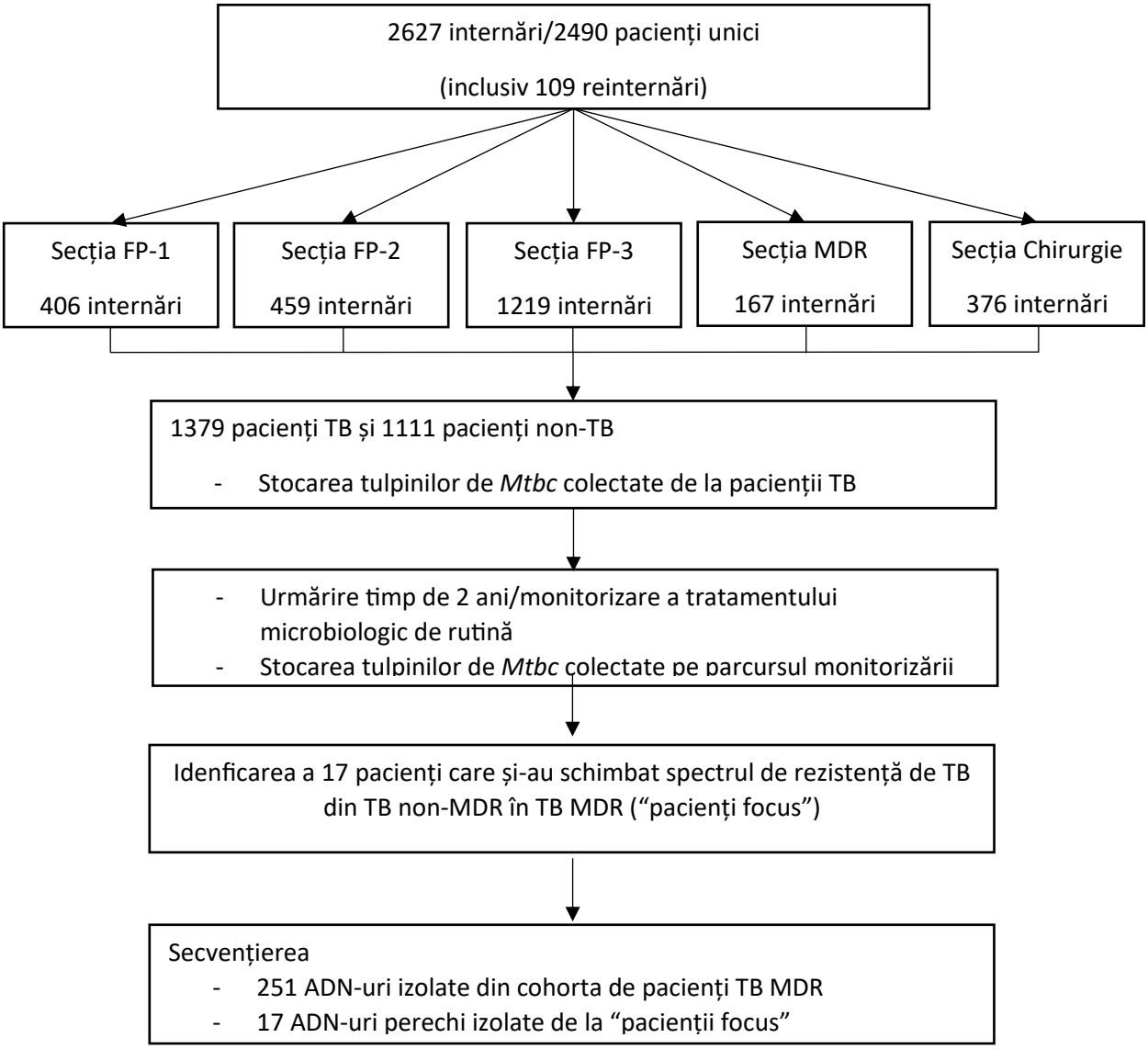


Fig. 3.1. Diagrama de studiu

3.2 Analiza descriptivă a pacienților spitalizați în cadrul spitalului

Cohorta inițială de studiu a fost constituită din 2490 de pacienți, internați în IFP. Cei mai mulți pacienți au fost internați în secția FP-3 (45,3%), urmată de secția FP-2 (17,9%), FP-1 (16,1%), Chirurgie (14,5%) și secția MDR (6,3%) (Fig. 3.2).

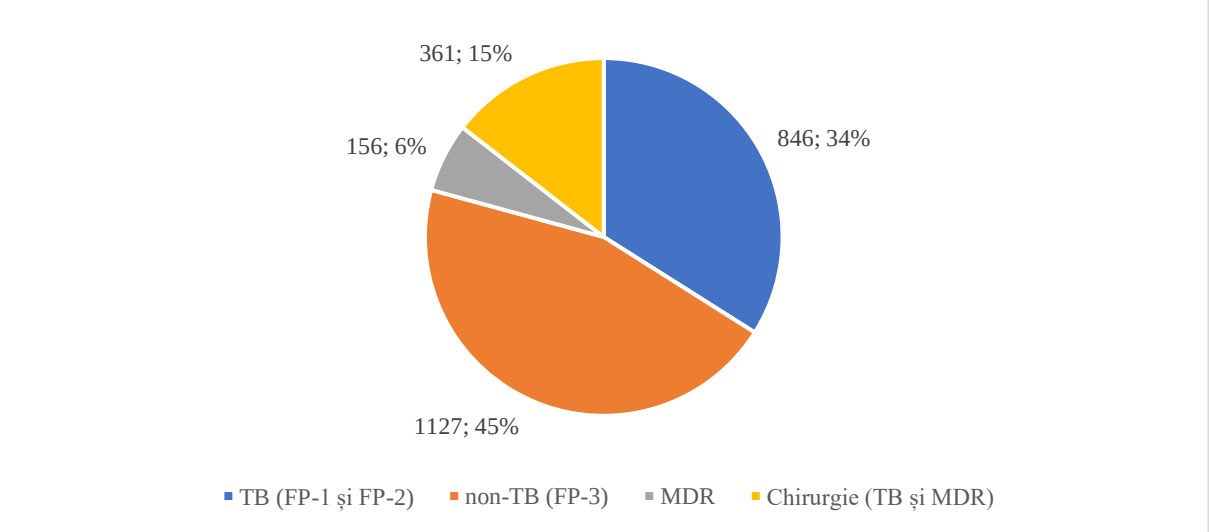


Fig. 3.2. Numărul și ponderea pacienților internați în IFP, în perioada de înrolare în studiu, în conformitate cu secțiile spitalicești

Vârsta medie a pacienților internați în perioada de cercetare a fost de 50,9 (DS±17,4) ani și care a variat de la 37,2 (DS±12,7) ani la 59,4 (DS±17,5) ani printre pacienții din secția MDR și a celor din secția FP-3, respectiv. Vârsta mai înaintată a fost observată printre pacienții internați în secția FP-3, iar cei mai tineri printre cei din secția MDR. S-a constatat că ponderea bărbaților a predominat în secțiile de TB (FP-1, FP-2, MDR și Chirurgie) formând 62,5% (1014/1363) în comparație cu secția non-TB (54%; 609/1127); p<0,001. (Tabelul 3.1.) [210].

Tabelul 3.1. Caracteristicile cohortei inițiale de studiu, pe secții spitalicești

Caracteristici	Total n=2490 n (%)	FP-1 n=401 n (%)	FP-2 n=445 n (%)	FP-3 n=1127 n (%)	MDR n=156 n (%)	Chirurgie n=361 n (%)
Vârsta (media ± DS)	50,9 (±17,4)	43,7 (±13,8)	45,6 (±12,1)	59,4 (±17,5)	37,2 (±12,7)	45,2 (±15,4)
Sex						
Masculin	1623 (65,2)	288 (71,8)	356 (80,0)	609 (54,0)	110 (70,5)	260 (72,0)
Feminin	867 (34,8)	113 (28,2)	89 (20,0)	518 (46,0)	46 (29,5)	101 (28,0)
Tip						
TB	1379 (55,4)	397 (99,0)	442 (99,3)	57 (5,1)	156 (100)	327 (90,6)
non-TB	1111 (44,6)	4 (1,0)	3 (0,7)	1070 (94,9)	0 (0,0)	34 (9,4)

Din numărul total de pacienți internați, mai mult de jumătate (55,4%) au fost cei cu TB, iar ceilalți (44,6%) au fost pacienți cu alte boli pulmonare. În secțiile de TB (FP-1, FP-2, MDR și Chirurgie) au fost internați 41 (1,6%; 41/2490) de pacienți cu alte boli pulmonare, iar în secția FP-3 (secție non-TB) au fost internați 57 (2,3%; 57/2490) de pacienți cu TB (p>0,05) (Tabelul 3.1.) [210].

3.3 Studierea migrării pacienților spitalizați în interiorul instituției

Pentru cei 2490 de pacienți spitalizați au fost înregistrate 2627 de internări. Dintre pacienții internați, 2367 (95,1%) au fost internați o singură dată, iar 123 (4,9%) de pacienți internări multiple (109 pacienți au avut 2 internări, 13 au avut 3 internări și 1 pacient a avut 4 internări).

Durata mediană de spitalizare în cadrul IFP, în perioada de studiu a fost de 22 [IQR 9-62] zile. Cea mai lungă durată de spitalizare (mediana 129 [IQR 93-168] zile) a fost în secția MDR, explicabilă prin regimuri lungi de tratament și practica medicală de a trata pacienții în faza intensivă, inclusiv până la conversia sputei prin cultură în condiții de staționar (Fig. 3.3) [215].

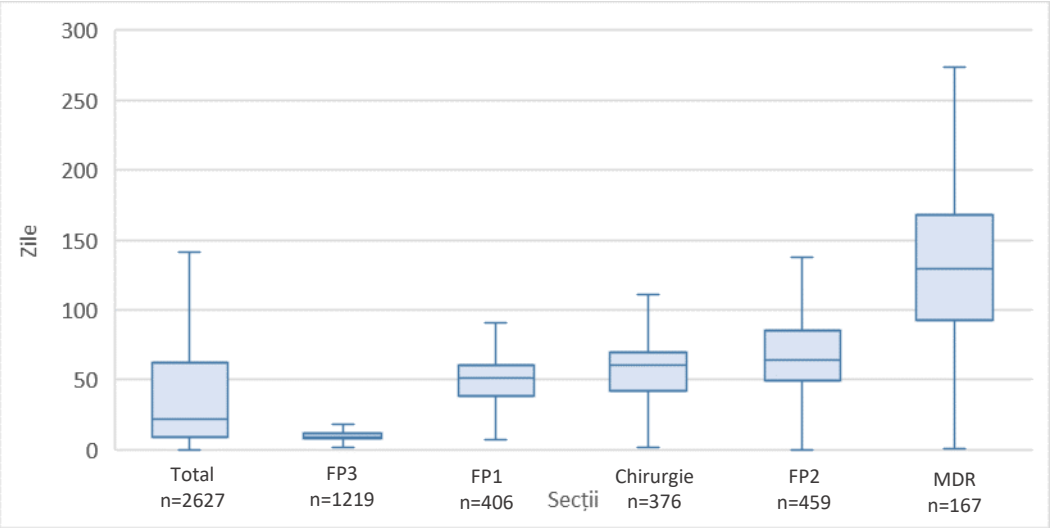


Fig. 3.3. Durata mediană de spitalizare a pacienților internați în IFP (număr zile), în perioada de studiu, repartizată după secții și numărul de internări

În același timp, cea mai scurtă durata mediană de spitalizare (mediana 9 zile [IQR 8-13,5]) a fost în secția FP-3, explicabilă prin tratamente de scurtă durată pentru bolile pulmonare, altele decât TB (Fig. 3.3) [210].

Mai mult de jumătate dintre internări (53,6%; 1408/2627) au fost în secțiile de TB; FP-1 a însumat 15,5% (n=406), secția FP-2 – 17,5% (n=459), secția MDR – 6,4% (n=167) și secția Chirurgie – 14,3% (n=376) din totalul de internări. În secția FP-3 au fost internați 46,4% (n=1219) (Fig. 3.4).

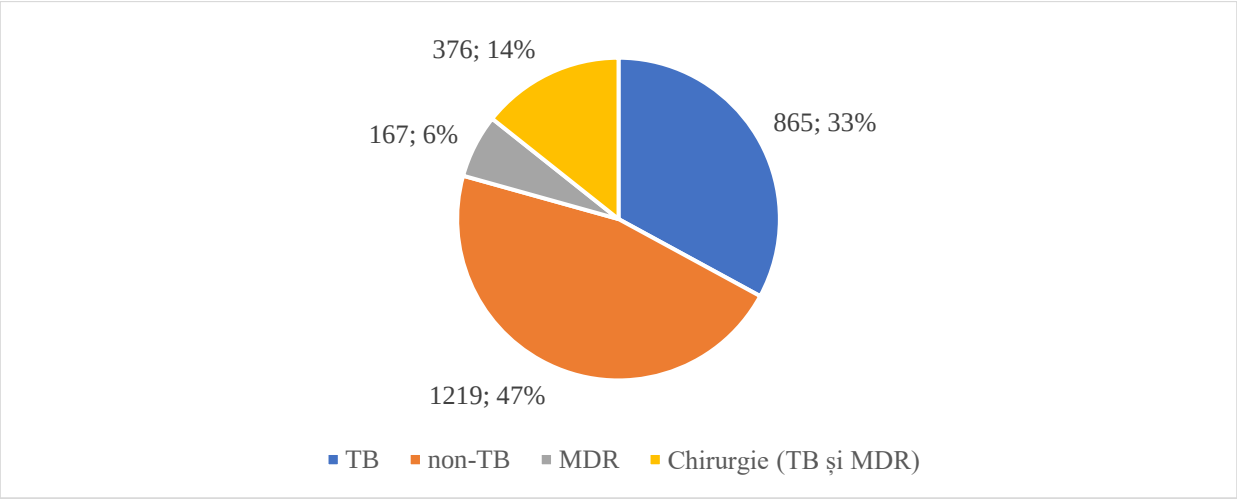


Fig. 3.4. Numărul și ponderea internărilor, în perioada de studiu, după tipul de secție

Cu privire la transferurile pacienților dintr-o secție în alta, 75 dintre pacienți au fost transferați într-o altă secție decât cea în care au fost internați inițial. Unul dintre pacienții transferați a fost transferat de două ori, iar altul a fost transferat de trei ori.

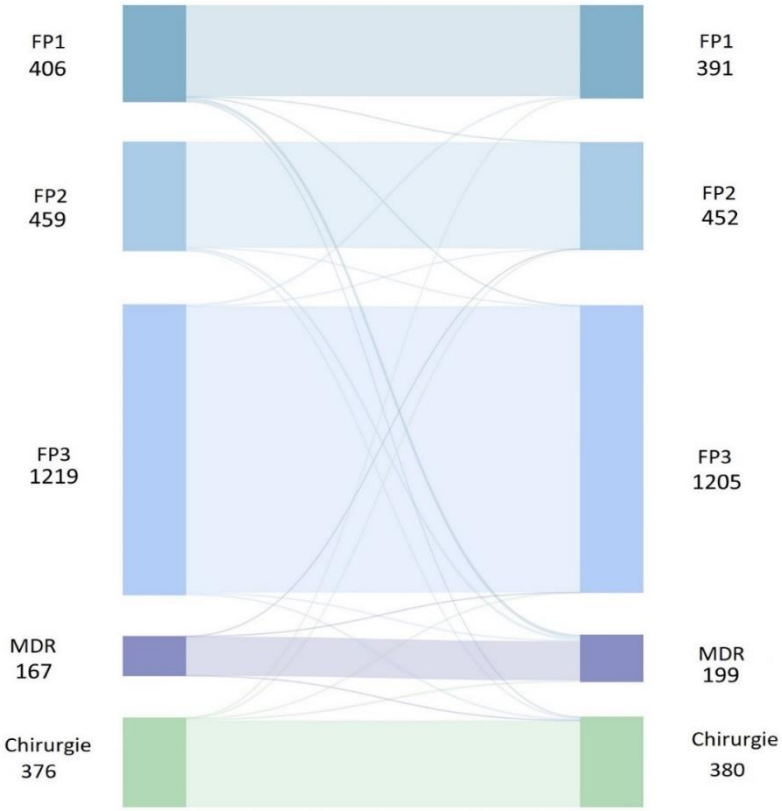


Fig. 3.5. Migrarea pacienților dintr-o secție în alta (75 de transferuri din 2627 de internări)

Douăzeci și patru de pacienții internați inițial în secția FP-1 sau în secția FP-2 au fost ulterior transferați în secția MDR, iar alții 4 pacienți în secția FP-3. Nouă dintre pacienții internați inițial în secția FP-3 au fost transferați ulterior în secția FP-1 sau în secția FP-2 și alți 4 pacienți în secția

MDR. Trei dintre pacienți internați inițial în secția MDR au fost ulterior transferați în secția FP-2 (1 pacient), în secția FP-1 (1 pacient) și în secția Chirurgie (1 pacient).

În secția Chirurgie au fost transferați pacienți din diferite secții, precum: din secția FP-1 (5 pacienți), din secția FP-2 (4 pacienți), din secția FP-3 (7 pacienți) și din secția MDR (1 pacient). Treisprezece pacienți internați inițial în secția de Chirurgie au fost transferați în secțiile non-chirurgicale (secții de TB) (Fig. 3.5) [210]. Cea mai înaltă rată de transfer a fost de la secția FP-1 (5,9%), urmată de secția de Chirurgie (3,5%), secția FP-2 (3,3%), secția MDR (1,8%) și secția FP-3 (1,6%).

Durata mediană de spitalizare până la transferul în altă secție a fost de 7 [IQR 4-19] zile, cea mai scurtă fiind de 3 [IQR 1-75] zile la pacienții din secția MDR, iar cea mai lungă de 13 [IQR 5-32] zile la cei din secția FP-2 și 12 [IQR 4-48] zile la cei din secția Chirurgie. Durata mediană de spitalizare a fost de 6 [IQR 2-7,5] zile până la transferul din secția FP-1 și de 9 [IQR 4-13,5] zile până la transferul din secția FP-3.

În cadrul cercetării s-a analizat profilul de rezistență a *Mtbc* al pacienților care au fost transferați (n=75) în alte secții (Fig. 3.6).

Trebuie de menționat faptul că 41 dintre pacienți cu TB RR/MDR au fost internați inițial într-una dintre secțiile non-MDR. Dintre aceștia, 33 de pacienți au fost transferați ulterior în secția MDR, iar 8, în una dintre secțiile non-MDR: FP-2 (n=10), FP-3 (n=3) și secția Chirurgie (n=7). De menționat că acești 8 pacienți transferați în una dintre secțiile non-MDR, inițial au fost internați în secția FP-1 (n= 3), în secția FP-3 (n= 2) și în secția Chirurgie (n= 3).

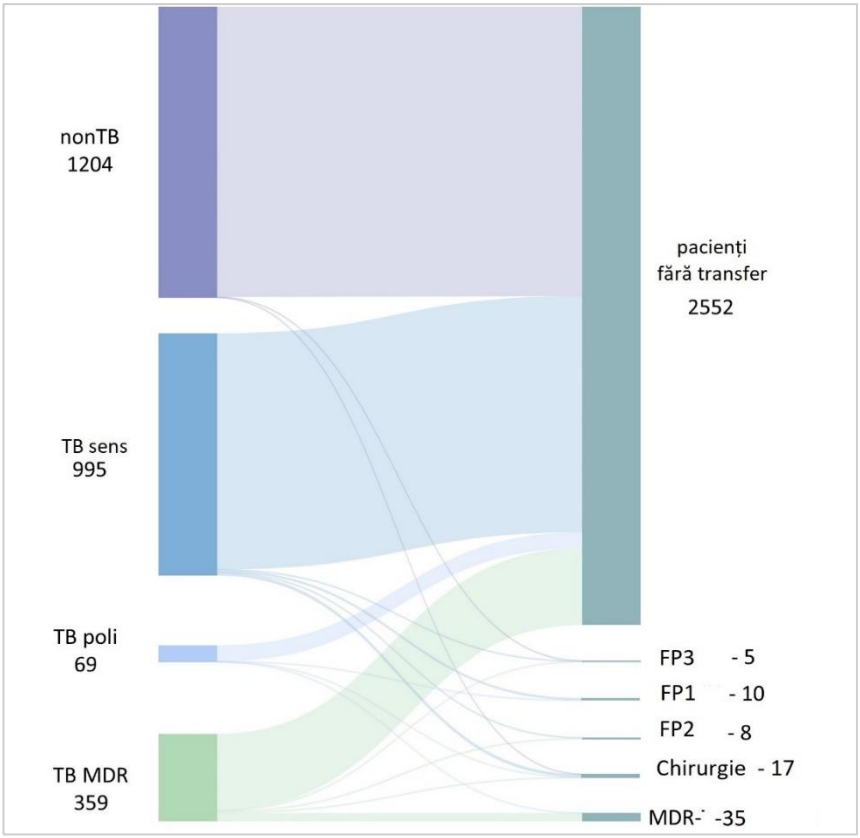


Fig. 3.6. Numărul de transferuri în secții, după profilul de rezistență al pacientului transferat (75 de pacienți transferați din 2627 de internări)

Durata mediană de spitalizare a pacienților transferați (n=75), în funcție de profilul de rezistență a *Mtbc* este expusă în Fig. 3.7. Pacienții cu TB RR/MDR au avut o durată mediană de

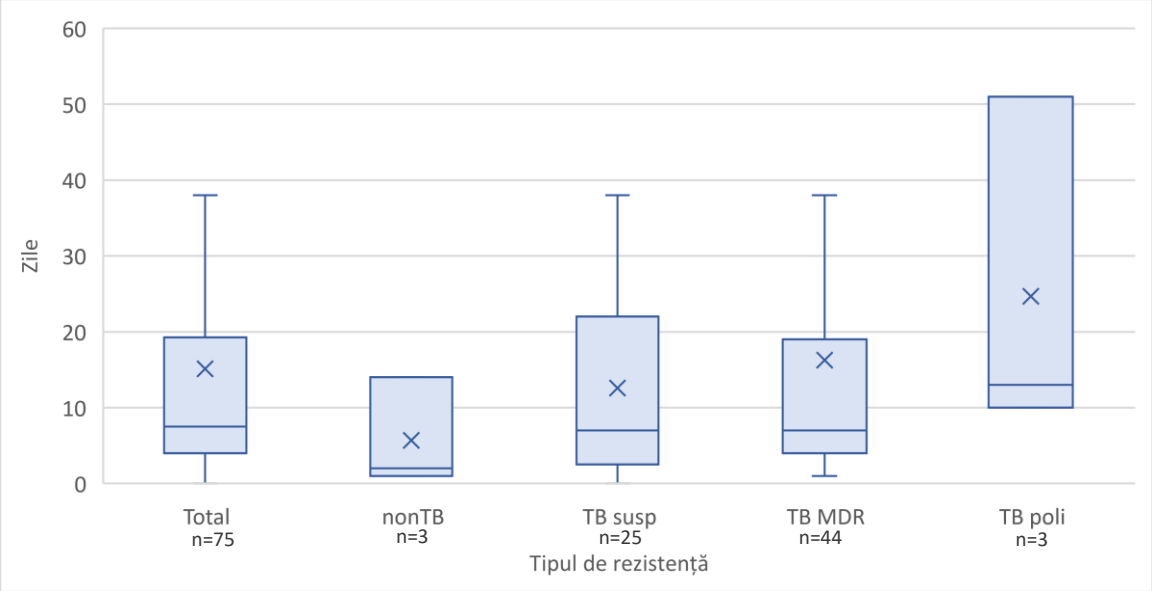


Fig. 3.7. Durata mediană de spitalizare (număr zile) a pacienților transferați (n= 75) după tipul de rezistență al complexului *M. tuberculosis*.

spitalizare de 7 [IQR 4-18] zile în secțiile non-MDR, cu o durată cumulativă de 631 zile [210].

Numărul median și cel cumulativ de persoane contacte al pacienților cu TB RR/MDR din secțiile non-MDR a fost de 3 [IQR 2-5] și, respectiv, 144 de contacți.

3.4 Analiza descriptivă a cohortei pacienților spitalizați cu tuberculoză

Cohorta pacienților internați în IFP (în perioada 01.07.2014 – 30.06.2015) și diagnosticați cu TB a format 1379 de pacienți.

Vârsta medie a fost de 43,8 ani (DS±13,8) ani, mediana vârstei a constituit 44 ani, cel mai tânăr participant a avut 18 ani, iar cel mai în vârstă – 86 de ani. Bărbați (74,2%; n=1023) și cei din mediul rural (76,2%; n=1051) au format majoritatea. O cincime (19,8%; n=273) dintre participanții la studiu s-au aflat peste hotarele țării cel puțin 3 luni, în ultimele 12 luni anterior stabilirii diagnosticului de TB [210].

Întru reprezentativitatea cohortei de pacienți cu TB incluși în studiu, am recurs la comparabilitatea caracteristicilor demografice cu cohorta națională, formată din pacienții cu TB notificați în perioada anului 2014, regiunea malului drept al râului Nistru. Datele prezentate în tabelul de mai jos, confirmă că pacienții cu TB înrolați în studiu prezintă o similaritate statistică în conformitate cu parametrii de bază: precum sexul, grupul de vârstă, statutul HIV și statutul de migrant (Tabelul 3.2).

Tabelul 3.2. Compararea cohortelor în baza parametrilor demografici și clinici

Caracteristici	**Cohorta de studiu** n=1379 n (%)	**Cohorta națională** n= 3846 n (%)	**Valoarea p**
Sex			
Bărbați	1023 (74,2)	2798 (72,7)	p>0,05
Femei	356 (25,8)	1048 (27,3)	p>0,05
Mediu de reședință			
Urban	328 (23,8)	1413 (36,7)	p<0,01
Rural	1051 (76,2)	2433 (63,2)	p<0,01
Vârsta			
≤ 44 ani	715 (51,8)	2023 (52,6)	p>0,05
> 45 ani	664 (48,2)	1823 (47,4)	p>0,05
Migrant*			
Da	273 (19,8)	708 (18,4)	p>0,05
Nu	1106 (80,2)	3138 (81,6)	p>0,05
Statut HIV			
Pozitiv	78 (5,7)	220 (5,7)	p>0,05
Negativ/necunoscut	1301 (94.3)	3626 (94,3)	p>0,05

Sursa pentru cohorta națională: SIME TB, registrul național de evidență a cazurilor cu TB

După mediul de reședință nu a fost observată similaritatea statistică, aceasta fiind explicată prin faptul că, deși IFP este un spital național, unde, de regulă, sunt internați pacienți cu TB din

toată țara, în paralel există spitale de nivel municipal (IMSP Spitalul Municipal de ftiziopneumologie Chișinău și secția Dispensarului de ftiziopneumologie Bălți) care deservesc, în special, municipiile și regiunea de nord ale țării (Dispensarul de ftiziopneumologie Bălți). Prin acest fapt am putea presupune că pacienții din mediul urban au fost în mare parte internați în aceste două spitale de nivel municipal.

Analizând spectrul pacienților înrolați în studiu după tipul cazului de TB, am constatat că 75% (1034/1379) dintre pacienții diagnosticați cu TB în perioada derulării studiului au fost notificați drept cazuri noi (pacienți care nu au luat niciodată tratament cu medicamente antituberculoase în asociere pe o perioadă mai mare de o lună de zile).

Re-tratamentele (pacienți care au avut cel puțin un tratament anterior pentru TB) a format o pătrime (25%; 345/1379) din totalul pacienților notificați. Recidivele (pacientul care a fost evaluat, vindecat sau tratament încheiat în urma unui tratament antituberculos și care are un nou episod de TB) au format 16,9% (233/1379), iar alte tipuri de re-tratament, precum re-notificarea pentru un nou tratament de TB a pierduților din supravegherea medicală și a celor pentru care tratamentul anterior pentru TB s-a soldat cu eșec au format 3,6% (50/1379) și 4,5% (62/1379), respectiv (Tabelul 3.3).

În cadrul repartizării în secțiile spitalicești, s-a observat că cazurile noi de TB au fost spitalizate în marea majoritate în secția FP-1 (95,7%), iar re-tratamentele în secția FP-2 (58,6%), p<0,001, ceea ce confirmă respectarea internării pacienților cu TB în secțiile de TB în conformitate cu criteriile de internare a pacienților din cadrul IFP pentru aceste două secții. Cu toate acestea, în secția FP-3 (secție non-TB) au fost internați 54 dintre pacienți cu TB, ceea ce contravine cu directivele de internare în secțiile IFP (Tabelul 3.3).

Cât privește internarea pacienților cu TB în funcție de localizarea procesului de TB, în majoritatea cazurilor, în secțiile de TB (FP-1 și FP-2) au fost internați pacienți cu TB cu localizare exclusiv pulmonară (92,9% și 96,2%), față de cei internați în secția Chirurgie (38,8%), p<0,001, ceea ce confirmă respectarea criteriilor de internare în aceste 3 secții. În același timp, s-a constatat că, în secția FP-3 (secție non-TB), circa o cincime (19,6%) dintre pacienții internați au fost cu TB forme extra-pulmonare (Tabelul 3.3) [210].

Pacienții internați în secția MDR, au reprezentat 52,6% cazuri noi de TB și cazuri de TB cu re-tratament (47,4%). În majoritatea cazurilor, aceștia au fost pacienți cu TB cu localizare pulmonară (95,5%) (Tabelul 3.3) [210].

În baza rezultatelor de laborator, prin metoda culturală (BACTEC MGIT 960 și/sau LJ) au fost confirmate 68,0% (n=938) dintre cazurile TB. Suplimentar, în rândul pacienților la care nu a putut fi identificată *Mtbc* prin metode culturale (n=441), la 78 dintre aceștia a fost identificat ADN-

ul *Mtbc* prin metoda Xpert MTB/RIF (sau 17,7%; 78/441). Astfel, numărul total de pacienți cu diagnosticul TB, confirmat prin metode culturale și/sau metoda Xpert MTB/RIF, a fost de 1016 din 1379 (73,7%). În 26,3% (363/1379) cazuri toate testele microbiologice pentru identificarea *Mtbc* au fost negative, iar diagnosticul de TB a fost stabilit în baza rezultatelor clinice (Tabelul 3.43) [210].

Tabelul 3.3. Cohorta pacienților cu tuberculoză, după tipul de caz și localizarea procesului de tuberculoză, conform repartizării în secțiile spitalicești

Caracteristici	**Total** n=1379 n (%)	**FP-1** n=397 n (%)	**FP-2** n=442 n (%)	**FP-3** n=57 n (%)	**MDR** n=156 n (%)	**Chirurgie** n=327 n (%)
Tip caz de TB						
Caz nou	1034 (75,0)	380 (95,7)	259 (58,6)	52 (91,2)	82 (52,6)	261 (79,8)
Re-tratament	345 (25,0)	17 (4,5)	183 (41,4)	5 (8,8)	74 (47,4)	66 (20,2)
Inclusiv: Recidivă	233 (16,9)	16 (4,0)	135 (30,5)	5 (8,9)	30 (19,2)	47 (14,4)
Alte re-tratamente	112 (8,1)	1 (0,3)	48 (10,9)	0 (0,0)	44 (28,2)	19 (5,8)
- *pierdut*	50 (3,6)	1 (0,3)	23 (5,2)	0	15 (9,6)	11 (3,4)
- *eșec*	62 (4,5)	0	25 (5,7)	0	29 (18,6)	8 (2,5)
Localizare TB						
Pulmonară	1114 (80,8)	369 (92,9)	425 (96,2)	44 (77,2)	149 (95,5)	127 (38,8)
Extra-pulmonară	183 (13,3)	8 (2,0)	3 (0,7)	11 (19,6)	1 (0,6)	160 (49,0)
Pulmonară și extra-pulmonară	82 (5,9)	20 (5,5)	14 (3,2)	2 (3,6)	6 (3,9)	40 (12,2)

Conform repartizării în secții, s-a observat că în secțiile de TB (FP-1 și FP-2) au fost internați în majoritatea cazurilor pacienți cu forme de TB bacteriologic confirmate (83,4% și 81,0%, respectiv), ceea ce corespunde cu criteriile de internare în secțiile de TB stipulate în Protocolul Clinic Național „Tuberculoza la adult" [215]. În secția Chirurgie – circa jumătate dintre pacienții internați aveau forme bacteriologic confirmate (48,3%), ceea ce ar putea fi explicabil prin faptul că această secție sunt, în mare parte cazuri cu localizare extra-pulmonară și care nu au confirmare bacteriologică. În secția FP-3 (secție non-TB) au fost internați și pacienți cu TB forme bacteriologic confirmate (57,9%), fapt ce nu se încadrează în directivele de internare în cadrul staționarelor de ftiziopneumologie (Tabelul 3.4).

Tabelul 3.4. Cohorta pacienților cu tuberculoză, în funcție de confirmarea bacteriologică, conform repartizării în secțiile spitalicești

Caracteristici	Total n=1379 n (%)	FP-1 n=397 n (%)	FP-2 n=442 n (%)	FP-3 n=57 n (%)	MDR n=156 n (%)	Chirurgie n=327 n (%)
Cu confirmare	1016 (73,7)	316 (83,4)	358 (81,0)	33 (57,9)	151 (96,8)	158 (48,3)
Cultură pozitivă	938 (68,0)	296 (74,6)	331 (74,9)	25 (43,9)	142 (91,0)	144 (44,0)
Cultură negativă, GeneXpert pozitiv	78 (5,7)	20 (5,0)	27 (6,1)	8 (14,0)	9 (5,8)	14 (4,3)
Fără confirmare	363 (26,3)	81 (20,4)	84 (19,5)	24 (42,9)	5 (3,2)	169 (51,7)

Din numărul totalul de pacienți diagnosticați cu TB prin cel puțin una dintre metodele culturale (BACTEC MGIT 960 sau LJ; n=938), au fost diagnosticați pacienți cu tulpini sensibile în 60,5% (n=567), cu TB mono/poli-rezistentă - în 6,8% cazuri (n=64), cu TB RR/MDR - 32,7% cazuri (307) (Fig. 3.8).

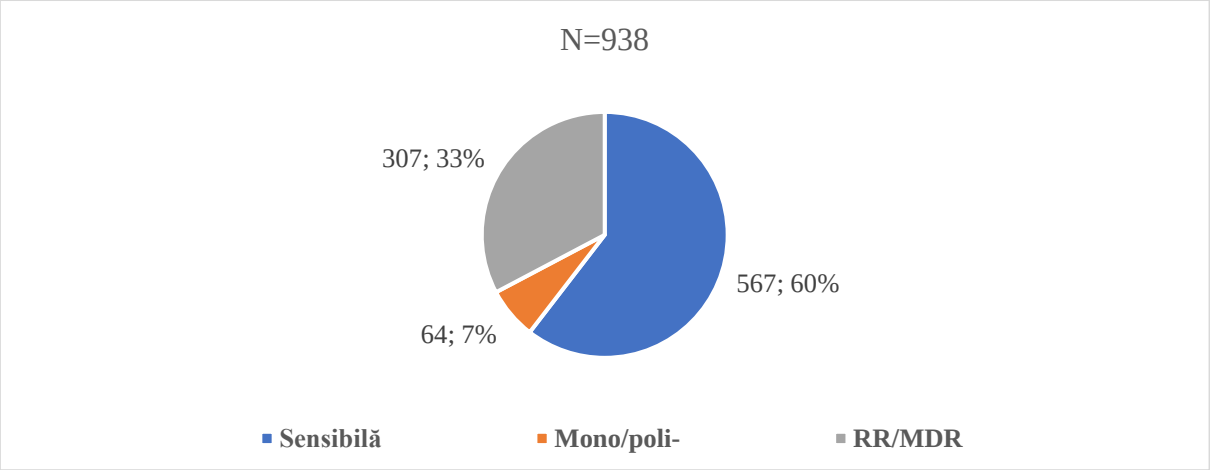


Fig. 3.8. Numărul și ponderea pacienților cu rezultat pozitiv în culturi, conform tipului de rezistență

Din numărul total de pacienți spitalizați în secția MDR, majoritate (90,4%) dintre aceștia au fost cu TB-MDR confirmată prin cultură, în conformitate cu profilul secției. Cu toate că celelalte secții nu sunt cu profil pentru TB-MDR, au fost spitalizați și pacienți cu TB-MDR (confirmată prin cultură). Repartizarea conform secțiilor este expusă în Fig. 3.9 .

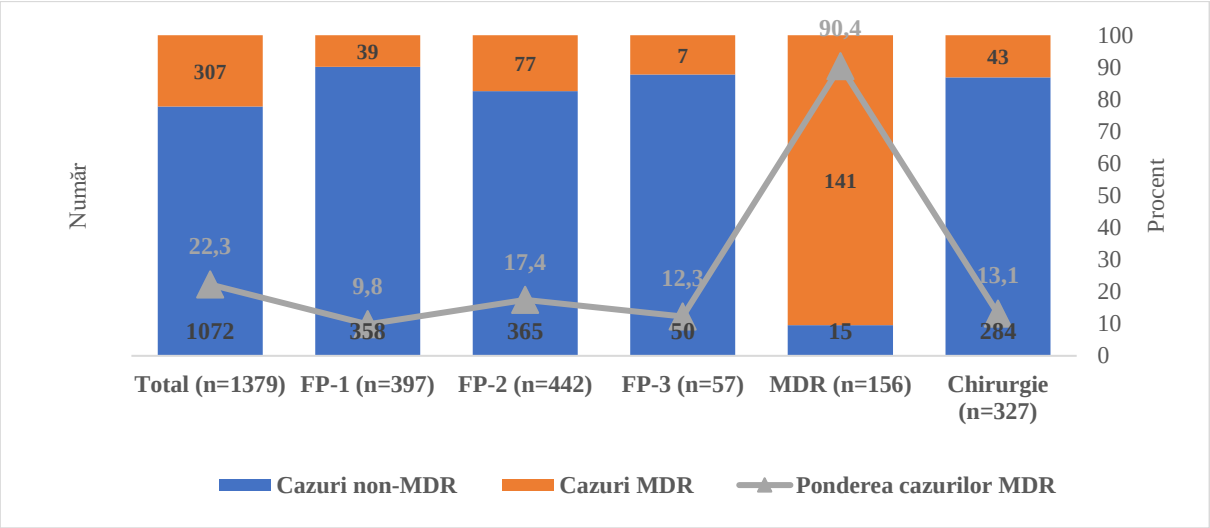


Fig. 3.9. Distribuirea pacienților cu TB non-MDR și TB-MDR confirmată prin cultură conform profilului secției (abs.,%)

3.5 Evaluarea factorilor determinanți care ar putea favoriza prezența mutațiilor genetice și influența succesul tratamentului

Cohorta de studiu supusă secvențierii a fost formată din 268 de pacienți, care, la rândul său, a cuprins 251 pacienți cu TB-MDR confirmată prin cultură pentru care a fost posibilă secvențierea și alți 17 pacienți care și-au schimbat profilul rezistenței din TB non-MDR în TB-MDR pe parcursul studiului.

Vârsta medie în cadrul cohortei a fost de 38,9 (DS±12,5) ani, mediana vârstei a fost egală cu 38 ani, cel mai tânăr participant a avut 18 ani, iar cel mai în vârstă – 74 ani (Tabelul 3.5).

Majoritatea dintre pacienți au fost bărbați (76,5%), cu reședința din mediul rural (72,8%) și care au avut vârsta cuprinsă între 18 și 44 ani (69,0%). În circa o cincime cazuri (20,9%) pacienții s-au aflat peste hotarele țării pe o durată de cel puțin 3 luni înainte de a fi diagnosticați cu TB. În 53,7% cazuri pacienții au fost cu episoade noi de TB (notificați caz nou), iar în majoritatea (97,4%) cazurilor, procesul tuberculos a fost localizat în parenchimul pulmonar. În dezagregare după statutul HIV, 17 (6,3%) pacienți au fost testați pozitivi (Tabelul 3.5).

Tabelul 3.5. Caracteristicile demografice și clinice ale pacienților cu TB-MDR confirmată prin cultură a căror tulpini TB-MDR au fost supuse secvențierii

Caracteristici	n (%)
Total	**268**
Sex	
Bărbați	205 (76,5)
Femei	63 (23,5)
Mediu de reședință	
Urban	73 (27,2)
Rural	195 (72,8)
Vârsta	
≤ 44 ani	185 (69,0)
> 45 ani	83 (31,0)
Migrant	
Da	56 (20,9)
Nu	212 (79,1)
Tip caz de TB	
Caz nou	144 (53,7)
Re-tratament	124 (46,3)
Localizare proces TB	
Pulmonar	261 (97,4)
Extra-pulmonar (pleura)	7 (2,6)
Statut HIV	
Pozitiv	17 (6,3)
Negativ/necunoscut	251 (93,7)

Prezența mutațiilor genetice responsabile de rezistența la medicamentele utilizate pentru tratamentul tuberculozei este redată în Fig. 3.10, care variază de la 100% (INH și RIF) la 6,0% (CS). De menționat că nu au fost identificate mutații la nivel de gene responsabile de rezistența la Clofazimină (CFZ), Linezolid (LZD), Bedaquilină (BDQ) și Delamanid (DLM). Acest fapt, conferă încredere în aplicarea regimurilor noi, de scurtă durată, recomandate recent de către OMS [216] pentru tratamentul TB rezistente.

Cele mai frecvente mutații responsabile de rezistența tulpinii *Mtbc* la INH au fost mutațiile în gena *fabG1 -15c>t & katG* cu codul S315T (54,5%; [IÎ95%:48,52-60,44]) și în gena *katG* cu codul S315T (38,8%; [IÎ95%:32,97-44,64]). De menționat, aici, despre faptul confirmării frecvenții înalte a mutațiilor în genele *fabG1 -15c, katG* în cohorta studiată cu datele publicate la nivel internațional, studiu ce cuprinde o revizuire sistematică a 5804 de izolate cu rezistență la INH din 31 țări [217].

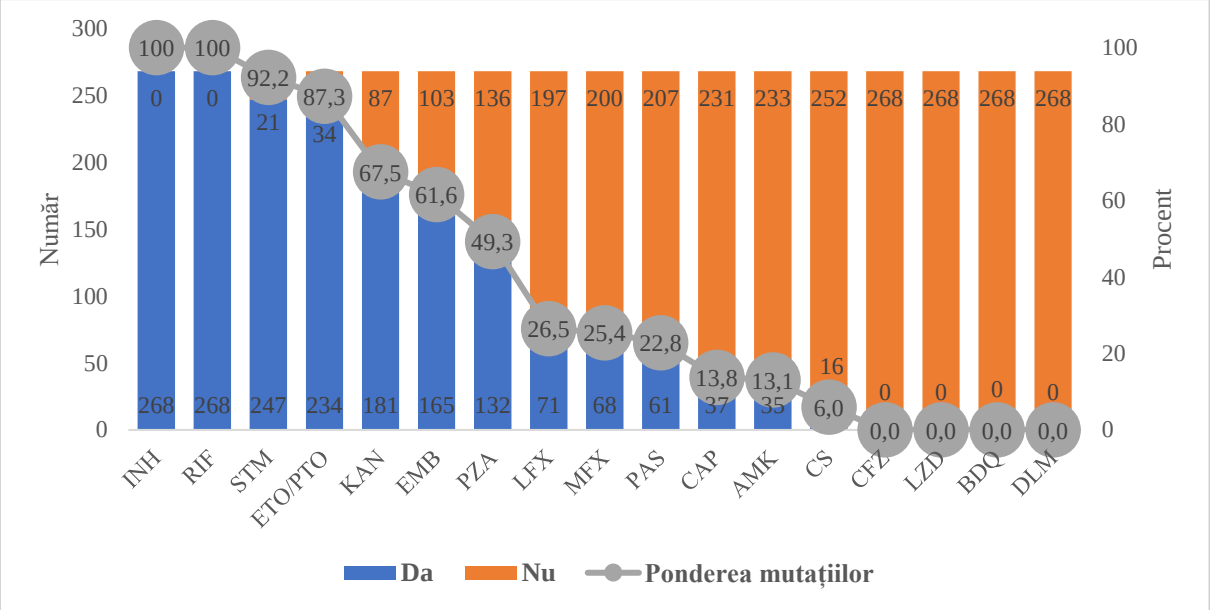


Fig. 3.10. Numărul și ponderea mutațiilor genetice care conferă rezistență la medicamentele anti-microbiene în tulpinile de TB MDR, supuse secvențierii

Mutația în gena *rpoB* cu codul S450L a provocat rezistență la RIF în 87,3% [IÎ95%:83,33-91,30] cazuri. Despre responsabilitatea mutației în gena *rpoB* cu codul S450L de a provoca rezistență înaltă la RIF se specifică în mai multe studii realizate la nivel internațional [217,218,219], fapt confirmat și în cohorta studiată.

Rezistența la STM întâlnită în 92,2% [IÎ95%:88,95-95,38] cazuri a fost determinată, în special, de mutația în gena *rpsL* cu codul K88R în 54,4% [IÎ95%:48,14-60,07] cazuri și în gena *rpsL* cu codul K43R în 34,0% cazuri. Mutația în gena *rpsL* care determină rezistența la STM este descrisă într-o varietate de la 19% [220] la 33-38% [221,222] în diferite țări ale lumii. Studiul realizat în China notează asupra existenței a 70% [223] a mutațiilor în gena respectivă cu prevalarea în izolatele Beijing.

În 61,6% [IÎ95%: 55,74-67,39] cazuri, tulpinile de *Mtbc* au fost cu rezistență la EMB, iar rezistența a fost determinată în mai mult de o cincime (21.3%; [IÎ95%:15,69-25,36]) cazuri de mutația genetică *embB* cu codul M306V, în 40.3% [IÎ95%:35,21-46,99] cazuri – de alte tipuri de mutații (în 20 gene diferite), iar în 38,4% [IÎ95%:32,61-44,26] cazuri – nu au fost determinate mutații. Prezența mutației genetice *embB* cu codul M306V în cohorta studiată ne conferă încredere să stabilim rezistența la EMB în cohorta studiată, fapt menționat în mai multe cercetări care au studiat acest fenomen care indică asupra prezenței mutațiilor respective [224,225].

Tabelul 3.6. Gene și mutații care conferă rezistență la medicamente antimicrobiene în tulpinile de TB MDR, supuse secvențierii, n (%)

Denumire medicament / Gene responsabile de mutație	n	% [IÎ95%]
Numărul total de tulpini	**268**	
Prezența mutațiilor la Izoniazidă (INH)	**268**	**100 [100 – 100]**
Mutația - *fabG1 -15c>t; katG S315T*	146	54,5 [48,52-60,44]
Mutația - *katG S315T*	104	38,8 [32,97-44,64]
Alte mutații (5 gene)	18	6,7 [3,71-9,69]
Prezența mutațiilor la Rifampicină (RIF)	**268**	**100 [100 – 100]**
Mutația - rpoB S450L	234	87,3 [83,33-91,30]
Alte mutații (11 gene)	34	12,7 [8,70-16,67]
Prezența mutațiilor la Streptomicină (STM)	**247**	**92,2 [88,95-95,38]**
Mutația - rpsL K88R	146	54,5 [48,14-60,07]
Mutația - rpsL K43R	91	34,0 [28,29-39,62]
Alte mutații (5 gene)	10	3.7 [1,73-6,47]
Lipsa mutațiilor	21	7,8 [4,62-11,05]
Prezența mutațiilor la Etambutol (EMB)	**165**	**61,6 [55,74-67,39]**
Mutația - embB M306V	57	21.3 [15,69-25,36]
Alte mutații (20 gene)	108	40.3 [35,21-46,99]
Lipsa mutațiilor	103	38,4 [32,61-44,26]
Prezența mutațiilor la Pirazinamidă (PZA)	**132**	**49,3 [43,27-55,24]**
Alte mutații (83 gene)	132	49,3 [43,31-55,29]
Lipsa mutațiilor	136	50,7 [44,76-56,73]
Prezența mutațiilor la Moxifloxacină (MFX)	**68**	**25,4 [20,16-30,58]**
Alte mutații (17 gene)	68	25,4 [20,16-30,58]
Lipsa mutațiilor	200	74,6 [69,42-79,84]
Prezența mutațiilor la Levofloxacină (LFX)	**71**	**26,5 [21,21-31,78]**
Alte mutații (21 gene)	71	26,5 [21,21-31,78]
Lipsa mutațiilor	197	73,5 [68,22-78,79]
Prezența mutațiilor la Kanamicină (KAN)	**181**	**67,5 [61,93-73,14]**
Mutația - *eis -12c>t*	129	48,1 [42,15-54,12]
Alte mutații (10 gene)	52	19,4 [14,67-24,13]
Lipsa mutațiilor	87	32,5 [26,86-38,07]
Prezența mutațiilor la Amikacină (AMK)	**35**	**13,1 [9,03-17,09]**
Alte mutații (4 gene)	35	13,1 [9,03-17,09]
Lipsa mutațiilor	233	86,9 [82,91-90,97]
Prezența mutațiilor la Capreomicină (CAP)	**37**	**13,8 [9,68-17,94]**
Alte mutații (7 gene)	37	13,8 [9,68-17,94]
Lipsa mutațiilor	231	86,2 [82,06-90,32]
Prezența mutațiilor la Etionamidă/Protionamidă (ETO/PTO)	**234**	**87,3 [83,33-91,30]**
Mutația - *fabG1 -15c>t; ethA H281P*	130	48,5 [42,52-54,49]
Alte mutații (20 gene)	104	38,8 [32,97-44,64]
Lipsa mutațiilor	34	12,7 [8,70-16,67]
Prezența mutațiilor la Cicloserină (CS)	**16**	**6,0 [3,13-8,81]**
Alte mutații (16 gene)	16	6,0 [3,13-8,81]
Lipsa mutațiilor	252	94,0 [91,19-96,87]
Prezența mutațiilor la Acid para -aminosalicilic (PAS)	**61**	**22,8 [17,74-27,78]**
Mutația - *thyA R222G*	37	13,8 [9,68-17,94]
Alte mutații (5 gene)	24	9,0 [5,54-12,37]
Lipsa mutațiilor	207	77,2 [72,22-82,26]

Rezistența la PZA a fost determinată în 49,3% [IÎ95%: 43,27-55,24] cazuri și condiționată de mutații în 83 de gene diferite. În circa o pătrime cazuri a fost stabilită rezistența la MFX (25,4%

[IÎ95%: 20,16-30,5]) și LFX (26,5% [IÎ95%: 21,21-31,78]), rezistența fiind determinată de mutații în diferite gene (17 gene și 21 gene, respectiv).

Majoritatea tulpinilor au fost cu rezistență la Kanamicină (KAN) (67,7% [IÎ95%: 61,93-73,14]), responsabilă de rezistență fiind mutația genetică *eis -12c>t* în 48,1% [IÎ95%:42,15-54,12] cazuri. Cu rezistență la AMK și CAP au fost 13,1% [ÎI95%:9,03-17,09] și 13,8% [IÎ95%: 9,68-17,94] dintre tulpinile *Mtbc*, cauzată de diferite mutații în 4 și 7 gene, respectiv. În majoritatea (87,3% [Î95%: 83,33-91,30]) cazurilor s-a determinat rezistența la ETH sau PTO, aceasta fiind atribuită mutației genetice *fabG1 -15c>t*; *ethA* cu codul H281P în 48,5% [ÎI95%:42,52-54,49] cazuri, iar în 38,8% [ÎI95%:32,97-44,64] cazuri rezistența a fost provocată de alte mutații în 20 de gene diferite. Responsabile pentru rezistența la Cicloserină (6,0% [IÎ95%:3,13-8,81]) au fost mutațiile întâlnite în 16 gene diferite. În 22,8% [IÎ95%:17,74-27,78] cazuri, s-a întâlnit rezistența la acidul para-aminosalicilic, determinată de mutația *thyA* cu codul R222G în 13,8% [IÎ95%:9,68-17,94] cazuri (Tabelul 3.6).

3.5.1 Evaluarea factorilor care ar putea fi asociați cu mutațiile genetice la medicamentele antituberculoase

În cadrul studiului, ne-am propus să analizăm prezența mutațiilor care determină rezistență la medicamentele antituberculoase, în funcție de factorii demografici (sex, mediul de reședință, statut de migrant) și a factorilor clinici (localizarea procesului patologic și tipul de notificare al cazului).

3.5.1.1 Prezența mutațiilor la Izoniazidă (INH)

Mutația genetică la INH determinată de gena *fabG1 -15c>t& katG S315T* a fost întâlnită în 54,5% (146/268) cazuri. Cel mai frecvent, a fost observată la bărbați (79.5%; n=116), la cei din mediul rural (72.6; n=106), care au avut vârsta de până la 45 ani (76.0%; n=111) și procesul tuberculos a fost localizat în plămâni (96.6%; n=141). Cât privește tipul de notificare a cazului, mutația genetică la INH determinată de gena *fabG1 -15c>t& katG S315T* a fost identificată practic în aceeași măsură printre cazurile noi (49.3%; n=72) și cazurile de retratament (50.7%; n=74). Printre cazurile cu statutul HIV pozitiv, mutația respectivă a fost observată la cinci (3.4%) dintre pacienți. În analiza bivariată, care a determinat interdependența factorilor demografici și clinici, a scos în evidență că persoanele cu TB cu vârsta de până la 45 ani au de 2.06 [IÎ95%:1.21-3.48] mai multe șanse de a poseda mutația genetică la INH determinată de gena fabG1 -15c>t& katG S315T decât cei cu vârsta mai mare de 45 ani (p=0.007). În cohorta studiată, s-a observat statutul HIV pozitiv, drept factor protector pentru mutația genetică la INH determinată de gena *fabG1 -15c>t& katG S315T* (Tabelul 3.7)

Tabelul 3.7. Factori asociați mutației *fabG1 -15c>t&katG S315T* la INH

Denumire factori	Prezența mutației *fabG1 -15c>t&katG S315T*		OR [IÎ95%]	Valoarea p
	Da n (%)	Nu n (%)		
Total	**146**	**122**		
Sex				0.269*
Bărbați	116 (79.5)	89 (73.0)	1.43 [0.81-2.53]	
Femei	30 (20.5)	33 (27.0)	ref	
Mediu de reședință				0.949
Urban	40 (27.4)	33 (27.0)	1.02 [0.59-1.75]	
Rural	106 (72.6)	89 (73.0)	ref	
Vârsta				**0.007**
≤ 44 ani	111 (76.0)	74 (60.7)	2.06 [1.21-3.48]	
> 45 ani	35 (24.0)	48 (39.3)	ref	
Migrant				0.450
Da	28 (19.2)	28 (23.0)	0.80 [0.44-1.44]	
Nu	118 (80.8)	94 (77.0)	ref	
Localizare				0.607*
Pulmonară	141 (96.6)	120 (98.4)	0.47 [0.90-2.47]	
Extrapulmonară	5 (3.4)	2 (1.6)	ref	
Tipul cazului				0.113
Caz nou	72 (49.3)	72 (59.0)	0.68 [0.42-1.10]	
Retratament	74 (50.7)	50 (41.0)	ref	
Statutul HIV				**0.045***
Pozitiv	5 (3.4)	12 (9.8)	0.36 [0.12-1.05]	
Negativ/necunoscut	141 (96.6)	122 (90.2)	ref	

* Fisher exact test; ref – valoarea de referință; IÎ – interval de încredere; OR -odds ratio

Mutația *katG S315T* la INH a fost identificată în 38.8% (104/268) cazuri în tulpinele de TB MDR supuse secvențierii. În majoritatea cazurilor, mutația *katG S315T* a fost determinată la bărbați (70.2%, n=73), cazuri din mediul rural (72.1%; n=75), persoane cu vârsta de până la 45 ani (61.5%; n=64), cu localizarea procesului în plămâni (99.0%; n=103) și notificați în evidența medicală „caz nou” (62.5%; n=65). Circa o cincime (22.1%; n=23) dintre pacienții cu acest tip de mutație genetică au fost cu statut de migrant. Nouă (8.7%) dintre pacienții pentru care a fost determinată mutația katG S315T la INH au fost cu statut HIV pozitiv.

Prin analiza bivariată de asociere a factorilor s-a determinat că au mai multe șanse de a poseda mutația *katG S315T* pentru INH: femeile (OR=2.0 [IÎ95%:1.07-3.38; p=0.042], cele cu vârsta mai mare de 45 de ani (OR=1.76; [IÎ95%:1.04-2.98]; p=0.035) și pacienții cu diagnosticul de TB stabilit pentru prima dată în viață (OR=1.79 [IÎ95%:1.09-2.96]; p=0.022) (Tabelul 3.8).

Tabelul 3.8. Factori asociați mutației *katG S315T* la INH

Denumire factori	Prezența mutației *katG S315T*		OR [IÎ95%]	Valoare p
	Da n (%)	Nu n (%)		
Total	**104**	**164**		
Sex				**0.042***
Bărbați	73 (70.2)	134 (81.7)	ref	
Femei	31 (29.8)	30 (18.3)	2.0 [1.07-3.38]	
Mediu de reședință				0.850
Urban	29 (27.9)	44 (26.8)	1.06 [0.61-1.83]	
Rural	75 (72.1)	120 (73.2)	ref	
Vârsta				**0.035**
≤ 44 ani	64 (61.5)	121 (73.8)	ref	
> 45 ani	40 (38.5)	43 (26.2)	1.76 [1.04-2.98]	
Migrant*				0.700
Da	23 (22.1)	33 (20.1)	1.13 [0.62-2.05]	
Nu	81 (77.9)	131 (79.9)		
Localizare				0.342*
Pulmonară	103 (99.0)	158 (96.3)	3.91 [0.46-32.9]	
Extrapulmonară	1 (1.0)	6 (3.7)		
Tipul cazului				**0.022**
Caz nou	65 (62.5)	79 (48.2)	1.79 [1.09-2.96]	
Retratament	39 (37.5)	85 (51.8)		
Statutul HIV				0.303*
Pozitiv	9 (8.7)	8 (4.9)	1.84 [0.69-4.95]	
Negativ/necunoscut	95 (91.3)	156 (95.1)		

* Fisher exact test; ref – valoarea de referință; IÎ – interval de încredere; OR - odds ratio

3.5.1.2 Prezența mutațiilor la Rifampicină (RIF)

Mutațiile genetice la RIF au fost, în special, determinate de gena *rpoB S450L* în 87.3% (234/268) cazuri în tulpinele de TB MDR supuse secvențierii. Dintre persoanele la care a fost înregistrată prezenta mutație în 76.5% (n=179) aceștia au fost bărbați, în 70.5% (n=165) pacienții au provenit din mediul rural, în 97.4% (n=228) cazuri localizarea procesului patologic a fost pulmonară, în circa o cincime cazuri (22.2%; n=22) au fost persoane migrante și în mai mult de jumătate dintre cazuri (53.0%; n=124) aceștia au fost pacienți luați în evidența medicală „cazuri noi”. Analiza bivariată de asociere a factorilor nu a determinat nici o interdependență statistic semnificativă în raport cu mediul de reședință, vârsta, sexul, statutul de migrant sau localizarea procesului patologic. În același timp, în cohorta studiată s-a observat statutul HIV pozitiv drept factor protectiv pentru mutația *rpoB S450L* (Tabelul 3.9).

Tabelul 3.9. Factori asociați mutației *rpoB S450L* la Rifampicină

Denumire factori	Prezența mutației *rpoB S450L*		OR [IÎ95%]	Valoarea p
	Da n (%)	Nu n (%)		
Total	**234**	**34**		
Sex				
Bărbați	179 (76.5)	26 (76.5)	1.0 [0.43-2.34]	0.999*
Femei	55 (23.5)	8 (23.5)		
Mediu de reședință				
Urban	62 (26.5)	11 (32.4)	0.75 [0.35-1.64]	0.597*
Rural	172 (73.5)	23 (67.6)		
Vârsta				
≤ 44 ani	165 (70.5)	20 (58.8)	1.67 [0.80-3.50]	0.240*
> 45 ani	69 (29.5)	14 (41.2)		
Migrant*				
Da	52 (22.2)	4 (11.8)	2.14 [0.72-6.34]	0.161*
Nu	182 (77.8)	30 (88.2)		
Localizare				
Pulmonară	228 (97.4)	33 (97.1)	1.15 [0.13-9.87]	0.999*
Extrapulmonară	6 (2.6)	1 (2.9)		
Tipul cazului				
Caz nou	124 (53.0)	20 (58.8)	0.79 [0.38-1.64]	0.653*
Retratament	110 (47.0)	14 (41.2)		
Statutul HIV				
Pozitiv	11 (4.7)	6 (17.6)	0.23 [0.79-0.67]	**0.023***
Negativ/necunoscut	223 (95.3)	28 (82.4)		

* Fisher exact test; ref – valoarea de referință; IÎ – interval de încredere; OR - odds ratio

3.5.1.3 Prezența mutațiilor la Streptomicină (STM)

Mutațiile genetice la STM, au fost determinate de gena *rpsL K88R* în 54.5% (146/268) cazuri în tulpinile de TB MDR supuse secvențierii. Contingentul pacienților la care a fost observată mutația definită de gena *rpsL K88R* a fost format în majoritatea cazurilor de bărbați (80.0%; n=117), proveniți din mediul rural (73.3%; n=107) și de pacienți cu vârsta de până la 45 ani (72.6%; n=106). Pacienți cu statut de migrant au fost 26 (sau 17.8%), iar cu statut HIV pozitiv – 5 (3.4%) pacienți. Cazurile notificate drept re-tratamente pentru episodul de TB au constituit mai mult de jumătate (52.1%; n=76) dintre cazurile cu acest tip de mutație genetică.

Analiza bivariată a determinat asocierea dintre tipul de notificare a cazului de TB și prezența mutației în gena *rpsL K88R.* Pacienții cu TB înregistrați în evidența medicală pentru re-tratamente au de 1.63 [1.1-2.63] ori mai multe șanse de a poseda prezenta mutație genetică (p=0.034) (Anexa 1).

Prezența mutației genetice determinată de gena *rpsL K43R* a fost apreciată în 34.0% (91/268) cazuri printre tulpinile de TB MDR supuse secvențierii. Contingentul (după statutul demografic și clinic) care a format grupul de pacienți cu prezenta mutație este prezentat în Anexa

2. De remarcat că analiza bivariată nu a scos în evidență nici o asociere statistic semnificativă între factorii demografici și clinici studiați și prezența mutației în gena *rpsL K43R* (Anexa 2).

3.5.1.4 Prezența mutațiilor la Etambutol (EMB)

Mutațiile genetice la EMB au fost întâlnite în 21 gene, precum: *embA -11c>t, embA -11c>t; embB M306V, embA -12c>t, embA -16c>a, embA -16c>t, embA -16c>t& embB Q497R, embA -8c>a embA -8c>a& embB Y319S, embA -8c>t, embB D328G, embB D354A, embB G406A, embB G406D, embB G406S, embB M306I, embB M306I; embB D354A, embB M306V, embB M306V& embB G406S, embB Q497K, embB Q497R, embB Y319S.*

Prezența a cel puțin uneia dintre mutațiile genetice enumerate au fost observate în 61.6% cazuri (n=165) printre tulpinile TB MDR supuse secvențierii. Prezența mutațiilor (cel puțin una dintre 21 gene) în dezagregare după factorii demografici și clinici este prezentată în Anexa 3. De remarcat că mutația genetică a cel puțin uneia dintre 21 gene a fost observată în 58 dintre tulpinile TB MDR ale pacienților (35.2%) care aveau o vârstă mai mare de 45 de ani, iar analiza bivariată de asociere a factorilor a scos în evidență că pacienții cu vârsta mai mare de 45 ani au de 1.78 [IÎ95%:1.19-3.11] ori mai multe șanse de a prezenta cel puțin una dintre mutațiile (21 gene) față de cei cu vârsta de până la 45 ani (p=0.041) (Anexa 3).

Mutația genetică determinată în gena *embB M306V* a fost determinată în 57 (21.3%) dintre tulpinile TB MDR supuse secvențierii. Prezenta mutație a fost întâlnită în tulpinile bărbaților în 71.9% (n=41) cazuri, în tulpinile pacienților proveniți din mediul rural în 36.8% (n=21) cazuri, în tulpinile pacienților cu vârsta de până la 45 ani în 59.6% (n=34), în tulpinile pacienților cu statut de migrant în 21.1% (n=12), în tulpinile pacienților diagnosticați cu TB pulmonară în 98.2% (n=56) și în tulpinile pacienților notificați „caz nou” în 61.4% (n=35) și în a celor cu statut HIV pozitiv – în 7.3% (n=12) cazuri.

În analiza bivariată, s-a determinat asocierea prezenței mutației genetice în gena *embB M306V* și mediul de reședință. S-au estimat mai multe șanse (OR=1.88 [IÎ95%:1.14-3.51]) pentru prezența mutației genetice în gena *embB M306V* la pacienții cu TB MDR, care provin din mediul urban (p=0.045).

3.5.1.5 Prezența mutațiilor la Pirazinamidă (PZA)

Prezența mutației la PZA a fost determinată în 83 gene (*pncA -11a>c, pncA -11a>g, pncA 122_del_atcaggcggcgaa, pncA, 230_del_cctcatgg*, *287_del_a, pncA 290_ins_t, pncA 291_ins_g, 205_del_cggtgctgctccttatcaggccacacggcctcttcaccagtgggcccagctacaccttcaggaaccaa, pncA 292_ins_t, pncA 392_ins_gg, pncA 406_ins_cca, pncA 456_del_c, pncA 7_del_g, pncA -7t>c,*

pncA A134V, pncA A134V& pncA C14G; pncA -11a>c, pncA A46V, pncA C14G, pncA C14R, pncA D12A, pncA D136A, pncA D136V, pncA D56Y; pncA 164_del_gg, pncA D63A, pncA D63G, pncA D8E; pncA -11a>g, pncA D8H, pncA E15G, pncA F58S, pncA G101, pncA G105V, pncA G108E, pncA G17A, pncA G24D, pncA G97S, pncA H51P, pncA H71Y, pncA I31S, pncA I6L, pncA I6S, pncA K96, pncA K96N, pncA K96R, pncA K96T, pncA L116P; pncA 293_ins_gt, pncA L159V, pncA L182W, pncA L4S, pncA L4W, pncA L85R, pncA M175V, pncA P54L, pncA P54Q, pncA P69L, pncA P69S, pncA Q10P, pncA Q141, pncA Q141P, pncA S164P; pncA L159R; pncA A146E; pncA Q141P; pncA 193_ins_a& pncA A46V, pncA S67P, pncA T100I, pncA T100P, pncA T135P, pncA T160P, pncA T47A, pncA T76I, pncA T76P, pncA V131F, pncA V139A, pncA V139G, pncA V155E, pncA V155G, pncA V180F, pncA V21A, pncA V7A, pncA V93G, pncA V9A, pncA W119R, pncA W68R, pncA Y103C, pncA Y103H, pncA Y34, pncA Y64).

Prezența a cel puțin uneia dintre mutații în genele enumerate au fost determinate în 132 (49.3%) dintre tulpinile TB MDR supuse secvențierii. Dezagregarea în funcție de prezența mutațiilor genetice (cel puțin în una dintre 83 gene) și factorii demografici și clinici este expusă în Anexa 4. Totodată, de remarcat că dintre tulpinile cu mutații genetice la PZA, în circa o pătrime cazuri acestea au aparținut pacienților cu statut de migrant. Analiza bivariată de interdependență a factorilor demografici și clinici și prezența mutațiilor (cel puțin o mutație în cele 83 gene) indică că pacienții cu statut de migrant au mai multe șanse ca în tulpinile acestora să fie prezentă cel puțin o mutație genetică la PZA (OR=1.93 [IÎ95%:1.12-3.58], p=0.036) (Anexa 4).

3.5.1.6 Prezența mutațiilor la Moxifloxacină (MFX)

Mutațiile genetice la MFX au fost observate în o pătrime (25.4%; 68/268) dintre tulpinile TB MDR supuse secvențierii, fiind determinate de 17 gene (*gyrA A74S; gyrA G88A, gyrA A90V, gyrA A90V& gyrA D94G, gyrA A90V& gyrA D94H, gyrA A90V& gyrA S91P, gyrA D89N, gyrA D94A, gyrA D94G, gyrA D94H, gyrA D94N, gyrA D94V, gyrA D94Y, gyrA G88A& gyrA A90V, gyrA G88C, gyrA S91P, gyrA S91P; gyrA D94N, gyrB A504V).*

Pacienții în tulpinile cărora a fost apreciată prezența mutației genetice la MFX (cel puțin una dintre 17 gene) au fost reprezentați în mare parte de bărbați (73.5%, n=50), de către cei din mediul rural (72.%; n=49), cu vârsta până la 45 ani (70.6%; n=48), cu tuberculoză pulmonară (97.1%; n=66). Pacienții cu statut de migrant au fost o cincime (20.6%; n=14), iar cei cu retratamente – mai mult de jumătate (57.4%; n=39). Prin analiza de interdependență dintre factori s-a constatat că pacienții luați în evidența medicală pentru re-inițierea tratamentului pentru TB au de 1.82 [IÎ95%: 1.05-3.31] mai multe șanse de a prezenta cel puțin o mutație (din cele 17 gene) la MFX (p=0.040) (Anexa 5).

3.5.1.7 Prezența mutațiilor la Levofloxacină (LFX)

Mutațiile genetice la LFX au fost observate în peste o pătrime (26.5%; 71/268) dintre tulpinile TB MDR supuse secvențierii în cel puțin una dintre 21 gene (*gyrA A90V, gyrA A90V& gyrA D94G, gyrA A90V& gyrA D94H, gyrA A90V& gyrA S91P, gyrA D89N, gyrA D94A, gyrA D94G, gyrA D94H, gyrA D94N, gyrA D94V, gyrA D94Y, gyrA G88A& gyrA A90V, gyrA G88C, gyrA S91P, gyrA S91P& gyrA D94N, gyrB A504V, gyrB D461H& gyrB A504V, gyrB D461N, gyrB D461N& gyrA D94A, gyrB D461N& gyrA D94G, gyrB R446C& gyrA A74S& gyrA G88A).*

În Anexa 6 este prezentată dezagregarea după factorii demografici și clinici ai pacienților ale căror tulpini prezintă mutații genetice (cel puțin la una dintre cele 21 gene, solitar sau în combinație) la LFX. După cum se demonstrează în Anexa 6, pacienții notificați pentru re-inițierea tratamentul TB ale căror tulpini prezintă mutații genetice pentru LFX constituie mai mult de jumătate (57.7%; n=41). S-a estimat că pacienții notificați pentru retratament au mai multe șanse ca în tulpinile acestora să fie identificate mutații genetice pentru LFX (OR=1.88 [1.20-3.25], p=0.027) (Anexa 6).

3.5.1.8 Prezența mutațiilor la Kanamicină (KAN)

La 181 (67.5%) dintre tulpinile TB MDR supuse secvențierii (n=268) au fost observate mutații genetice în cel puțin în una dintre cele 11 gene (solitare sau asociate), precum: *eis -10g>a, eis -10g>a& eis -12c>t, eis -12c>t, eis -12c>t& eis -14c>t, eis -14c>t, eis -37g>t, rrs 1401a>g, rrs 1401a>g& eis -10g>a, rrs 1402c>t, rrs 1484g>t, rrs 1484g>t& eis -12c>t).* În baza analizei bivariate care estimează interdependența factorilor, nu au fost apreciate asocieri statistic semnificative între prezența mutației la KAN (11 gene) și factorii demografici sau clinici (Anexa 7). Ne-am propus să examinăm separat mutația genetică la KAN determinată de gene *eis -12c>t.* Dintre cele 181 (67.5%; 181/268) de tulpini cu mutații genetice la KAN, 129 (48.1%; 129/268) au fost în gena *eis -12c>t,* dintre care 103 (79.8%) au aparținut bărbaților, 93 (72.1%) – celor din mediu rural, 96 (74.4%) – pacienților cu vârsta de până la 45 ani, 23 (17.8%) – pacienților cu statut de migrant, 124 (96.1) – pacienților cu TB pulmonară și 65 (50.4%) – pacienților cu diagnosticul de TB stabilit pentru prima dată în viață (caz nou).

Analiza bivariată de interdependență a factorilor nu a determinat asocieri statistic semnificative între factorii studiați și prezența mutației în gena *eis -12c>t.*

3.5.1.9 Prezența mutațiilor la Amikacină (AMK)

Prezența mutațiilor genetice la AMK a fost apreciată în 4 gene (*eis -14c>t, rrs 1401a>g, rrs 1402c>t, rrs 1484g>t).* Mutațiile genetice la AMK (4 gene) au fost observate în 13.1%

(35/268) cazuri la tulpinile TB MDR supuse secvențierii. Datele din Anexa 8 prezintă dezagregarea după factori (demografici, clinici) și prezența mutațiilor (4 gene). Analiza de interdependență a găsit asocierea statistic semnificativă între statutul HIV pozitiv și prezența mutațiilor genetice (cel puțin în una dintre 4 gene) la AMK (OR=3.07 [IÎ95%:1.01-9.32], p=0.039).

Analiza de interdependență a factorilor demografici și clinici nu a estimat asocieri statistice semnificative cu prezența mutațiilor genetice (cel puțin în una dintre 4 gene) la AMK (Anexa 8).

3.5.1.10 Prezența mutațiilor la Capreomicină (CAP)

În 37 (13.8%) de tulpini TB MDR dintre cele 268 supuse secvențierii au fost observate mutații la nivel de 7 gene *(eis -14c>t, rrs 1401a>g, rrs 1402c>t, rrs 1484g>t, rrs 1401a>g& tlyA 615_ins_c, tlyA 593_del_t, tlyA S159).* În majoritatea cazurilor, pacienții a căror tulpini au prezentat mutații la CAP au fost bărbați, din mediul rural, cu vârsta până la 45 ani și cu TB pulmonară. Cazurile noi au constituit 51.4%, iar retratamentele 48.6%. În baza analizei de interdependență a factorilor s-a determinat asociere între statutul HIV pozitiv și prezența mutațiilor genetice la CAP (OR=3.87 [IÎ95%:1.34-11.2], p=0.018) (Anexa 9).

3.5.1.11 Prezența mutațiilor la Etionamidă/Protionamidă (ETH/PTO)

Dintre tulpinile cu TB MDR supuse secvențierii, 87.3% (234/268) au prezentat mutații genetice pentru ETH/PTO. În 130 de tulpini s-au observat mutații în gena *fabG1 -15c>t&ethA H281P* și care au aparținut în majoritatea cazurilor bărbaților, pacienților din mediul rural, cu vârsta de până la 45 ani și cu TB pulmonară. Mutația genetică *fabG1 -15c>t&ethA H281P* a fost întâlnită în 50.8% (n=66) cazuri la pacienții diagnosticați cu TB pentru prima dată în viață și în 49.2% (n=64) cazuri la pacienții cu retratament. La pacienții cu statut de migrant, mutația a fost apreciată în 16.9% (n=22) cazuri. Analiza de interdependență a estimat pentru pacienții cu TB MDR cu vârsta de până la 45 de ani șanse duble de a avea mutația *fabG1 -15c>t&ethA H281P* pentru ETH/PTO (OR=1.82 [iÎ95%:1.1-3.09], p=0.028). Statutul HIV pozitiv a fost observat drept factor protectiv pentru mutația *fabG1 -15c>t&ethA H281P* (Anexa 10).

La 104 tulpini, au fost observate 20 de mutații genetice la ETH/PTO, determinate de următoarele gene, precum: *ethA 1010_del_t, ethA 110_del_a, ethA 1242_del_t, ethA 341_del_a, ethA 703_del_t, ethA 768_del_g, ethA -7t>c, ethA 884_del_t, ethA 89_del_a, ethA N379D, ethA P378L, ethA T314I, ethA T61M, ethA W391, ethA Y147, fabG1 -15c>t, fabG1-15c>t; ethA H281P& ethA 110_del_a, fabG1 -15c>t& ethA H281P; ethA 768_del_g, fabG1-15c>t& ethA H281P& ethA T61M, fabG1 -15c>t& ethA P192L.*

În dezagregare după factorii demografici, s-a observat că mutațiile determinate de 20 de gene (solitar sau asociat) au fost în majoritatea cazurilor la bărbați (71.2%) și la cei din mediul rural (75.0%). Localizarea pulmonară la pacienții tulpinile cărora au prezentat mutații a fost apreciată în 97.1% cazuri. Pacienții notificați „caz nou" au constituit 57.7%, iar cei notificați pentru retratament – 42.3%. Statutul HIV pozitiv a fost observat în 12.5% cazuri în rândul celor cu mutații genetice determinate la cel puțin una dintre cele 20 de gene pentru ETH/PTO. Pacienții cu statut de migrant au fost o treime (28.8%) dintre cazuri. S-a estimat că pacienții TB MDR cu statut de migrant au șanse duble (OR=2.15 [iÎ95%:1.18-3.91], p=0.014) pentru mutațiile genetice determinate de cel puțin una dintre cele 20 de gene pentru ETH/PTO. Pentru cei cu statut HIV pozitiv s-a estimat un risc de 5 ori mai mare de avea mutații genetice la cel puțin una dintre cele 20 de gene pentru ETH/PTO (OR=5.71 [1.81-18.0], p=0.001) (Anexa 11).

3.5.1.12 Prezența mutațiilor la Cicloserină (CS)

Printre tulpinile TB MDR care au fost supuse secvențierii s-au depistat mutații genetice la Cicloserină în 6.0% (16/268) cazuri, acestea fiind determinate de 16 gene (*ald 322_del_t, ald 433_ins_gc, ald 433_ins_gc& ald 839_ins_g, ald 460_del_g, ald 636_ins_g& ald 991_ins_c, ald 874_del_g, ald 901_del_a, ald 902_ins_gc& ald 932_ins_cg& ald 965_ins_cg, ald 905_ins_cg& alr S22L, ald R151_, ald Y223_& ald 1081_ins_t, alr D344N, alr D344N& alr M343T, alr M343Talr R397L, alr S22L),* inclusiv în asociere. Datele din Anexa 12 prezintă distribuirea după factorii de risc și prezența mutațiilor în tulpinile TB MDR. Cu toate că numărul de mutații este mic, am putea presupune șanse mai mari pentru mutații la CS la pacienții cu TB extrapulmonară (OR=11.4 [IÎ95%:1.56-52.0]; p=0.016) și cu retratmente (OR=5.5 [IÎ95%:1.46-30.7], p=0.007) (Anexa 12).

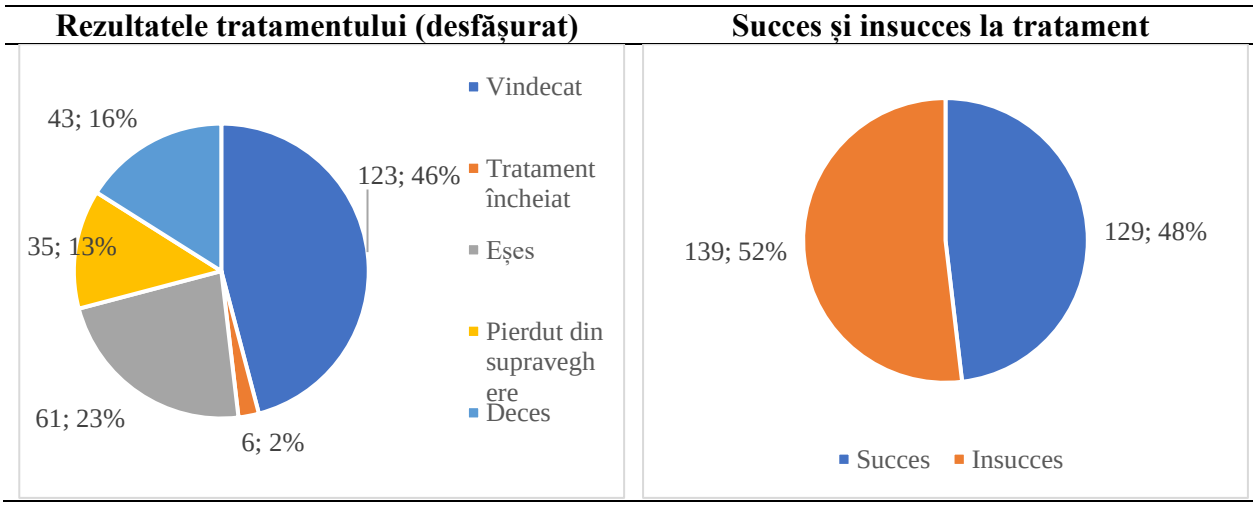
3.5.1.13 Prezența mutațiilor la Acidul para-aminosalicilic (PAS)

Mutațiile genetice la PAS au fost determinate în gena *thyA R222G,* dar și alte 5 gene. Gena *thyA R222G* a determinat mutații la PAS în 13.8% (37/268) cazuri printre tulpinile TB MDR supuse secvențierii. Analiza bivariată care apreciază interdependența dintre factori, a scos în evidență că femeile (OR=2.26 [IÎ95%: 1.08-4.72], p=0.036) și pacienții înregistrați cu TB pentru prima dată în viață (OR=2.3 [iÎ95%: 1.1-5.31], p=0.043) au mai multe șanse pentru mutații în gena *thyA R222G* responsabilă de rezistența la PAS (Anexa 13). Prezența mutațiilor la PAS determinate de alte 5 gene (*folC E40G, folC I43T, folC S150G, folC S150G& thyA R222G, Rv2670c A5V, thyA R222G)* a fost observată în 24 de tulpini (9.0%) supuse secvențierii.

Practic toți bărbații (95.8%) au prezentat mutații genetice la cel puțin una dintre cele enumerate. Analiza a evidențiat că bărbații au șanse mai mari (OR=7.83 [IÎ95% 1.21-59.2], p=0.021) de a avea mutații la cel puțin una dintre cele 5 gene (Anexa 14).

3.5.2 Evaluarea factorilor determinanți care ar putea influența rezultatul tratamentului

Pacienții din cohorta TB-MDR a căror tulpini de *Mtbc* au fost supuse secvențierii au înregistrat un succes la tratament în 48,1% [IÎ95%: 42,15-54,12] cazuri. Insuccesul la tratament a fost înregistrat în 51,9% [IÎ95%: 45,88-57,85] cazuri și a fost determinat de eșec la tratamentului administrat (22,8% [IÎ95%:17,74-27,78]; 61/268), de decesul în urma progresării procesului tuberculos sau din alte motive (16,0; [IÎ95%:11,65-20,44]; 43/268) și de cei pierduți din supravegherea medicală care nu și-au administrat tratamentul pentru o perioadă de cel puțin 2 luni (13,1%; [IÎ95%:9,27-17,69]; 35/268).



Succes – vindecat și tratament încheiat; Insucces – eșec, pierdut din supraveghere, deces

Fig. 3.11. Rezultatele tratamentului, cohorta TB-MDR a căror tulpini *Mtbc* au fost supuse secvențierii

În cadrul cercetării ne-am propus să analizăm interdependența dintre existența mutațiilor genetice care conferă rezistență către medicamentele anti-microbiene utilizate în tratamentul TB. În analiza bivariată am determinat că tulpinile de *Mtbc* care au prezentat mutații la MFX și LFX au șanse mai mari de a avea insucces la regimurile aplicate pentru tratamentul TB-MDR (Tabelul 3.10). Mai mult de o treime (36,%; 50/139) dintre pacienții în a căror tulpini de *Mtbc* s-au determinat mutații genetice la MFX au finalizat tratamentul pentru TB cu insucces. Pentru aceștia s-a determinat că au avut de 3,46 [IÎ95%:1,83-6,75] ori mai multe șanse de a avea insucces la tratamentul pentru TB (p<0,0001). Mutațiile genetice care au determinat rezistența la MFX au fost

identificate în 17 gene. Cele mai multe mutații au fost detectate în gena *gyrA* cu codul D94G (7,8%; 21/268) și *gyrA* cu codul A90V (4,6%; 13/268) (Tabelul 3.10).

Tabelul 3.10. Factori determinanți care ar putea determina insuccesul la tratamentul antituberculos a pacienților cu TB-MDR (n=268)**

Denumire medicament și prezența mutațiilor	Insucces n (%)	Succes n (%)	OR [IÎ95%]	Valoare p
Total	**139**	**129**		
Streptomicină (STM)				
Da	127 (91,4)	120 (93,0)	0,79 [0,28-2,14]	0,784*
Nu	12 (8,6)	9 (7,0)	ref	
Etambutol (EMB)				
Da	83 (59,7)	82 (63,6)	0,85 [0,52-1,39]	0,784
Nu	56 (40,3)	47 (36,4)	ref	
Pirazinamidă (PZA)				
Da	70 (50,4)	62 (48,1)	1,10 [0,68-1,77]	0,707
Nu	69 (49,6)	67 (51,9)	ref	
Moxifloxacină (MFX)				
Da	50 (36,0)	18 (14,0)	3,46 [1,83-6,75]	<0,0001*
Nu	89 (64,0)	111 (86,0)	ref	
Levofloxacină (LFX)				
Da	52 (37,4)	19 (14,7)	3,46 [1,85-6,65]	<0,0001*
Nu	87 (62,6)	110 (85,3)	ref	
Kanamicină (KAN)				
Da	100 (71,9)	81 (62,8)	1,52 [0,91-2,54]	0,110
Nu	39 (28,1)	48 (37,2)	ref	
Amikacină (AMK)				
Da	17 (12,2)	18 (14,0)	0,86 [0,39-1,86]	0,812*
Nu	122 (87,8)	111 (86,0)	ref	
Capreomicină (CAP)				
Da	18 (12,9)	19 (14,7)	0,86 [0,40-1,83]	0,806*
Nu	121 (87,1)	110 (85,3)	ref	
Etionamidă/Protionamidă (ETH/PTO)				
Da	121 (87,1)	113 (87,6)	0,95 [0,43-2,08]	>0,999*
Nu	18 (12,9)	16 (12,4)	ref	
Cicloserină (CS)				
Da	13 (9,4)	3 (2,3)	4,33 [1,15-24,16]	0,026*
Nu	126 (90,6)	126 (97,7)	ref	
Acid para-aminosalicilic (PAS)				
Da	28 (20,1)	33 (25,6)	0,74 [0,40-1,30]	0,360*
Nu	111 (79,9)	96 (74,4)	ref	

* Fisher exact test; ref – valoarea de referință; IÎ – interval de încredere; OR - odds ratio
** Insuccesul la tratament = deces din orice motiv pe parcursul tratamentului antituberculos, eșec, pierdut din supravegherea medicală.

Insuccesul tratamentului TB a fost stabilit în proporție de 37,4% (52/139) printre pacienții cu tulpini *Mtbc* în care au fost prezente mutații genetice care au determinat rezistența la LFX. Pacienții cu astfel de mutații în tulpini *Mtbc* au avut de 3,46 [IÎ95%: 1,85-6,65] ori mai multe șanse de a avea insucces la tratament (p<0,0001). Mutațiile au fost identificate în 21 de gene, cele mai multe fiind determinate de *gyrA* cu codul D94G (7,5%; 20/268) și de *gyrA* cu codul A90V (4,9%;

13/268) (Tabelul 3.10). Cei cu rezultatul nefavorabil (eșec sau deces) și tulpini *Mtbc* cu mutații responsabile de rezistența la PZA au avut de 1,62 [IÎ95%: 0,97-2,69] ori mai multe șanse pentru insucces.

Prezența mutațiilor genetice care definesc rezistența la Cicloserină a determinat insuccesul la tratament în 9,4% (13/139) cazuri. Pacienții cu astfel de tulpini *Mtbc* au avut de 4,33 [IÎ95%: 1,15-24,16] ori mai multe șanse de a dezvolta un insucces față de cei a căror tulpini *Mtbc* nu conțin astfel de mutații (p=0,026) (Tabelul 3.10).

Tabelul 3.11. Factori determinanți care ar putea determina insuccesul (deces sau eșec) la tratamentul antituberculos a pacienților cu TB-MDR (n=268)

Denumire medicament și prezența mutațiilor	**Deces sau eșec**		**OR [IÎ95%]**	**Valoare p**
	Da N (%)	**Nu N (%)**		
Total	**91**	**177**		
Streptomicină (STM)				
Da	81 (89,0)	166 (93,8)	0,54 [0,22-1,32]	0,129*
Nu	10 (11,0)	11 (6,2)		
Etambutol (EMB)				
Da	59 (64.8)	106 (59,9)	1,23 [0,73-2,09]	0,257
Nu	32 (35,2)	71 (40,1)		
Pirazinamidă (PZA)				
Da	52 (57,1)	80 (45,2)	1,62 [0,97-2,69]	**0,042**
Nu	39 (42,9)	97 (54,8)		
Moxifloxacină (MFX)				
Da	41 (45,1)	27 (15,3)	4,56 [2,56-8,15]	**<0,0001***
Nu	50 (54,9)	150 (84,7)		
Levofloxacină (LFX)				
Da	43 (47,3)	28 (15,8)	4,77 [2,68-8,48]	**<0,0001***
Nu	48 (52,7)	149 (84,2)		
Kanamicină (KAN)				
Da	67 (73,6)	114 (64,4)	1,54 [0,881-2,70]	0,082
Nu	24 (26,4)	63 (35,6)		
Amikacină (AMK)				
Da	12 (13,2)	23 (13,0)	1,02 [0,48-2,15]	0,552*
Nu	79 (86,8)	154 (87,0)		
Capreomicină (CAP)				
Da	13 (14,3)	24 (13,6)	1,06 [0,51-2,20]	0,504*
Nu	78 (85,7)	153 (86,4)		
Etionamidă/Protionamidă (ETH/PTO)				
Da	79 (86,8)	155 (87,6)	0,93 [0,44-1,98]	0,501*
Nu	12 (13,2)	22 (12,4)		
Cicloserină (CS)				
Da	9 (9,9)	7 (4,0)	2,67 [0,96-7,41]	0,050*
Nu	82 (90,1)	170 (96.0)		
Acid para-aminosalicilic (PAS)				
Da	18 (19.8)	43 (24,3)	0,77 [0,41-1,43]	0,250*
Nu	73 (80,2)	134 (75,7)		

* Fisher exact test; ref – valoarea de referință; IÎ – interval de încredere; OR -odds ratio

Luând în considerație că insuccesul la tratament a fost cauzat inclusiv de eșecul la tratament (22,8%; 61/268) și decesul din cauza progresării procesului tuberculos (11,2%; 30/268), am analizat pentru aceste două evenimente factorii (prezența mutațiilor genetice) care au putut determina rezultatul nefavorabil anume din aspecte terapeutice. S-a constat că mutațiile ce răspund de rezistența la LFX și MFX ar putea fi considerate drept factori determinanți în insuccesul terapeutic. Cei cu rezultatul nefavorabil (eșec sau deces) și tulpini *Mtbc* cu mutații responsabile de rezistența la PZA au avut de 1,62 [IÎ95%: 0,97-2,69] ori mai multe șanse pentru insucces (p=0,042), cei cu mutații responsabile de rezistența la MFX (45,1%; 41/139) au avut de 4,56 [IÎ95%: 2,55-8,15] ori mai multe șanse pentru insucces (p<0,0001), iar cei cu mutații pentru rezistență la LFX (47,3%; 43/139) au avut de 4,77 [IÎ95%: 2,68-8,48] ori mai multe șanse pentru insucces (p<0,0001). Mutațiile responsabile de rezistența la CS (9,9%; 9/139) nu au fost determinante pentru eșec sau deces (OR= 2,67 [IÎ95%: 0,96-7,41], p=0,101) (Tabelul 3.11).

Tabelul 3.12. Factori asociați rezultatului nefavorabil la tratamentul antituberculos printre persoanele care au prezentat tulpini *Mtbc* cu mutații responsabile de rezistența la PZA

Caracteristici	Rezultat nefavorabil**		OR [IÎ95%]	Valoare p
	Da N (%)	Nu N (%)		
Total	**52**	**80**		
Sex				
Bărbați	41 (78,8)	59 (73,8)	1,33 [0,58-3,05]	0,325*
Femei	11 (21,2)	21 (26,2)	ref	
Mediu de reședință				
Urban	15 (28,8)	18 (22,5)	1,40 [0,63-3,10]	0,267*
Rural	37 (71,2)	62 (77,5)	ref	
Vârsta				
≤ 44 ani	35 (67,3)	55 (68,8)	0,94 [0,44-1,98]	0,505*
> 45 ani	17 (32,7)	25 (31,2)	ref	
Migrant				
Da	13 (25,0)	20 (25,0)	1,0 [0,45-2,24]	0,584*
Nu	39 (75,0)	60 (75,0)	ref	
Tip caz TB				
Caz nou	22 (42,3)	41 (51,2)	0,69 [0,34-1,41]	0,204*
Retratament	30 (57,7)	39 (48,8)	ref	
Localizare				
Pulmonară	51 (98,1)	77 (96,2)	1,99 [0,20-19,6]	0,484*
Extrapulmonară	1 (1,9)	3 (3,8)	ref	
Statutul HIV				
Pozitiv	4 (7.7)	5 (6.2)	1,25 [0.32-4.89]	0,738*
Negativ/necunoscut	48 (92.3)	75 (93.8)	ref	

* Fisher exact test; ref – valoarea de referință; IÎ – interval de încredere; OR -odds ratio
** Rezultat nefavorabil include rezultatul eșec la tratament și deces din cauza progresării procesului tuberculos

În cadrul cercetării au fost evaluați factorii de risc pentru rezultatul nefavorabil la tratamentul antituberculos (eșec și decesul din cauza progresării procesului tuberculos) printre persoanele care

au prezentat tulpini *Mtbc* cu mutații responsabile de rezistența la PZA (n=132). În analiza bivariată au fost analizați potențialii factori de risc precum: factorii demografici (vârsta, mediul de reședință și sexul), factorul social (prezența statutului de migrant) și factori clinici (tipul de notificare a cazului și localizarea procesului tuberculos).

Nici unul dintre factorii enumerați nu au fost găsiți asociați cu rezultatul nefavorabil la tratamentul antituberculos printre persoanele care au prezentat tulpini *Mtbc* cu mutații responsabile de rezistența la PZA (Tabelul 3.12).

Pentru următoarea etapă ne-am propus să evaluăm potențialii factori de risc (demografici, sociali și clinici) pentru rezultatul nefavorabil la tratamentul antituberculos (eșec și decesul din cauza progresării procesului tuberculos) printre persoanele care au prezentat tulpini *Mtbc* cu mutații responsabile de rezistența la MFX (n=68). Analiza bivariată nu găsit nici o asociere a factorilor de risc cu rezultatul nefavorabil la tratamentul antituberculos printre persoanele care au prezentat tulpini *Mtbc* cu mutații responsabile de rezistența la MFX (Tabelul 3.13).

Tabelul 3.13. Factori asociați rezultatului nefavorabil la tratamentul antituberculos printre persoanele care au prezentat tulpini *Mtbc* cu mutații responsabile de rezistența la MFX

Caracteristici	Rezultat nefavorabil**		OR [IÎ95%]	Valoare p
	Da N (%)	Nu N (%)		
Total	**41**	**27**		
Sex				
Bărbați	32 (78,0)	18 (66,7)	1,78 [0,60-5,29]	0,223*
Femei	9 (22,0)	9 (66,7)	ref	
Mediu de reședință				
Urban	14 (34,1)	5 (18,5)	2,28 [0,71-7,32]	0,129*
Rural	27 (65,9)	22 (81,5)	ref	
Vârsta				
≤ 44 ani	27 (65,9)	21 (77,8)	0,55 [0,18-1,68]	0,218*
> 45 ani	14 (34,1)	6 (22,2)	ref	
Migrant*				
Da	8 (19,5)	6 (22,2)	0,85 [0,26-2,79]	0,509*
Nu	33 (80,5)	21 (77,8)	ref	
Tip caz TB				
Caz nou	16 (39,0)	13 (48,1)	0,69 [0,26-1,84]	0,310*
Retratament	25 (61,0)	14 (51,9)	ref	
Localizare				
Pulmonară	41 (100,0)	25 (92,6)	-	
Extrapulmonară	-	2 (7,4)		
Statutul HIV				
Pozitiv	2 (4.9)	1 (3.7)	1.33 [0.11-15.5]	1.000*
Negativ/necunoscut	39 (95.1)	26 (96.3)	ref	

** Rezultat nefavorabil include rezultatul eșec la tratament și deces din cauza progresării procesului tuberculos

În același context, ne-am propus să evaluăm potențialii factori de risc (demografici, sociali și clinici) pentru rezultatul nefavorabil la tratamentul antituberculos (eșec și decesul din cauza

progresării procesului tuberculos) printre persoanele care au prezentat tulpini *Mtbc* cu mutații responsabile de rezistența la LFX (n=71). În analiza bivariată nu s-a găsit nici o asociere a potențialilor factorilor de risc cu rezultatul nefavorabil la tratamentul antituberculos printre persoanele care au prezentat tulpini *Mtbc* cu mutații responsabile de rezistența la LFX (Tabelul 3.14).

Tabelul 3.14. Factori asociați rezultatului nefavorabil la tratamentul antituberculos printre persoanele care au prezentat tulpini *Mtbc* cu mutații responsabile de rezistența la LFX

Caracteristici	Rezultat nefavorabil**		OR [IÎ95%]	Valoare p
	Da N (%)	Nu N (%)		
Total	**43**	**28**		
Sex				
Bărbați	34 (79,1)	19 (67,9)	1,79 [0,61-5,28]	0,216*
Femei	9 (20,9)	9 (32,1)	ref	
Mediu de reședință				
Urban	14 (32,6)	6 (21,4)	1,70 [0,59-5,35]	0,228*
Rural	29 (67,4)	22 (78,6)	ref	
Vârsta				
≤ 44 ani	29 (67,4)	22 (78,6)	0,57 [0,19-1,71]	0,228*
> 45 ani	14 (32,6)	6 (21,4)	ref	
Migrant*				
Da	9 (20,9)	6 (21,4)	0,97 [0,30-3,11]	0,593*
Nu	34 (79,1)	22 (78,6)	ref	
Tip caz TB				
Caz nou	17 (39,5)	13 (46,4)	0,75 [0,29-1,97]	0,370*
Retratament	26 (60,5)	15 (53,6)	ref	
Localizare				
Pulmonară	43 (100,0)	26 (92,9)	-	
Extrapulmonară	-	2 (7,1)		
Statutul HIV				
Pozitiv	2 (4.7)	1 (3.6)	1.32 [1.11-15.2]	1.000*
Negativ/necunoscut	41 (95.3)	27 (96.4)	ref	

* Fisher exact test; ref – valoarea de referință; IÎ – interval de încredere; OR - odds ratio
** Rezultat nefavorabil include rezultatul eșec la tratament și deces din cauza progresării procesului tuberculos

3.6 Concluzii în baza capitolului 3

1. Migrarea pacienților între secții, cantina, locuri de plimbare este asigurată în baza anumitor criterii microbiologice și de protecție personală. Cu toate acestea, au fost cazuri de transfer a pacienților între secții observat în 3% cazuri, în cele mai frecvente cazuri acestea fiind condiționate de indicații clinice, cum ar fi schimbarea diagnosticului din non-TB în TB, dar și în cazul când pacienți cu TB RR/MDR au fost inițial internați într-o secție non-MDR (cu o durata medie de spitalizare de 7 zile) și apoi transferați în secția MDR, iar în unele cazuri în alte secții non-MDR, dar diferite de cea inițială.

2. Cohorta pacienților cu TB analizată în studiu prezintă o similaritate statistică cu cohorta națională de pacienți (pentru anul 2014) în conformitate cu parametrii de bază precum sexul, grupul de vârstă, statutul HIV și statutul de migrant. Acest fapt, confirmă că datele obținute în prezenta cercetare sunt reprezentative la nivel național, luând în considerare că parametrii demografici de baza sunt similari în ambele cohorte.
3. Prezența mutațiilor genetice responsabile de rezistența la medicamentele utilizate pentru tratamentul TB a fost determinată la 13 dintre 17 medicamente anti-microbiene supuse analizei și care variază de la 100% (INH și RIF, medicamente de linia I) și 6,0% (CS, medicament de linia II). Nu au fost identificate mutații la nivel de gene responsabile de rezistența la CFZ, LZD, BDQ și DLM, ceea ce conferă încredere în aplicarea regimurilor noi, de scurtă durată recomandate recent de către OMS [216] pentru tratamentul TB rezistente.
4. Datele studiului au estimat șanse mai mari pentru pacienții cu TB MDR cu vârsta de până la 45 ani de a prezenta mutații genetice la INH (gena fabG1 -15c>t& katG S315T), la ETH/PTO (*fabG1 -15c>t&ethA H281P)*; pentru cei cu vârsta mai mare de 45 ani la EMB (cel puțin una dintre mutații în 21 gene); pentru femei la INH (*katG S315T)*, la PAS (*thyA R222G);* pentru cei din mediul urban la EMB (*embB M306V)*; cu statut de migrant la PZA (83 gene) sau la ETH/PTO (20 gene); pentru cazurile noi la INH (*katG S315T),* la PAS *(thyA R222G)*; pentru retratamente la RIF (*rpsL K88R)*, la MFX (17 gene) la MFX; la LFX (21 gene), pentru cei cu statut HIV pozitiv la AMK, la CAP și la ETH/PTO.
5. Rezultatele tratamentului anti-tuberculos în cohorta TB-MDR a căror tulpini de *Mtbc* au fost supuse secvențierii, au înregistrat un succes la tratament în 48,1% cazuri. Analiza bivariată a determinat că tulpinile de *Mtbc* care au prezentat mutații în genele responsabile pentru rezistența la MFX și LFX au șanse mai mari de a avea insucces la regimurile aplicate pentru tratamentul TB-MDR.
6. Tulpinile de *Mtbc* care au prezentat mutații în genele responsabile pentru rezistența la MFX, LFX și PZA au fost găsite drept responsabile pentru rezultatul nefavorabil la tratamentul tuberculos (eșec și deces în urma progresării procesului tuberculos). Rezultatul nefavorabil la tratamentul tuberculos (eșec și deces în urma progresării procesului tuberculos) printre persoanele care au prezentat mutații în genele responsabile pentru rezistența la MFX, LFX și PZA nu a fost asociate cu careva dintre factorii demografici, sociali sau clinici.

4 ANALIZA FILOGENETICĂ ȘI IDENTIFICAREA CLUSTERELOR DE TRANSMITERE

4.1 Prevalența genotipului de rezistență la medicamente

O revizuire sistematică care a inclus 95 de studii, cu tulpini izolate în perioada 1992-2014 din cadrul a 37 de țări, menționează că numărul total de izolate cu date disponibile de secvență rpoB a fost de 13.424 [144]. Folosind doar mutațiile cu grad de încredere ridicat, mediu și scăzut identificate în revizuirea lui Miotto ca predictori ai rezistenței fenotipice, sensibilitatea și specificitatea pentru detectarea rezistenței la rifampicină au fost estimate la 91% (95%IC: 89,8-91,1) și 100% (95%IC: 99,9-100,0), respectiv. Cu toate acestea, această estimare exclude mutațiile asociate cu rezistența fenotipică la rifampicină care nu au putut fi clasificate din cauza datelor insuficiente. Dacă aceste mutații ar fi luate în considerare în plus față de mutațiile din intervalul de încredere, sensibilitatea și specificitatea pentru detectarea rezistenței la rifampicină ar fi fost de 96% (95%IC: 95,2-96,1) și, respectiv, 99% (95%IC: 98,1-98,8). Rezistența la rifampicină este asociată, exclusiv, cu mutațiile care apar în gena rpoB [144].

Cel mai recent articol ce prezintă rezultatele unui studiu observațional prospectiv multicentric, care a analizat 900 de izolate clinice ale complexului *Mtbc,* colectate de la adulții cu tuberculoză rezistentă la medicamente din cinci țări, cu incidență ridicată la TB, din întreaga lume (Georgia, Republica Moldova, Peru, Africa de Sud și Vietnam) în perioada 5 decembrie 2014 - 12 decembrie 2017. În urma studiului, au fost determinate și corelate cu mutațiile care conferă rezistențe identificate prin secvențierea genomului integral și concentrațiile minime inhibitorii (MIC) ale rezultatelor testării sensibilității fenotipice la maxim nouă medicamente antituberculoase [226].

În același timp Tyler S. Brown și coaut. descrie evoluția și apariția TB rezistente la medicamente, studiată pe larg în diverse situații, însă factorii ecologici ai acestor două procese rămân dificil de înțeles. Acest studiu a urmărit să descrie istoriile evolutive și epidemiologice comune ale unei noi tulpini de *Mtbc* MDR, identificată în Republicii Moldova (MDR Ural/4.2), în cazul căreia supravegherea genomică a *Mtbc* rezistentă la medicamente a fost limitată până acum.

Folosind datele întregii secvențe ale genomului și metodele filogenomice bayesiene, au reconstruit apariția treptată a mutațiilor rezistenței la medicamente în tulpina MDR Ural/4.2, estimând dimensiunea istorică a populației bacteriene în timp cu deducerea istoriei migrației acestei tulpini între țările din Europa de Est. Concluzia poate fi că tulpina MDR Ural/4.2 a evoluat probabil (prin achiziția rpoB S450L, care conferă rezistență la rifampină) la începutul anilor 1990,

în timpul unei perioade de tulburări sociale după proclamarea independenței Republicii Moldova de Uniunea Sovietică.

Această tulpină a suferit ulterior o extindere substanțială în populația generală la începutul anilor 2000, într-un moment în care ghidurile naționale încurajau tratamentul în staționare al pacienților cu TB, cu exportul, începând cu anul 1985, a acestei tulpini și a precursorului său ancestral rezistent la INH din Republica Moldova către țările vecine. Concluziile sugerează asocieri temporale și ecologice între practicile specifice de sănătate publică, inclusiv internarea în spital a cazurilor cu TB rezistentă la medicamente de la începutul anilor 2000 până în 2013, și evoluția *Mtbc* rezistentă la medicamente în Republica Moldova. Aceste constatări subliniază necesitatea unei coordonări regionale în controlul TB și eforturile extinse de supraveghere genomică în Europa de Est [25].

Articolul „Analiza genomică a tulpinilor de *Mycobacterium tuberculosis* diverse la nivel global" oferă perspective asupra apariției și răspândirii rezistenței la mai multe medicamente. Autorii au examinat un set de date de secvențe ale întregului genom din 5,310 izolate de *Mtbc* de pe cinci continente. În ciuda diversității mari în ceea ce privește punctul geografic de izolare, fondul genetic și rezistența la medicamente, modelele pentru apariția rezistenței la medicamente au fost conservate la nivel global. S-au identificat mutații precursoare care preced adesea rezistența la mai multe medicamente. În special, mutația *katG* care codifică rezistență la izoniazidă, a apărut în mod covârșitor înaintea mutațiilor care au conferit rezistență la rifampicină în toate liniile, regiunile geografice și perioadele de timp [157]. Prin urmare, diagnosticul molecular, care include markeri pentru rezistența la rifampicină sunt insuficiente pentru a identifica tulpinile pre-MDR. Încorporarea cunoștințelor despre polimorfismele care apar înainte de apariția rezistenței multiple la medicamente, în special, *katG*, în diagnosticul molecular ar trebui să permită tratamentul țintit al pacienților cu pre-MDR-TB pentru a preveni dezvoltarea ulterioară a TB RR/MDR [157].

Într-un alt studiu, care a fost desfășurat utilizând metode filodinamice, au fost examinate istoriile evolutive și epidemiologice comune ale acestei tulpini în Republica Moldova și în țările din vecinătate. În studiu au fost incluși 404 persoane cu TB confirmată prin cultură pozitivă la momentul inițierii tratamentului și internați în spital municipal de TB din Chișinău, Republica Moldova, în perioada octombrie 2013 - decembrie 2014. Spitalul municipal de TB deservește populația municipiul Chișinău de aproximativ 700 000 de cetățeni. Cohorta de studiu a inclus pacienții cu TB (atât de sex masculin cât și de sex feminin) cu vârstă mai mare de 5 ani, atât HIV negativi, cât și HIV pozitivi, care au fost eligibili pentru studiu și au avut cel puțin un rezultat pozitiv al culturii *Mtbc*. Pacienții au fost excluși din studiu, dacă cantitatea de spută furnizată a fost mai mică de 5 ml și dacă cultura lor de *Mtbc* a fost negativă sau dacă nu au oferit

consimțământul informat. Izolatele în serie viabile au fost procesate pentru analiza întregii secvențe genomice [25]. Dintre cele 404 persoane, pentru analiza filogenetică, într-un final, au fost selectate 283 izolate de *Mtbc* cu date de secvențierea genomului integral care îndeplinesc criteriile pentru adâncimea de citire și acoperirea secvenței. În rezultat, o proporție mare de izolate din această probă au purtat mutații asociate rezistenței la medicamente antimicrobiene, s-a determinat că 50,2% dintre izolate au avut cel puțin o mutație asociată cu rezistența la izoniazidă, 46,3% dintre izolate au fost MDR după genotipare (s-au depistat mutații asociate atât cu rezistența la INH, cât și la RIF) și 15,9% dintre toate izolatele au fost pre-XDR după genotipare la care s-au identificat mutațiile gyrA asociate cu rezistența la fluorochinolone (pre-XDR) [25].

În cadrul studiului nostru s-a urmărit prospectiv detectarea evenimentele de transmitere a tulpinilor TB RR/MDR în cadrul spitalului. S-a efectuat o analiza detaliată a suprapunerii fiecărui pacient dintr-un anumit salon, secție sau în spital pentru fiecare zi a anului. Pe durata studiului am reușit să identificăm care dintre cei 307 pacienți internați cu TB RR/MDR au fost inițial spitalizați într-o altă secție decât cea conform spectrului de rezistență care potențial ar putea duce la transmiterea nosocomială către alți pacienți cu TB sensibilă la medicamente sau la pacienți cu boli non-TB în această perioadă.

Patruzeci și unu dintre pacienții cu TB RR/MDR s-au aflat timp de 631 de zile din momentul internării într-o secție non-MDR până când li s-a identificat TB rezistentă la medicamente, în urma căreia pacienții au fost transferați în secția MDR [210]. Folosind metoda de secvențiere a întregului genom micobacterian pe toate tulpinile TB RR/MDR de la pacienții cu indice presupus și de la pacienții cu TB sensibilă la medicamente care au dezvoltat ulterior TB RR/MDR în timpul monitorizării, s-au identificat 2 evenimente de transmitere foarte probabilă, care indică o rată scăzută de transmitere nosocomială a tulpinilor TB RR/MDR și care confirmă constatările anterioare a studiului retrospectiv desfășurat în țară [10]. Cu toate acestea, constatările noastre sunt limitate datorită clonalității ridicate a tulpinilor *Mtbc* la pacienții cu TB RR/MDR, în special, în genotipul Ural. Migrarea pacienților în spital a fost investigată detaliat, fiind identificate doar două evenimente de transmitere nosocomială. Prin urmare, transmiterea nosocomială a TB RR/MDR în Republica Moldova este mult mai scăzută comparativ cu transmiterea extraspitalicească.

Cu toate că pacienții cu TB RR/MDR au fost internați din diverse motive în secții non-MDR, care, de fapt, este una cu expunere semnificativă, transmiterea nosocomială este puțin probabilă. Rata foarte mică de transmitere nosocomială sugerează că măsurile de izolare existente, inițierea tratamentului TB RR/MDR și managementul cazului de TB în spital sunt destul de eficiente. Astfel, transmiterea nosocomială nu este un factor de răspândire a TB RR/MDR așa cum se credea anterior [8], iar măsurile de control a transmiterii TB ar trebui concentrate asupra comunității.

Capacitatea de secvențiere a întregului genom micobacterian pentru a urmări cu încredere evenimentele de transmitere directă pe baza distanței genetice, în cadrul studiului nostru, este limitată de clonalitatea ridicată a celor 2 grupuri cu prevalență ridicată (Beijing și Ural), unde 92% dintre tulpinile TB RR/MDR din Republica Moldova aparțin acestor 2 grupuri de transmitere [227]. Majoritatea legăturilor epidemiologice presupuse, bazate pe măsurarea distanței genetice (≤ 5 SNP-uri între izolatele pacienților), au trebuit să fie excluse din cauza lipsei suprapunerilor spitalicești a pacienților.

Transmiterea nosocomială a infecției cu *Mtbc* în condițiile țărilor cu povară înaltă de TB RR/MDR a fost raportată în mod regulat în literatură [228] [229] [230]. Datele anterioare, în cadrul unui studiu efectuat pe o cohortă selectată retrospectiv, au indicat o rată potențială de aproximativ 5% a transmiterii tulpinilor de TB RR/MDR în Republica Moldova [119]. În același timp, implementarea sistematică a măsurilor de bază de control al infecției este foarte eficientă în reducerea transmiterii infecției cu TB [231]. Cadrul general pentru intervențiile de control al infecțiilor cuprinde trei grupuri complementare de măsuri: măsuri administrative, controale de mediu și utilizarea echipamentului individual de protecție [232]. Se reliefă faptul că, în perioada imediat anterioară studiului, dar și în timpul perioadei de studiu, s-a produs o consolidare substanțială a acestor intervenții. Aceasta ar putea fi unul dintre factorii care contribuie la reducerea transmiterii intraspitalicești și la o incidența scăzută a acestor fenomene în timpul studiului.

Pe durata studiului nu am identificat rezistența genotipică la BDQ, LZD, CFZ și DLM, demonstrând că noile regimuri cu administrare per-os, cum ar fi BPaL [233], pot fi potențial eficiente pentru astfel de pacienți. Cu toate acestea, 25% din rezistența împotriva fluorochinolonelor exclude utilizarea empirică a fluorochinolonelor fie ca parte a regimului BPaLM [234], fie (la pacienții care nu ar fi eligibili pentru regimuri BPaL) ca parte a regimurilor care conțin BDQ administrate pe cale orală sau ca parte din așa-numitul regim de tratament mai lung conform recomandărilor OMS [235]. Datele recente din studiu documentează o apariție rapidă a rezistenței la BDQ la scurt timp după introducerea acestui medicament pentru tratamentul TB RR/MDR și XDR [236]. Acestea sunt două argumente pentru extinderea TSM în țările cu o povară mare de TB RR/MDR. Din păcate, metodele moleculare utilizate în mod curent pentru testarea rapidă a sensibilității la medicamente nu pot evalua rezistența față de majoritatea medicamentelor, clasificate după OMS în grupurile A și B. Implementarea unor instrumente noi, dezvoltate recent, bazate pe secvențierea profundă țintită, ar putea fi o soluție pentru provocările din viitor [237].

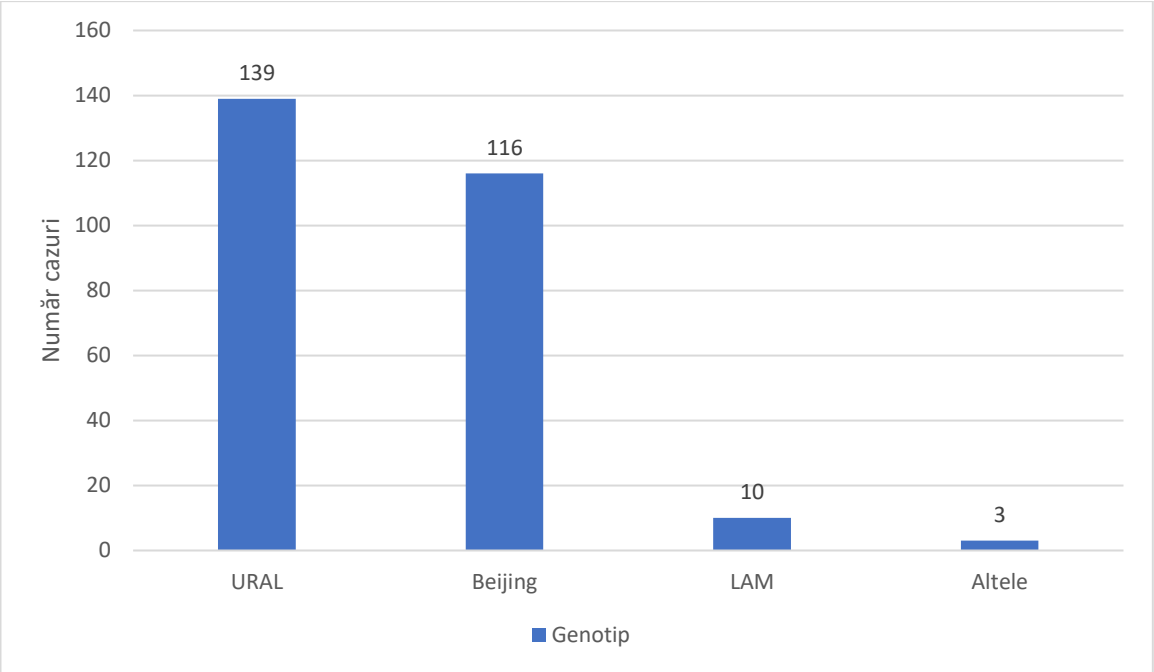


Fig. 4.1. Distribuția genotipurilor în cohorta TB RR/MDR

Genotipul Beijing este asociat cu o rezistență mai mare la tratamentul standard pentru TB, iar studiile au arătat că poate fi mai dificil de tratat decât genotipul Ural. Cu toate acestea, rata de succes a tratamentului poate varia în funcție de starea generală de sănătate a pacientului, gradul de rezistență la medicamente și respectarea programului de tratament prescris. Comparând succesul tratamentului între cele doua genotipuri s-a observat că succesul tratamentului în cazul pacienților care au TB rezistentă cu genotipul Beijing, a reprezentat 51,7% (60/116) pe când insuccesul - 48,3% (56/116), iar în cazul genotipului Ural succesul a reprezentat 43,9% (61/139) iar insuccesul - 56,1% (78/139). Analizând cazurile de deces între cele două genotipuri, putem evidenția un procent mai mare în rândul pacienților cu genotipul Ural de 53,5% (23/43) comparativ cu pacienți la care s-a depistat genotipul Beijing 46,5% (20/43).

4.2 Deducerea evenimentelor de transmitere de la pacient la pacient

În scopul identificării transmiterii tulpinii TB RR/MDR de la un pacient la altul s-a utilizat distanță maximă între perechi între două tulpini de TB RR/MDR care au până la 5 SNP-uri diferențe, pentru a identifica clusterele moleculare ca marker surogat pentru transmiterea recentă a tulpinilor TB RR/MDR [11]. O posibilă transmitere directă între pacienții internați cu TB RR/MDR și a „pacienților focus” a fost dedusă atunci când ambele izolate aparțineau aceluiași grup molecular și împărtășeau profiluri genotipice identice de rezistență la medicamentele anti-tuberculoase. Pentru a vizualiza tulpinile de *Mtbc* de la pacienții care au dobândit TB RR/MDR în spital, s-a efectuat o analiză de tip secvență multi-locus a genomului central (cgMLST), așa cum

a fost descris anterior în studiul lui Kohl TA și coat. [238], cu SeqSphere v8.4 care clasifică clusterele cgMLST pe baza <1 alele, distanța în perechi între oricare două izolate.

4.3 Analiza epidemiologică moleculară

În timpul monitorizării, s-au identificat 19 pacienți („pacienți focus") cu tulpini non-TB RR/MDR la etapa de spitalizare și ulterior depistarea unei tulpini TB RR/MDR. În două cazuri nu a fost posibilă izolarea ADN-ului genomic, respectiv, în analiză au rămas 17 „pacienți focus". Procesul de reinfectare a fost confirmat de o distanță genetică între cele două tulpini de maxim de 12 SNP-uri. Timpul mediu de la izolarea tulpinii non-TB RR/MDR până la izolarea tulpinilor TB RR/MDR de la acești 17 „pacienți focus" a fost de 215 [IQR 48-301] zile [210].

Unul dintre cei 144 de contacți din saloane, dintre cei 41 de pacienți cu TB RR/MDR internați inițial într-o secție non-MDR, se afla în același salon cu unul dintre cei 17 „pacienți-focus" care a dobândit potențial TB RR/MDR [210].

În scopul clarificării potențialelor dobândiri de TB RR/MDR, am investigat grupurile moleculare și profilurile de rezistență la preparatele antimicobacteriene pentru a identifica presupusele contacte cu tulpinile TB RR/MDR. Ulterior, s-au urmărit suprapunerile la nivel de spital, secție și saloane până când „pacienții focus" au fost diagnosticați cu tuberculoză TB RR/MDR. Dintre cei 297 de pacienți cu TB RR/MDR confirmați prin metode culturale la înrolarea în studiu și cei 17 „pacienți focus" care au avut o presupusă reinfecție cu tulpini TB RR/MDR în timpul monitorizării, s-a putut genera 274 de ADN-uri care au fost supuse procesului de secvențiere (40 de tulpini TB RR/MDR nu a putut fi recrescute din biobancă). În cazul a 6 izolate de ADN genomic, probele au fost contaminate cu ADN-ul de la alte micobacterii și aceste mostre de ADN au fost excluse din analizele ulterioare, lăsându-se în analiza finală 268 de ADN-uri.

Analiza epidemiologică moleculară, a inclus cohorta TB RR/MDR (251 de tulpini) și toate cele 17 tulpini de la pacienții care ulterior au fost identificați cu tulpini TB RR/MDR.

4.4 Secvențierea integrală a genomului micobacterian și analiza distanței genetice spațiale

Populația bacteriană a cuprins izolate de *Mtbc,* în majoritatea absolută, a două genotipuri: linia 2 în 43,3% (116/268) cazuri și izolate din linia 4 în 56,7% (152/268) cazuri. În literatura de specialitate sunt descrise rezultatele studiilor efectuate anterior cu referire la circulația genotipului Beijing (lineage 2) care a fost identificat în mai multe țări cu incidență ridicată a TB RR/MDR din Europa de Est, Federația Rusă și Asia Centrală [239]. ADN-urile izolate tipizate din lineage 2 au fost ramificate în următoarele sublinii: Beijing Asia Centrală în 57,8% (67/116) cazuri, Beijing

Europa/Rusia W148 Outbreak în 21,6% (25/116) cazuri și Beijing Asia Centrală Outbreak în 18,1% (21/116) cazuri, în timp ce lineage 4 a cuprins, aproape exclusiv, toată divizarea de 4.2.1 sublineage a genotipul Ural 139/152 de cazuri (91,4%) (Fig. 4.2) [210].

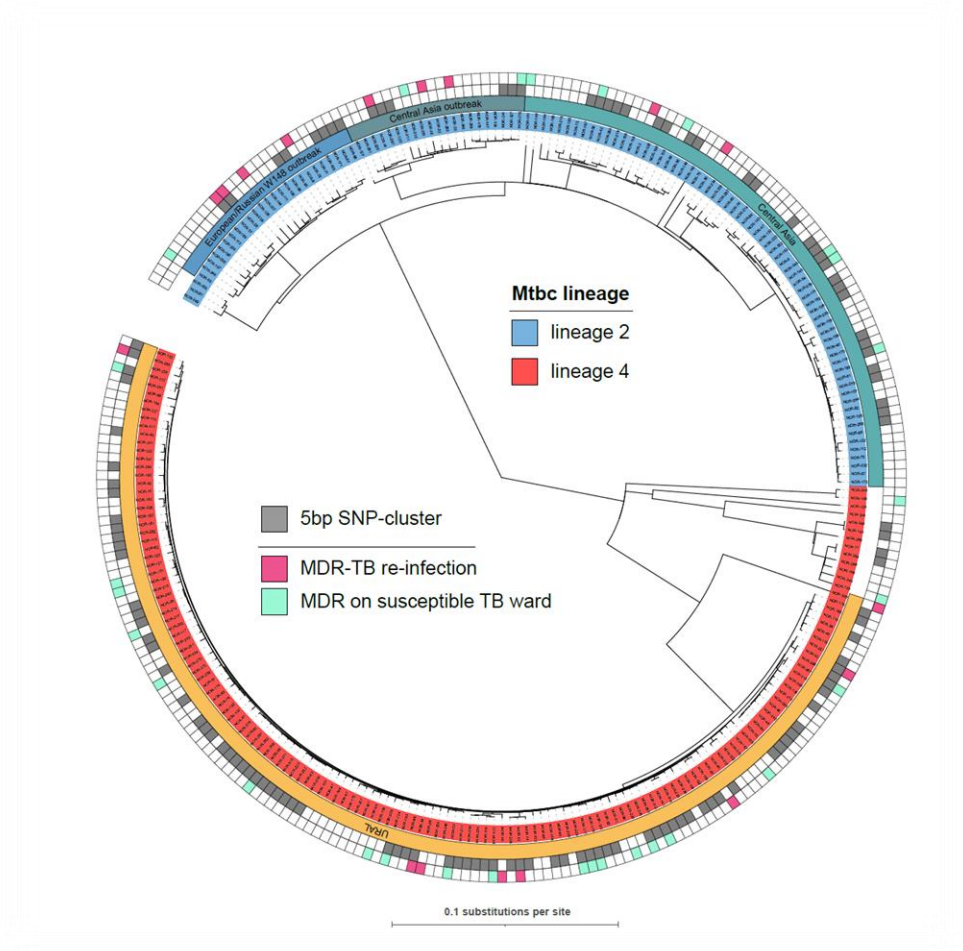


Fig. 4.2. Filogenia de probabilitate maximă a 268 de izolate TB RR/MDR

Analizând filogenia de probabilitate, observăm pătratele gri reprezentând ADN-ul micobacterian izolat al pacienților cu o distanță genetică maximă de polimorfism de 5 nucleotide unice, ca surogat pentru transmiterea recentă, iar pătratele roz indică pacienții care au dobândit o nouă tulpină TB RR/MDR.

Pacienții care potențial au dobândit TB RR/MDR sunt afișați în roz, pacienții cu TB RR/MDR internați inițial într-o secție non-MDR sunt afișați cu verde, iar identificarea probabilă a evenimentelor de transmitere nosocomială sunt evidențiate cu o căsuță albastră (Fig. 4.4). Cu toate acestea, având în vedere diversitatea genetică scăzută a genotipului dominant 4.2.1 Ural în filogenie (Fig. 4.2), trebuie să presupunem că aceste tulpini sunt foarte răspândite Republica Moldova în afara spitalului.

În descrieriea analizei de secvențiere s-a folosit datele secvenței pentru a prezice fenotipul de rezistență în baza asocierii directe cu SNP-uri care conferă rezistență descrisă anterior [213]. În întreaga cohortă TB RR/MDR, ratele de rezistență la medicamente au fost extrem de ridicate pentru STM în 92,2% (247/268) cazuri, EMB în 61,6% (165/268) cazuri, PZA în 49,3% (132/268) cazuri, ETH/PRO în 87,3% (234/268) cazuri și KAN în 67,5% (181/268) cazuri.

În cele 268 de izolate de TB RR/MDR, am identificat mutații care conferă rezistență la MFX și LFX în 25,4% (n=68) cazuri, la AMK în 13,1% (n=35) cazuri, la CAP în 9,7% (n=26) cazuri, la PAS în 22,8% (n=61) cazuri, iar la D-cicloserina în 6,0% (n=16) cazuri dintre izolate analizate.

Analizând distribuția geografică a tulpinilor din ambele linii: linia 2 Beijing și linia 4 Ural, s-a observat o distribuție uniformă în toate raioanele țării, așa cum este reprezentat în Fig. 4.3.

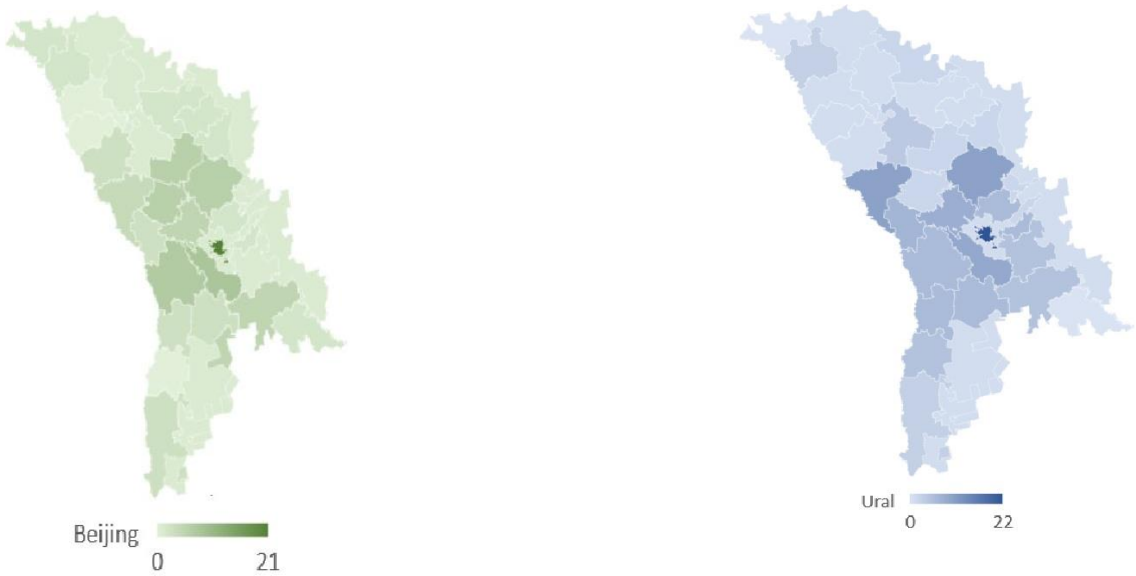


Fig. 4.3. Distribuirea geografică a genotipurilor rezistente

Pentru a evidenția evenimentele presupuse de transmitere între „pacienții focus” și pacienții spitalizați concomitent cu cohorta TB RR/MDR, s-a efectuat o analiză a grupului molecular bazată pe distanța genetică de perechi dintre toate izolatele.

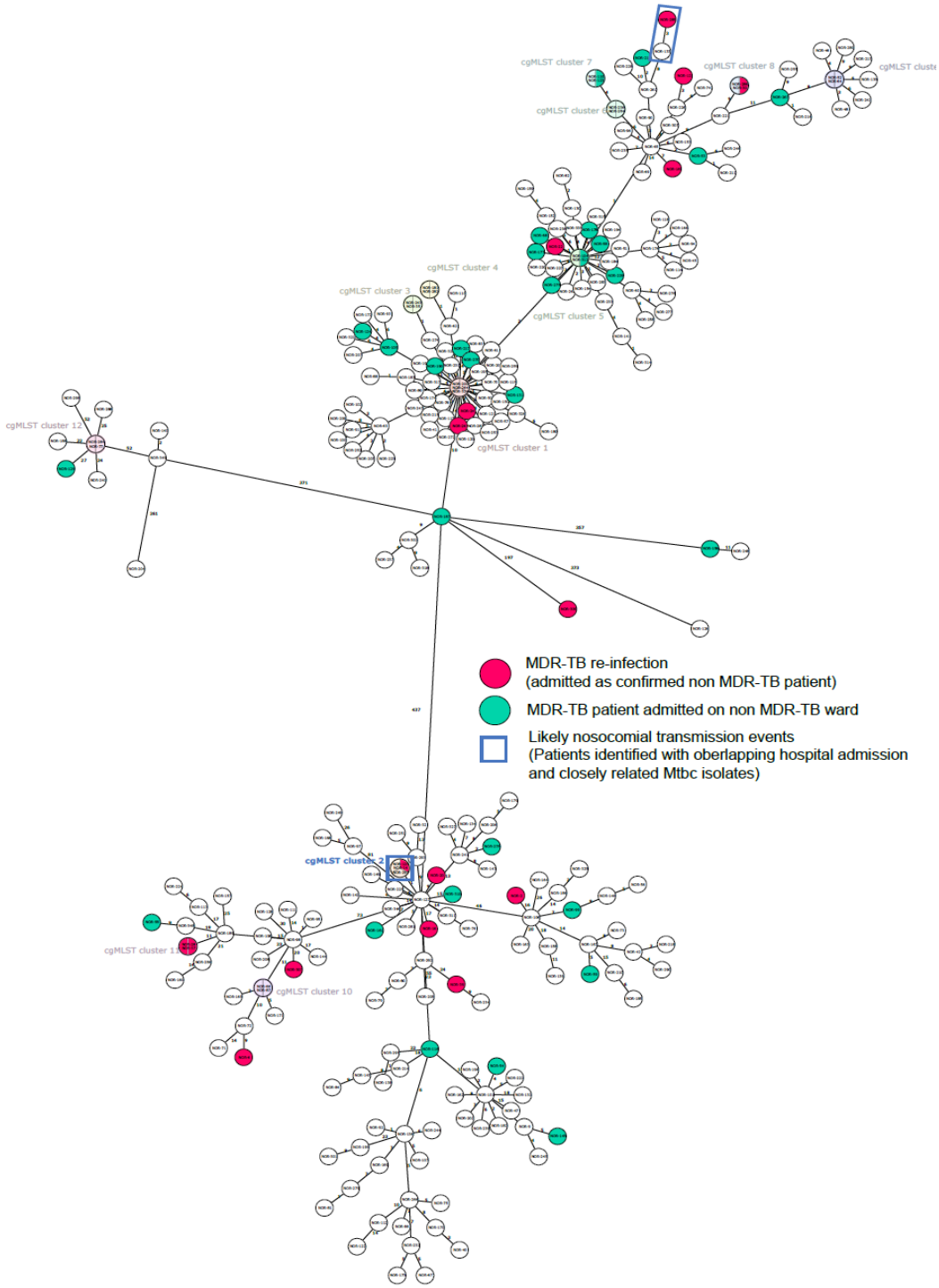


Fig. 4.4. Rețeaua filogenetică reprezentând relația genomică a tuturor izolatelor de la pacienți pe baza unei analize de tip secvență multilocus genomului de bază (cgMLST).

S-a identificat un pacient care a fost plasat în cel mai mare grup unic, incluzând 53 de izolate din grupul 4.2.1 a genotipul Ural (cluster 26), presupunând inițial un scenariu extins de transmitere nosocomială în curs de desfășurare (Fig. 4.5) [210].

În plus, acești pacienți nu au avut nici o suprapunere identificată în spital cu alți pacienți din cohorta TB RR/MDR. În general, 124/268 (46,3%) de pacienți au făcut parte din unul dintre cele 28 de grupuri identificate, inclusiv 7/17 din „pacienți focus” [210].

Scenariul de transmitere nosocomială

Pentru a evidenția evenimentele presupuse de transmitere între „pacienții focus„ și pacienții internați concomitent cu TB RR/MDR, a fost efectuată o analiză a grupului molecular, dintre toate izolatele, bazată pe distanța genetică în perechi.

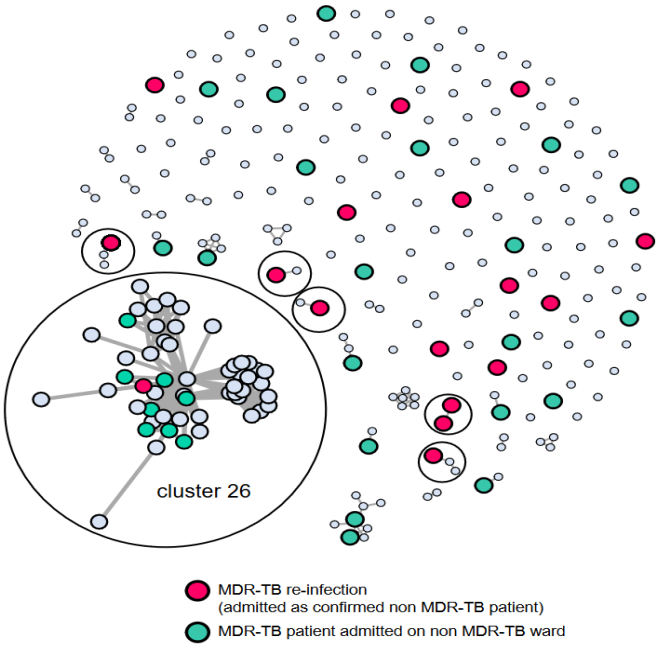


Fig. 4.5. Analiza grupului molecular bazat pe distanța genetică

Punctele singleton nu au o legătură între pacienții din studiu. Cercurile gri deschise indică grupuri cu TB RR/MDR dobândită (puncte roșii) sau TB RR/MDR pe secția susceptibilă (puncte turcoaz).

Cohorta „pacienților focus” a fost analizată din punct de vedere a structurii genotipului și a potențialelor surse de infecție, identificând în proporție de peste 88% schimbarea genotipului aceloraşi pacienți din cohorta non-MDR în cohorta MDR, pe când doar în 2 cazuri genotipurile din ambele cohorte au rămas neschimbate (n=1 Beijing CA, n=1 Ural).

Analizând cohorta non-MDR a genotipului Beijing Central Asia (n=8) observăm că în 50% cazuri (4/8) în cohorta MDR pacienții au achiziționat genotipul Ural, în 25% cazuri (2/8) genotipul în cohorta MDR este Beijing European/Russian W148 outbreak, iar în proporție egală de 12,5% cazuri a achiziționat genotipul Beijing Central Asia outbreak și în același procent de cazuri nu și-a schimbat genotipul.

Cercetând cohorta non-MDR a genotipului H37Rv-like (n=4), observăm că în 50% cazuri (2/4), în cohorta MDR, acești pacienți au achiziționat genotipul Beijing E/R W148 outbreak, și respectiv câte 25% cazuri au dezvoltat tulpina MDR cu genotipul Beijing Central Asia outbreak (1/4) și respectiv Ural (1/4).

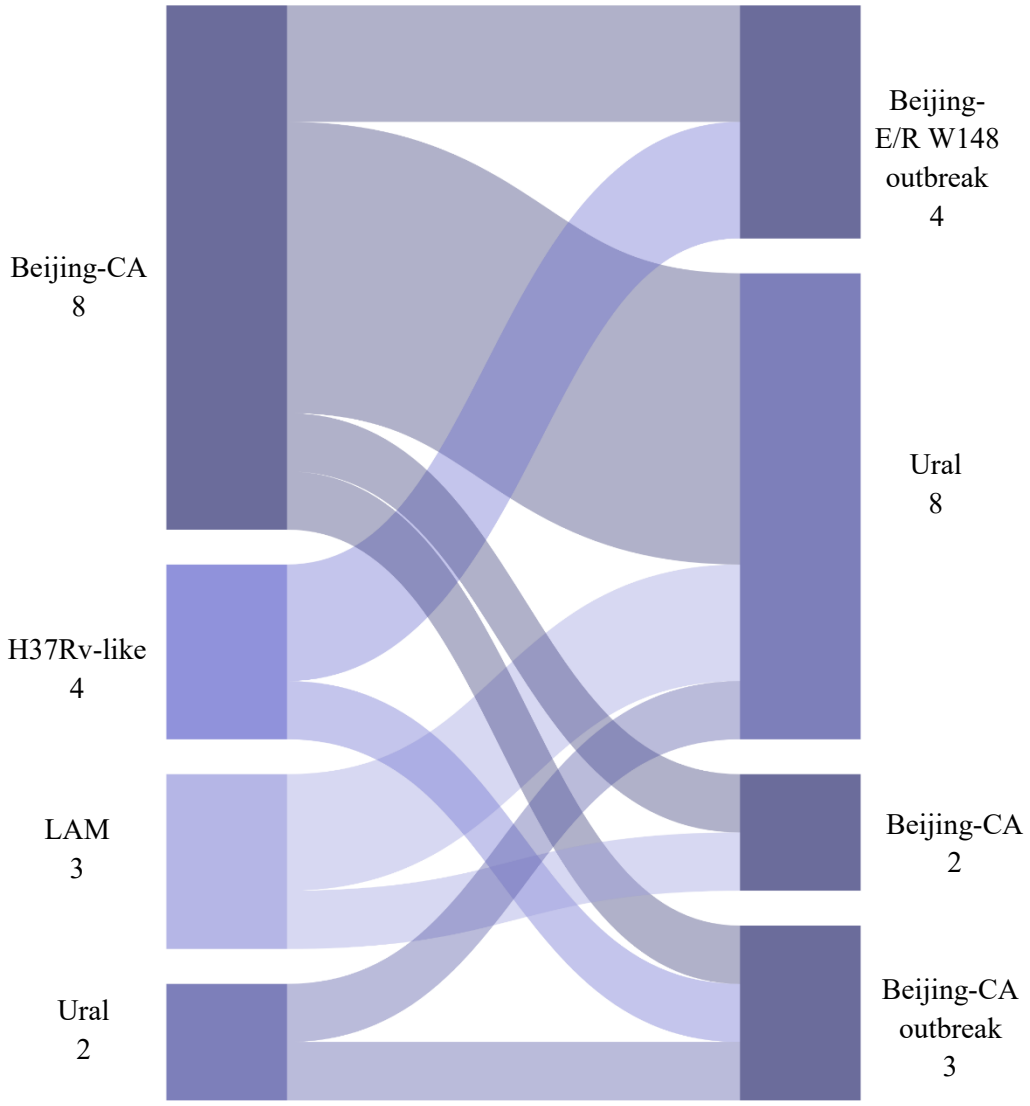


Fig. 4.6. Distribuirea genotipurilor pacienților focus în cohorta non-MDR și cohorta MDR

Examinând cohorta non-MDR a genotipului LAM (n=3) s-a identificat că în proporție de 67% (2/3) dintre cazuri, în cohorta MDR acești pacienți dezvoltă tuberculoza rezistentă cu genotipul Ural, iar în o treime cazuri s-a identificat genotipul Beijing Central Asia (1/3).

Urmărind cohorta non-MDR a genotipului Ural (n=2), am sesizat că în proporție de 50% pacienții au achiziționat tulpina MDR aparținând genotipului Ural și în 50% cazuri genotipului Beijing Central Asia outbreak (Fig. 4.6).

În concluzie, putem afirmă că în proporție de aproximativ 47,0% dintre pacienții care au achiziționat o altă tulpină a fost din grupul genotipului Ural, 23,5% din grupul Beijing European/Russian W148 outbreak, în 17,6% au făcut parte din grupul Beijing Central Asia outbreak, iar 11,9% au aparținut grupului Beijing Central Asia.

Analizând cohorta celor 17 pacienți, am identificat pacienții care și-au schimbat genotipul (n=15) și potențialele lor surse pentru fiecare din „pacienții focus" (Fig. 4.7).

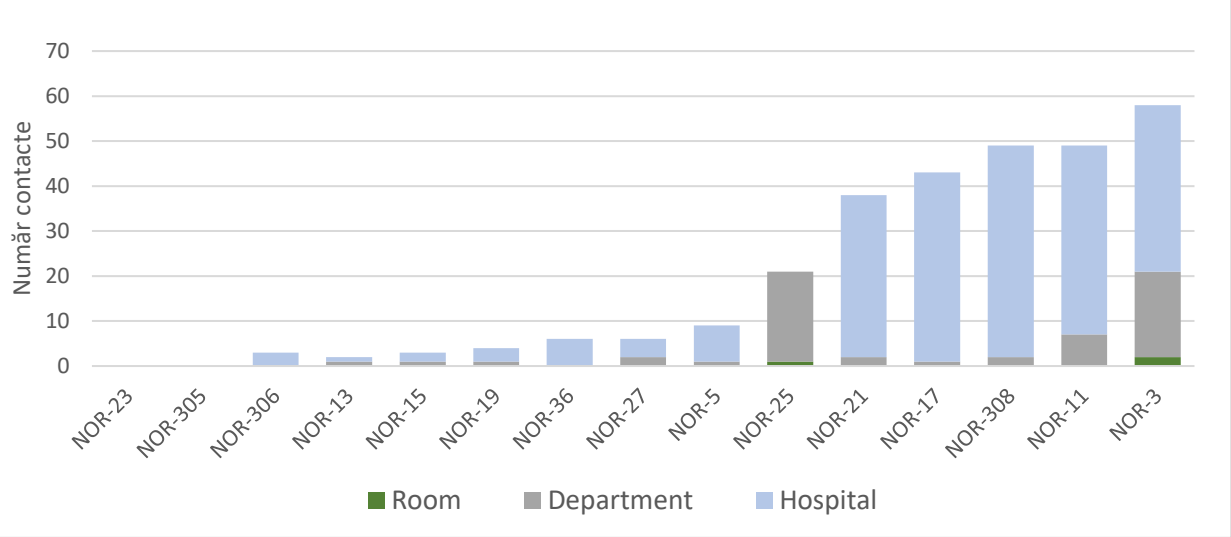


Fig. 4.7. Numărul de surse potențiale

Doi pacienți (n=2/15) nu au avut suprapuneri la nivel de salon, secție sau spital, pe când 7 dintre ei au avut până la 10 surse (2 surse = 1 caz, 3 surse = 2 cazuri, 4 surse = 1 caz, 6 surse = 2 cazuri și 9 surse = 1 caz), 21 de surse, 38 de surse, 43 de surse și 58 de surse au fost identificate în câte un caz și 49 de potențiale surse de infectare au fost identificate în 2 cazuri.

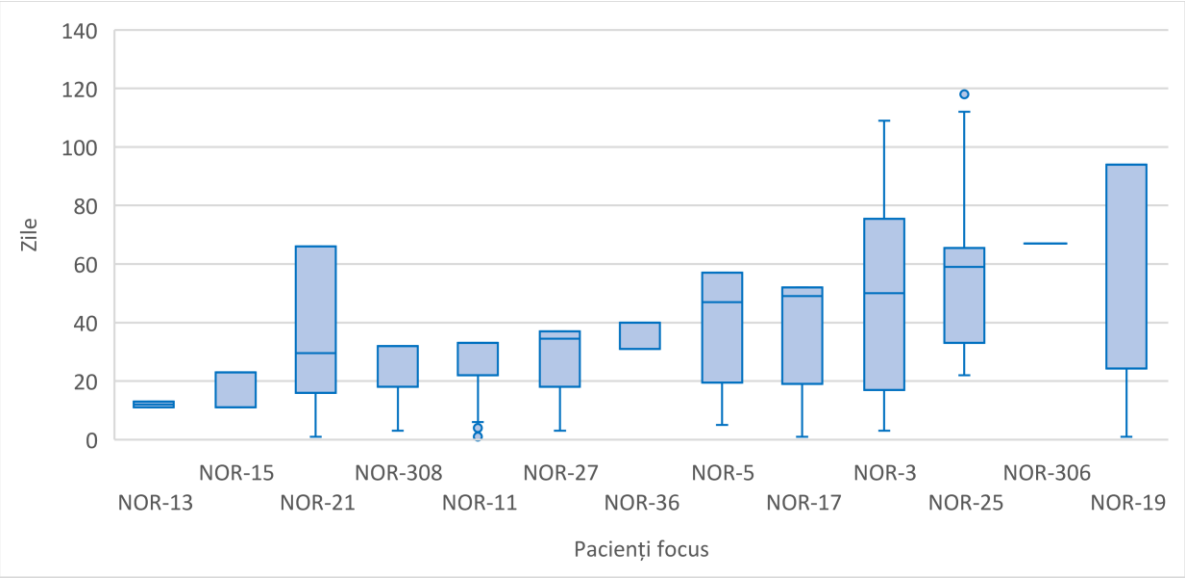
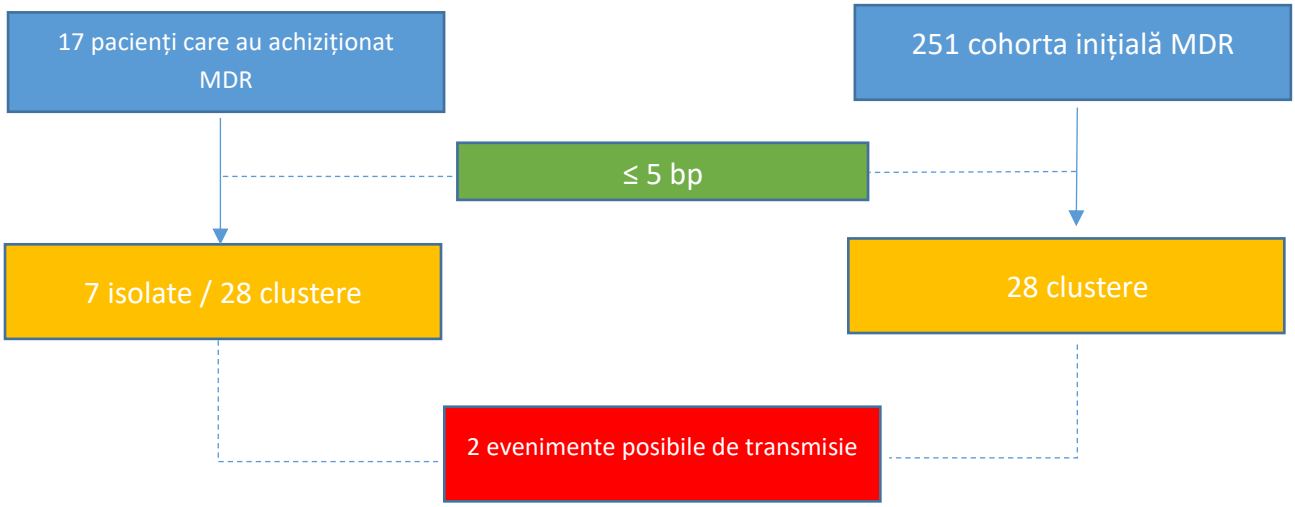


Fig. 4.8. Suprapunerea timpului de spitalizare (zile) la pacienții focus referind la potențiale lor surse de infectare

În baza analizei studiului am determinat că doi pacienți au fost re-infectați cu aceeași tulpină pre-XDR (cluster 28) găzduind mutații identice ce mediază rezistența, dar fără suprapuneri de spital. De asemenea, un alt caz posibil de reinfecție nosocomială (cluster 27) cu implicarea unui „pacient focus" infectat cu aceeași tulpină (diferență 0 SNP) nu a fost plauzibil din cauza absenței suprapunerii perioadelor de spitalizare [210].



		Zile, suprapunere la nivel de spital	Zile, suprapunere la nivel de secție	Zile, suprapunere la nivel de salon
Cazul 1	Sursa 1	13*	0	0
Cazul 2	Sursa 2	29	27	23

Fig. 4.9. Evenimente probabile de transmitere nosocomială

**pacienții au stat deja în spital cu 52 de zile înainte de începerea oficială a studiului*

În clusterul 12, „pacientul focus” s-a suprapus timp de 4 zile în spital cu un pacient pre-XDR, cu toate acestea, mutații suplimentare care conferă rezistență împotriva PZA și MFX la pacientul cu indice presupus, au exclus o legătură directă. Astfel, doar 2/17 „pacienți focus” au avut o posibilă legătură directă în spital, cu o diferență mai mică de ≤ 5 bp între tulpinile *Mtbc*, precum și o suprapunere de 13zile* (a avut un contact la nivel de spital cu 52 de zile anterior înrolării în studiu) și 29 de zile în spital cu indicele lor de caz presupus de reinfectare (Fig. 4.9) [210].

Caracteristicile pacienților cu TB RR/MDR internați inadecvat în una dintre secțiile non-MDR și ale pacienților cu TB RR/MDR care au fost localizați de la început în secția MDR sunt reflectate în Tabelul 4.1.

Tabelul 4.1. Caracteristicile pacienților cu MDR/RR-TB internați inadecvat

	Pacienți TB RR/MDR internați corespunzător n=266	**Pacienți TB RR/MDR internați ne corespunzător n=41**
Vârsta, mediana (IQR)	38 (29-48)	38 (27-50)
Sex, M/F (%)	74,1/25,9	85,4/14,6
Microscopia (gradul)	1-9/100 (0-1+)	1-9/100 (0-1+)
Timp până la cultura pozitivă pe MGIT (zile)	16 (11-23)*	15 (12-20)##
Timp până la cultura pozitivă pe LJ (zile)	38 (29-50)**	55 (52-52,5)##
Afectare extrapulmonară suplimentară leziunilor pulmonare (%)	7,9	12,2
TB caz nou (%)	53,0	23
***- n=207, **- n=59, # n=37, ## n=4**		

Cazul 1 (bărbat, 41 de ani) și Cazul 2 (bărbat, 55 de ani) au avut gradul inițial de microscopie a frotiului de spută BAAR 1+ și respectiv BAAR 2+. Timpul de referință până la pozitivitatea culturii în Cazul 1 a fost de 30 de zile (testat pe LJ) și în Cazul 2 a fost de 14 zile (testat pe MGIT).

Vârsta medie a pacienților cu TB RR/MDR a fost de 38 de ani (IQR 28-48), 75,6% dintre aceștia erau bărbați. La 244/307 dintre pacienți cu TB RR/MDR confirmați prin cultură, tulpinile MDR inițiale au fost izolate pe MGIT, în timp ce în alte 63/307 de cazuri pe medii solide LJ. Mediana gradului inițial al frotiului de spută la pacienții spitalizați inadecvat, într-una dintre secțiile non-MDR și a pacienților cu TB RR/MDR care au fost spitalizați corespunzător în secția MDR, a fost similar BAAR 1-9 bacili în 100 câmpuri de vedere (IQR 0 – 1 grad). Valoarea inițială

a timpului de referință până la pozitivitatea culturii la pacienții cu TB RR/MDR internați în secții necorespunzătoare depindea de mediul de cultură utilizat și a fost de 15 zile (IQR 12-20, pe MGIT n=37) și 55 zile (IQR 52-55,5 pe LJ, n=4) în timp ce la cei cu spitalizare inițială corespunzătoare de 16 (IQR 11-23 pe MGIT, n=207) și 38 (29-50 pe LJ, n=59) de zile, respectiv.

Pentru celelalte cazuri de reinfecție, am putea presupune un contact în afara spitalului, o infecție mixtă nedetectată la momentul inițial sau o cultură lipsă în cadrul cohortei noastre de studiu [210].

4.5 Limitările studiului

Limitările studiului le identificăm prin dezvoltarea studiului numai într-un singur spital, ceea ce ar fi putut introduce prejudecăți de selecție cu pacienți fără acces la asistență medicală (din cauza barierelor economice, geografice sau de altă natură) și care ar fi putut să nu fi fost incluși în studiu. Totuși, datorită faptului că diagnosticul și tratamentul TB în Republica Moldova sunt gratuite, accesul la serviciul de TB se face pe o rază de maximum câteva zeci de kilometri, iar tratamentul pentru TB RR/MDR se asigură într-un în mod centralizat, impactul acestor factori ar trebui să fie minim.

În al doilea rând, având în vedere că TB RR/MDR este o boală cronică, perioada scurtă de timp a acestui studiu ar fi putut să rateze cazurile de transmitere, în care perioada de latență poate fi mai mare de doi ani. În al treilea rând, există, de asemenea, posibilitatea ca pacienții internați în spital să fi fost reinternați într-un alt spital, caz în care o posibilă transmitere ar fi fost omisă, totuși utilizarea urmăririi la nivel național prin baza de date națională de raportare a TB, minimizează impactul potențial al acestor limitări.

În cele din urmă, rata de transmitere detectată ar putea fi mai mare dacă ar fi fost evaluată și transmiterea de la pacienții cu TB RR/MDR la alți pacienți cu TB RR/MDR.

4.6 Concluzii în baza capitolului 4

1. Țările din Europa de Est, inclusiv Republica Moldova, înregistrează la nivel global cea mai mare prevalență a cazurilor de tuberculoză rezistentă la medicamente. Aici, raportăm transmiterea unei tulpini specifice, cu succes epidemiologic de *M. tuberculosis* (MDR Ural/4.2) ca cea mai frecventă cauză de MDR-TB într-o cohortă transversală de pacienți din Chișinău, Moldova.
2. Se reliefează faptul că în perioada anterioară studiului, și în timpul studiului s-a produs o consolidare importantă a acestor intervenții. Aceasta ar putea fi unul dintre factorii care

contribuie la reducerea transmiterii spitalicești și la o incidență mai mică a acestor fenomene în timpul studiului.

3. Secvențierea întregului genom micobacterian deduce cu încredere evenimentele de transmitere directă pe baza distanței genetice, dar în cadrul studiului nostru a fost limitată de clonalitatea ridicată a celor 2 grupuri cu prevalență ridicată (Beijing și Ural), unde 92% dintre tulpinile TB RR/MDR din Republica Moldova aparțin acestor 2 grupuri de transmitere [227]. Majoritatea legăturilor epidemiologice presupuse, bazate pe măsurarea distanței genetice (≤ 5 SNP-uri între izolatele pacienților), au trebuit să fie excluse din cauza lipsei suprapunerilor spitalicești a pacienților.

5 EVALUAREA CUNOȘTINȚELOR EPIDEMIOLOGICE ÎN DOMENIUL CONTROLULUI INFECȚIEI TB PRIN CHESTIONAREA PERSONALULUI MEDICAL CE ACTIVEAZĂ ÎN INSTITUȚIA MEDICALĂ

5.1 Riscul de infectare cu *M. tuberculosis* în cadrul spitalelor

Proporţiile riscului variază în funcţie de locație, grup de lucru, prevalenţa TB în comunitate, numărului de pacienţi şi eficacitatea măsurilor de monitorizare a TB. Transmiterea *M. tuberculosis* în condiţii de spital a fost asociată cu contactul apropiat cu persoanele care aveau TB, în timpul procedurilor de pulverizare (de ex. broncoscopie). Din totalitatea cazurilor de infectare cu TB în condiţii de spital la pacienţi şi lucrătorii medicali, în majoritatea cazurilor au implicat transmiterea germenilor de tuberculoză rezistentă, conform Ghidului de supraveghere şi control în infecţiile nosocomiale, Ediția I [240].

Răspândirea infecţiei, cel mai frecvent, are loc în timpul contactului apropiat în familia pacientului sau la adresarea în instituţii medicale, unde sunt pacienţi cu simptome de TB sau boală TB cu tratament inadecvat. Gradul de contagiozitate a pacientului este direct legat cu numărul de bacili pe care acesta îi expiră în atmosferă. Contagiozitatea scade rapid, de obicei după iniţierea terapiei adecvate. Scopul de bază al controlului infecţiei este depistarea precoce, izolarea şi tratamentul prompt și strict supravegheat al bolnavului de tuberculoză. Un program de control al infecţiei tuberculoase include trei priorităţi: control administrativ, control de mediu şi protecţie personală respiratorie, aceasta din urmă trebuie să fie bazată pe evaluarea riscurilor instituţiei (spital, ambulatoriu). Controlul administrativ (detectarea precoce şi izolarea pacienţilor contagioşi, tratamentul lor adecvat) constituie prioritatea în controlul infecţiei. Controlul administrativ include instruirea şi educarea lucrătorilor medicali. Control de mediu (în special, în staţionarele specializate de ftiziopulmonologie) pentru prevenirea transmiterii infecţiei tuberculoase include ventilaţia, filtre ale particulelor din aer înalt eficiente (HEPA) şi lămpi bactericide. În situaţiile în care controlul administrativ şi de mediu nu poate proteja suficient de particulele aerozolice infecţioase, lucrătorii medicali trebuie să folosească respiratoare personale de protecţie. Prevenirea transmiterii aerogene este de o importanţă deosebită şi necesită precauţie sporită în saloanele de izolare a bolnavilor cu TB, în timpul sau imediat după proceduri de stimulare a tusei (colectare de spută, bronhoscopie, tratamente cu inhalaţii), în timpul vizitei la domiciliul pacienţilor TB baciliferi [240].

Toţi lucrătorii medicali trebuie să fie informaţi despre riscul declanşării maladiei, în urma infectării cu *M. tuberculosis*. Persoanele infectate cu HIV cu o imunodeficienţă vădită şi care au

fost recent infectaţi cu *M. tuberculosis* sunt expuse unui risc mai mare de achiziţionare a TB, în comparaţie cu persoanele infectate recent cu TB, dar care nu sunt infectați cu virusul HIV [241].

Pacienţii cu tuberculoză trebuie supravegheaţi strict pentru a înregistra răspunsul la terapie. Persistenţa contagiozităţii pacientului este, de obicei, datorată administrării neregulate a tratamentului sau rezistenţei medicamentoase. Aceste particularităţi trebuie luate în consideraţie la pacienţii fără răspuns clinic pozitiv în 2-3 săptămâni. La pacienţii cu rezistenţă medicamentoasă, contagiozitatea poate persista de la câteva săptămâni la câteva luni. Această categorie de pacienţi necesită monitorizare minuţioasă, iar acei care se află în instituţii trebuie izolaţi şi necesită a fi verificat gradul lor de contagiozitate [241].

5.2 Evaluarea gradului de risc

Orice spital trebuie să efectueze evaluări ale gradului de risc pentru transmiterea *M. tuberculosis*, indiferent dacă în instituţie sunt sau nu spitalizați pacienţi cu TB suspectă sau confirmată. Această evaluare determină tipul controalelor administrative, ale mediului şi ale protecţiei respiratorii necesare pentru spital, serveşte drept instrument activ de evaluare a calităţii monitorizării maladiei. Evaluarea gradului de risc face parte din programul local de monitorizare a TB [240,241].

Evaluarea gradului de risc constă din următoarele etape:

1. Analizarea profilului comunităţii referitor la TB în colaborare cu departamentele de sănătate locale şi națională;

2. Consultarea programului de monitorizare (local sau național) a TB pentru a obţine date despre supravegherea epidemiologică necesare pentru a efectua evaluarea gradului de risc faţă de TB în condiţii de spital;

3. Monitorizarea numărului de pacienţi cu TB suspectată sau confirmată care au vizitat spitalul în ultimii cinci ani;

4. Asigurarea diagnosticării imediate şi evaluarea cazurilor suspecte de transmitere a *M. tuberculosis* în condiţii de spital;

5. Identificarea zonelor spitalicești cu un risc sporit de infectare cu *M. tuberculosis*, în care ulterior se vor planifica măsuri suplimentare de control al infecției;

6. Notificarea lucrătorilor medicali care vor fi incluşi în programul de protecţie respiratorie;

7. Efectuarea reevaluărilor periodice (dacă e posibil, anual) pentru a asigura:

- implementarea adecvată a planului de monitorizarea a maladiei;
- depistarea imediată şi evaluarea cazurilor de suspecţie a TB;
- iniţierea imediată a măsurilor de precauţie aerobă pentru cazurile de suspecţie a TB;

• supravegherea medicală a pacienţilor cu TB suspectată sau confirmată;

•implementarea programelor de protecţie respiratorie, instruirea şi educarea lucrătorilor medicali, referitor la TB;

8. Depistarea şi corectarea erorilor în monitorizarea maladiei [240,241].

5.3 Caracteristicile demografice și amplasarea personalului medical în secțiile spitalului

Prezenta cercetare a avut drept obiectiv evaluarea cunoștințeleor și practicilor lucrătorilor medicali care activează în cadrul IFP. Personalul medical a fost reprezentat de medici în 12,5% (n=7) cazuri și de asistenți medicali în 87,5% (n=49) cazuri. Vârsta medie a fost de 45,8 (DS±10,19) ani, iar mediana de 47,5 ani, cel mai tânăr lucrător medical a avut 22 de ani, iar cel mai în vârstă – 63 de ani. Stagiul mediu de muncă a personalului medical a fost de 21,5 (DS±12,06), mediana fiind de 21,0 ani, cel mai mic stagiu de muncă a fost de 1,5 ani, iar cel mai mare de 43 ani. Activau în domeniul medical mai puțin de 10 ani 23,2% (n=13), între 10 și 19 ani – 21,4% (n=12), între 20 și 29 ani – 23,2% (n=13), între 30 și 39 ani - 23,2% (n=13) și peste 40 de ani – 8,9% (n=5) dintre personalul medical care a participat la studiu (Fig. 5.1).

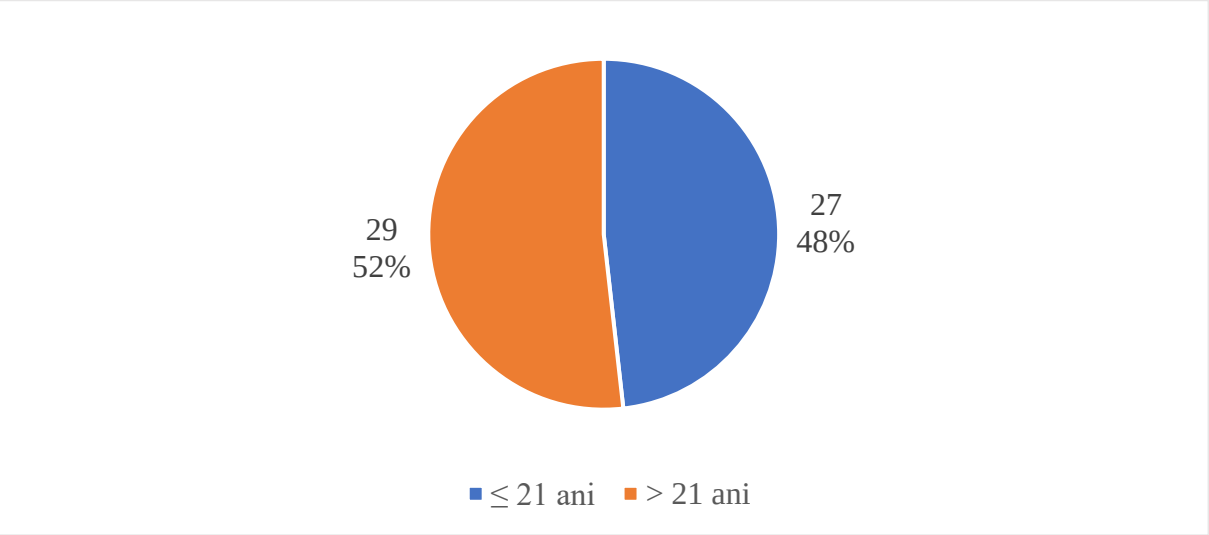


Fig. 5.1. Repartizarea personalului medical după stagiul de muncă

Dacă ne referim la secțiile clinice în care activează, mai mult de jumătate (58,9%; n=33) dintre personalul medical a indicat că activează în secțiile de TB non-MDR (sau în FP-1, FP-2 și Chirurgie activau câte 11 dintre personal), în 23,2% (n=13) au indicat că activează în secția MDR, iar 17,9 (n=10) – în secția non-TB (sau FP-3) (Fig. 5.2).

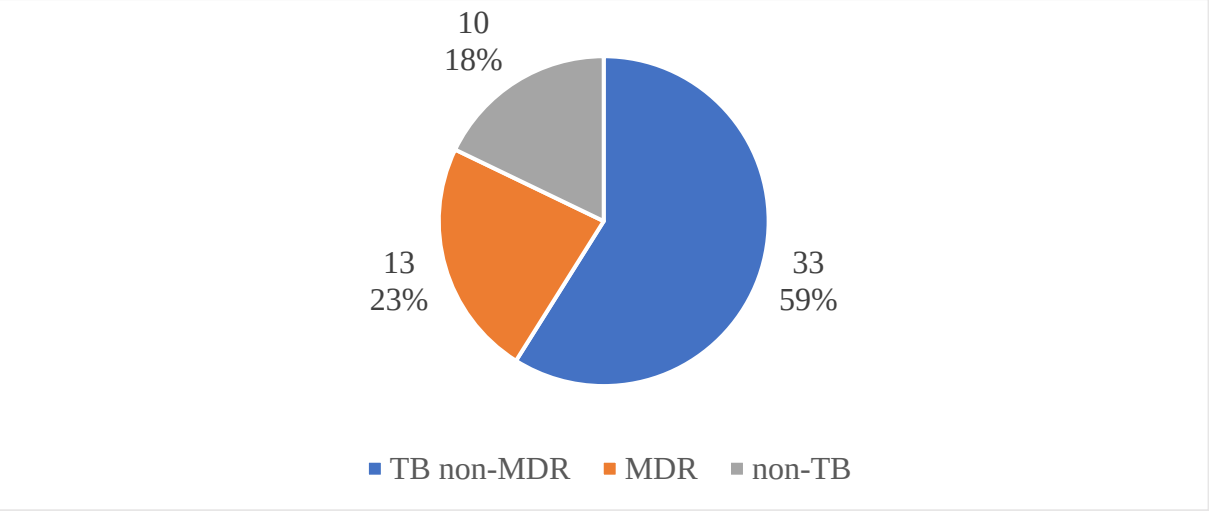


Fig. 5.2. Repartizarea personalului medical după tipul secției în care activează

5.4 Evaluarea cunoștințelor practice în domeniul controlului infecției tuberculoase

Toți participanții (100%, n=56) au menționat că în cadrul instituției în care activează (IFP) există un program și un plan de control al infecțiilor, că posedă cunoștințe privind controlul infecției și că au participat la instruiri privind prevenirea și controlul infecției în domeniul TB. Despre existența unui grup tehnic de lucru, care activează în domeniul de control al infecțiilor a fost specificat în 94,6% cazuri (n=54).

Majoritatea personalului medical (67,9%; n=38) a participat la instruiri în domeniul prevenirii și controlului infecțiilor în contextul TB în anul curent, 28,6% (n=16) au participat la instruiri cu doi ani în urmă, iar 3,6% (n=2) cu trei ani în urmă. În dezagregare, după tipul secției, au urmat cursuri de instruire în anul curent 28 (84,8%; 28/33) dintre persoanele care activează în secțiile de TB non-MDR, 7 (53.8%; 7/13) dintre personalul care activează în secțiile MDR și 3 (30,0%; 3/10) din cadrul secțiilor non-TB. Majoritatea din personalul medical instruit în anul curent în domeniul prevenirii și controlului infecțiilor în contextul TB au fost cei cu stagiul de muncă de până la 21 ani (Fig. 5.3). S-a constatat că: dintre 13 persoane cu un stagiu de muncă de până la 10 ani în anul curent au fost instruite 12; dintre 12 persoane cu un stagiu de muncă între 10 și 19 ani – în anul curent au fost instruite 9; dintre 13 persoane cu un stagiu de muncă între 20 și 29 ani au fost instruite în anul curent 8 și dintre 13 persoane cu un stagiu de muncă între 30 și 39 ani au fost instruite în anul curent 6 persoane. Prin urmare, se remarcă prioritizarea în instruiri a personalului medical cu un stagiu de muncă mai mic.

După criteriul de profesare (medici și asistente medicale) s-a remarcat instruirea în anul curent a tuturor medicilor (n=7) și a 31 (63,3%; 31/49) dintre asistentele medicale.

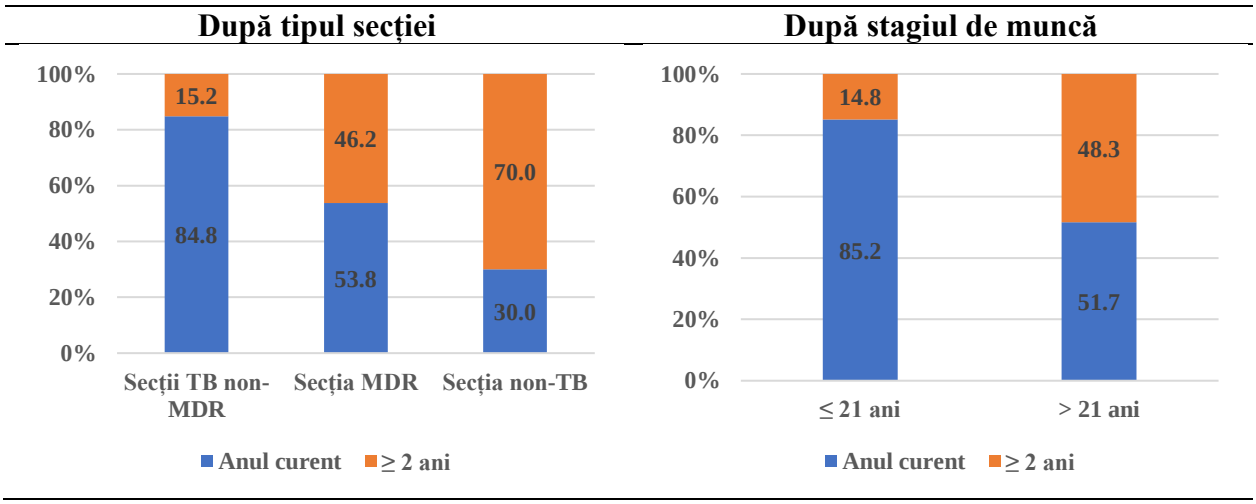


Fig. 5.3. Instruirea personalului medical în domeniul prevenirii și controlului infecțiilor în contextul TB

Cu referire la politicile, regulile și liniile directoare de control al infecției în domeniul TB, majoritatea (85,7% [IÎ95%: 76,55-94,88]) consideră că acestea sunt respectate de către personalul medical în cadrul secțiilor care activează, iar în 14,3% [IÎ95%: 5,12-23,45] cazuri consideră că nu sunt respectate. În repartizare după tipul secției, s-a observat că toți participanții din cadrul secției MDR au menționat că politicile, regulile și liniile directoare de control al infecției în domeniul TB sunt respectate în secția care activează. Cei care au specificat că acestea nu se respectă (n=8) fac parte din secțiile non-MDR (n=7) și din secțiile non-TB (n=1) (Fig. 5.4). Șapte participanți la studiu care au specificat că politicile, regulile și liniile directoare de control ale infecției în domeniul TB nu sunt respectate în secție, au fost instruiți în domeniul controlului infecțiilor TB în anul curent, aceștia activând în secția MDR, iar o persoană din secția non-TB a fost instruită cu 2 ani în urmă.

Personalul medical cu un stagiu medical de până la 21 ani consideră că sunt respectate politicile, regulile și liniile directoare de control al infecției în domeniul TB în 81.5% (n=22), iar cei cu un stagiu mai mare de 21 ani în 89.7% (n=26) cazuri (Fig. 5.4). S-a observat că dintre 13 persoane cu un stagiu de muncă de până la 10 ani au menționat despre respectarea politicilor, regulilor și a liniilor directoare de control al infecției în domeniul TB în secțiile care activează - 11 persoane; dintre cele 12 persoane cu un stagiu de muncă între 10 și 19 ani – 10 persoane; dintre 13 persoane cu un stagiu de muncă între 20 și 29 ani – 10 persoane și dintre 13 persoane cu un stagiu de muncă între 30 și 39 –12 persoane.

După criteriul de profesare (medici și asistente medicale) s-a evidențiat că medicii (n=7) consideră că sunt respectate politicile, regulile și liniile directoare de control ale infecției în domeniul TB în secțiile care activează. La rândul lor, asistentele medicale au menționat despre acest fapt în 83,7% (41/49) cazuri.

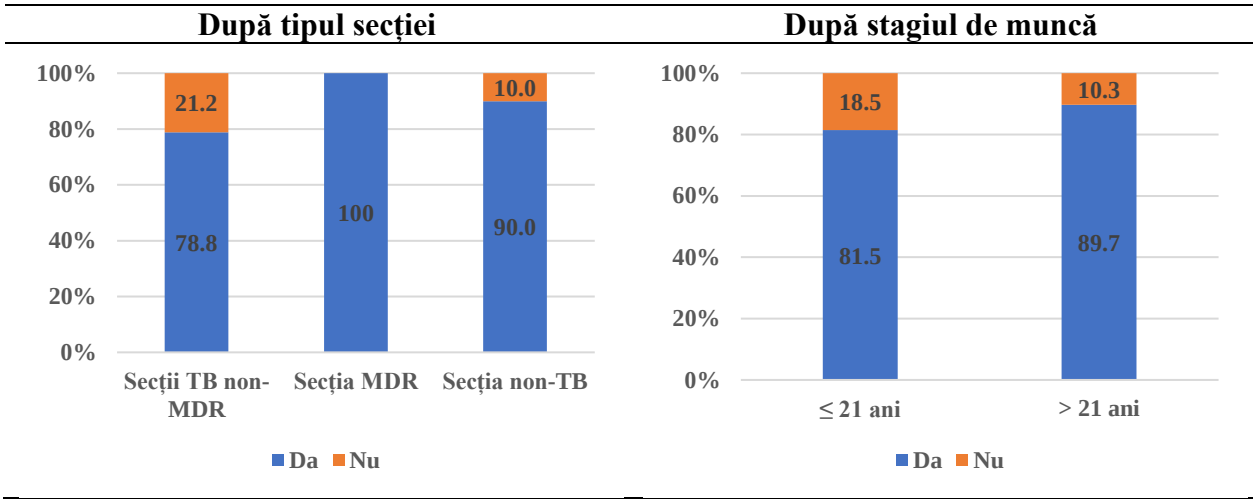


Fig. 5.4. Repartizarea personalului medical în dependență de respectarea politicilor, regulilor și liniilor directoare de control al infecției în domeniul TB

Personalul medical din secțiile clinice ale IFP consideră că secția în care activează este pregătită pentru prevenirea unui focar de infecție (98,2% [IÎ95%: 94,75-100,00]). Respondenții au menționat următoarele cauze ale declanșării focarelor de infecții în cadrul asistenței medicale spitalicești, precum:

1) încălcarea politicilor, regulilor și liniilor directoare de control ale infecțiilor (100%; 56/56).

2) lipsa politicilor, regulilor cât și a liniilor directoare clare de control ale infecțiilor (98,2% [IÎ95%: 94,75-100,00]). Doar o persoană dintre cele chestionate nu consideră că *lipsa politicilor, regulilor și a liniilor directoare clare de control al infecțiilor* drept cauză în apariția focarelor de infecții în cadrul asistenței medicale spitalicești. Aceasta activa în una dintre secțiile TB non-MDR în calitate de asistentă medicală, cu un stagiu de muncă de 18 ani și care a urmat cursuri de instruire în domeniul controlului infecțiilor TB în anul curent.

3) nerespectarea regulilor de control ale infecției de către lucrătorii din domeniul sănătății (98,2% [IÎ95%: 94,75-100,00]). Persoana care nu consideră că *nerespectarea regulilor de control al infecției de către lucrătorii din domeniul sănătății* poate deveni o cauză în apariția focarelor de infecții în cadrul asistenței medicale spitalicești activa în una dintre secțiile TB non-MDR, în calitate de asistentă medicală, cu un stagiu de muncă de 18 ani și care a urmat cursuri de instruire în domeniul controlului infecțiilor TB în anul curent.

4) lipsa echipamentului adecvat de protecție personală (98,2% [IÎ95%: 94,75-100,00]). Nu consideră că *lipsa echipamentului adecvat de protecție personală* drept o cauză în formarea focarelor de infecții în cadrul asistenței medicale spitalicești, o persoană care activa în una dintre

secțiile TB non-MDR, în calitate de asistentă medicală, cu un stagiu de muncă de 3 ani și care a urmat cursuri de instruire în domeniul controlului infecțiilor TB în anul curent.

5) lipsa infrastructurii privind respectarea controlului infecției în domeniul TB (98,2% [IÎ95%: 94,75-100,00]). Persoana care nu consideră că *lipsa infrastructurii privind respectarea controlului infecției în domeniul TB* drept o cauză în formarea focarelor de infecții în cadrul asistenței medicale spitalicești activa în una dintre secțiile TB non-MDR, în calitate de asistentă medicală, cu un stagiu de muncă de 3 ani și care a urmat cursuri de instruire în domeniul controlului infecțiilor TB în anul curent.

Personalului medical, participant la chestionare i s-a solicitat să enumere factorii care ar putea contribui la răspândirea infecției tuberculoase în spital. Din lista de răspunsuri, prealabil stabilită, au fost specificați următorii factori:

1) structura și infrastructura clădirii spitalului (98,2% [IÎ95%: 94,75-100,00]). Doar o persoană nu a menționat structura și infrastructura clădirii spitalului drept un factor de risc, aceasta activa în una dintre secțiile TB non-MDR în calitate de asistentă medicală, cu un stagiu de muncă de 3 ani și care a urmat cursuri de instruire în domeniul controlului infecțiilor TB în anul curent.

2) lipsa sau deficitul de personal medical instruit (96,4% [IÎ95%: 91,57-100,00]). Două dintre persoanele chestionate nu consideră lipsa sau deficitul de personal medical instruit drept factor care ar putea contribui la răspândirea infecției tuberculoase în spital. Ambele persoane activau în una dintre secțiile TB non-MDR în calitate de asistente medicale, având un stagiu de muncă în domeniul medical de 3 și 18 ani, respectiv, fiind instruite în domeniul controlului infecțiilor TB în anul curent.

3) lipsa instruirilor privind controlul infecțiilor (98,2% [IÎ95%: 94,75-100,00]). Persoana care nu consideră lipsa instruirilor privind controlul infecțiilor drept factor care ar putea contribui la răspândirea infecției tuberculoase în spital activează în una dintre secțiile TB non-MDR în calitate de asistență medicală, cu un stagiu de muncă de 9 ani, fiind instruită în domeniul controlului infecțiilor TB doi ani în urmă.

4) lipsa sau deficitul resurselor pentru îndeplinirea cerințelor și a nevoilor de control al infecțiilor (96,4% [IÎ95%: 91,57-100,00]). Două dintre persoanele chestionate nu consideră lipsa sau deficitul resurselor pentru îndeplinirea cerințelor și a nevoilor de control al infecțiilor drept factor care ar putea contribui la răspândirea infecției tuberculoase în spital. Ambele persoane activau în una dintre secțiile TB non-MDR în calitate de asistente medicale, având un stagiu de muncă în domeniul medical de 3 și 18 ani, respectiv, fiind instruite în domeniul controlului infecțiilor TB în anul curent.

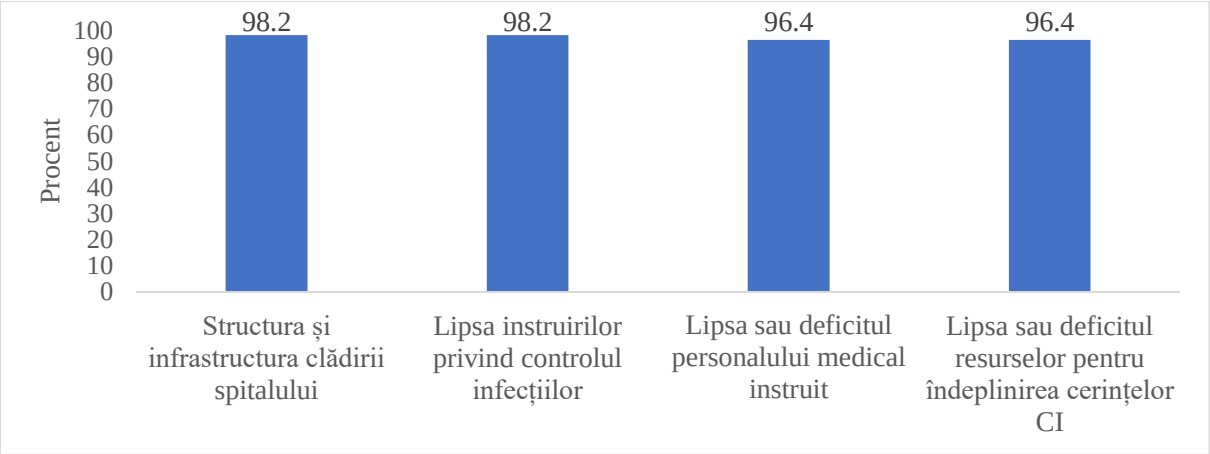


Fig. 5.5. Factorii care contribuie la răspândirea infecției tuberculoase în spital

Cu referire la cele mai eficiente metode în controlul infecției tuberculoase (Fig. 5.6.), au fost menționate, următoarele:

1) Utilizarea corespunzătoare a echipamentului personal de protecție (măști chirurgicale, măști de tip respirator FFP2/FFP3) - a fost menționată drept una dintre cele mai eficiente metode în controlul infecției TB (100%).

2) Controlul administrativ (triajul, izolarea și spitalizarea conform statutului suspect sau confirmat) a fost indicat în 98,2% [IÎ95%: 94,75-100,00]). Persoana care nu consideră *controlul administrativ* drept o metodă eficientă în controlul infecției activează în una dintre secțiile TB non-MDR în calitate de asistență medicală, cu un stagiu de muncă de 9 ani, fiind instruită în domeniul controlului infecțiilor TB doi ani în urmă.

3) Controlul de mediu sau ingineresc (ventilarea adecvată și schimbul de aer corespunzător), a fost menționat în 98,2% [IÎ95%: 94,75-100,00]). Persoana care nu consideră c*ontrolul de mediu sau ingineresc* drept o metodă eficientă în controlul infecției activează în una dintre secțiile TB non-MDR în calitate de asistentă medicală, cu un stagiu de muncă de 18 ani, fiind instruită în domeniul controlului infecțiilor TB în anul curent.

4) Educația și instruirile personalului medical în contextul controlului infecțiilor a fost indicată în 98,2% [IÎ95%: 94,75-100,00]). Doar o persoană dintre cele chestionate nu consideră *educația și instruirile personalului medical în contextul controlului infecțiilor* drept o metodă eficientă în controlul infecției activează în una dintre secțiile TB non-MDR în calitate de asistență medicală, cu un stagiu de muncă de 9 ani, fiind instruită în domeniul controlului infecțiilor TB doi ani în urmă.

5) Identificarea și monitorizarea contacților a fost considerată drept una dintre cele mai eficiente metode în controlul infecției TB în 64,3% [IÎ95%: 51,74-76,84] cazuri. Prin urmare, 20 dintre respondeți nu consideră identificarea și monitorizarea contacților drept una dintre metodele

eficiente pentru controlul infecției TB. Personalul medical care a menționat despre acest fapt activa în una dintre secțiile TB non-MDR (n=15), secția MDR (n=4), secția non-TB (n=1). Trei dintre aceștia activau în calitate de medici, iar șaptesprezece – în calitate de asistente medicale. După stagiul medical de muncă, activau de până la 10 ani – 6 persoane, între 10 și 19 ani – 3 persoane, între 20 și 29 ani – 4 persoane, între 30 și 39 ani – 4 persoane, mai mult de 40 ani – 3 persoane.

Cu referire la instruirile în domeniul controlului infecțiilor TB au fost instruiți în anul curent 13 și cu doi ani în urmă 7 dintre persoanele participante la chestionare.

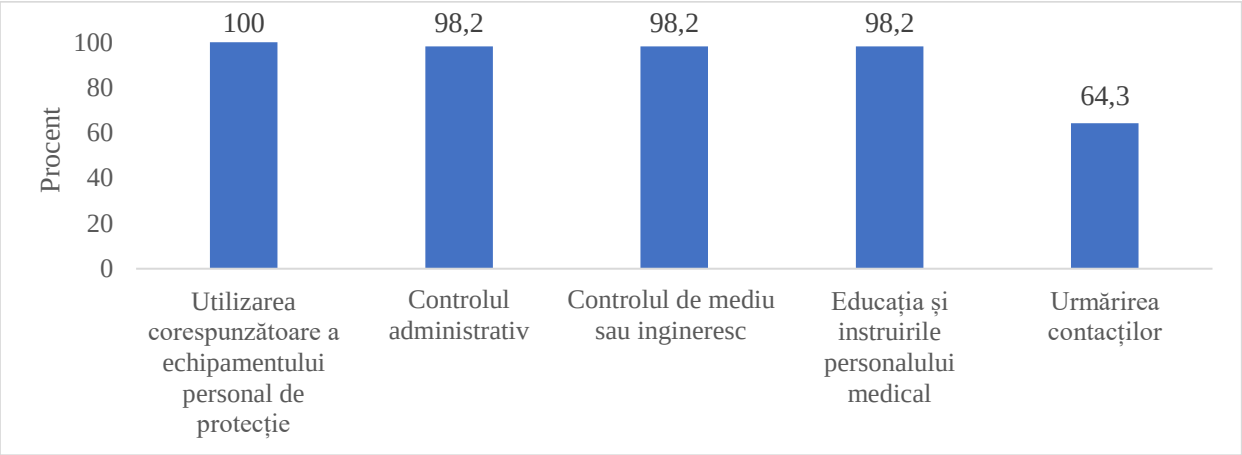


Fig. 5.6. Cele mai eficiente metode în controlul infecției tuberculozei

În același context, respondenților li s-a solicitat să noteze cu un punctaj de la 1 (cel mai puțin suficient) la 5 (cel mai eficient) metodele aplicate în controlul infecției TB. Astfel, cu un punctaj maxim (cel mai eficient) au fost notate următoarele metode: diagnosticul precoce și tratamentul corespunzător al TB (100%), utilizarea corespunzătoare a măștii chirurgicale utilizată de către pacient (100%), utilizarea corespunzătoare a măștii de tip respirator FFP2/FFP3 de către personalul medical (100%), utilizarea ventilației naturale (100%), implementarea controlul administrativ (100%), utilizarea ventilației mecanice (100%), utilizarea lămpilor bactericide ecranate (100%), educația și instruirea personalului medical (100%), eticheta tusei (98,2%) și urmărirea contacților (96,4%).

Evaluarea perceperii expunerii riscului de a achiziționa TB a fost analizată din trei perspective, cum ar fi: risc în cadrul instituției medicale în care activează (IFP), risc în cadrul sistemului spitalicesc în general și risc în comunitate.

Cu referire la percepția riscului în cadrul instituției medicale în care activează (IFP), personalul medical a menționat despre un risc maxim de infectare cu TB în doar 12,5% [IÎ95%:3,84-21,16] cazuri (risc maxim). În același timp, aproximativ jumătate (48,2% [IÎ95%:35,13-61,30]) dintre respondeți au considerat că riscul este minim, iar 39,3% [IÎ95%:26,49-52,08]) – că riscul este unul mediu (Fig. 5.7).

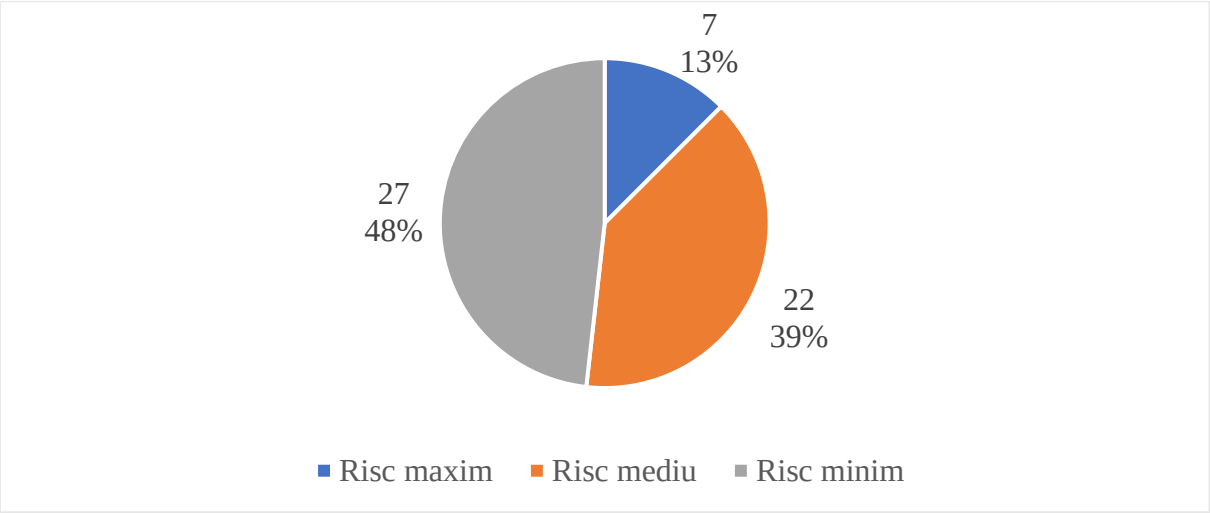


Fig. 5.7. Percepția personalului medical cu referire la expunerea riscului de a achiziționa TB în instituția în care activează (IFP)

În dezagregare, după tipul secției în care activează, un risc maxim de a achiziționa TB a fost menționat de către 6 persoane din cadrul secțiilor TB non-MDR (n=33) și de către o persoană care activează în cadrul secției MDR (n=13). Personalul medical care activează de peste 21 ani a menționat despre un risc înalt privind achiziționarea TB în cadrul instituției în care activează în 17,2% (5/29) cazuri (Fig. 5.8). Despre un risc maxim de achiziționare a TB au menționat un medic (n=7) și șase asistente medicale (n=49). Din personalul care se consideră expus maxim achiziționării TB, unul a urmat cursuri de instruire în domeniul controlului infecțiilor TB pe parcursul anului curent, iar ceilalți 6 – cu 2 ani în urmă.

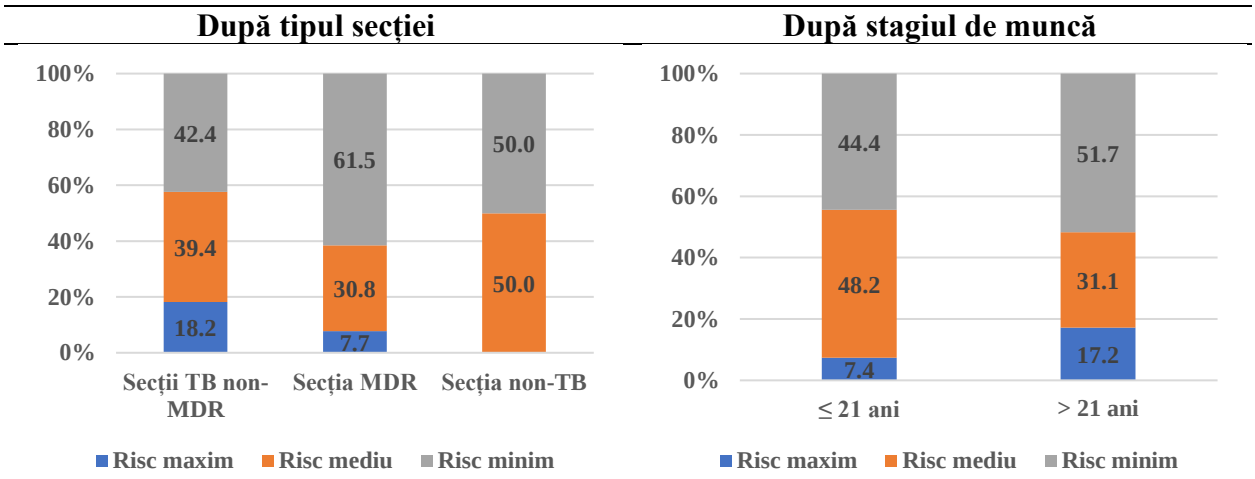


Fig. 5.8. Percepția personalului medical cu referire la expunerea riscului de a achiziționa TB în cadrul IFP în dezagregare după tipul secției și stagiul de muncă

Cu referire la riscul de infectare cu TB în sistemul spitalicesc (în general), majoritatea dintre personalul medical consideră că acesta este unul minim (60,7% [IÎ95%:47,92-73,51] sau mediu (37,5% [IÎ95%:24,82-50,18] (Fig. 5.9).

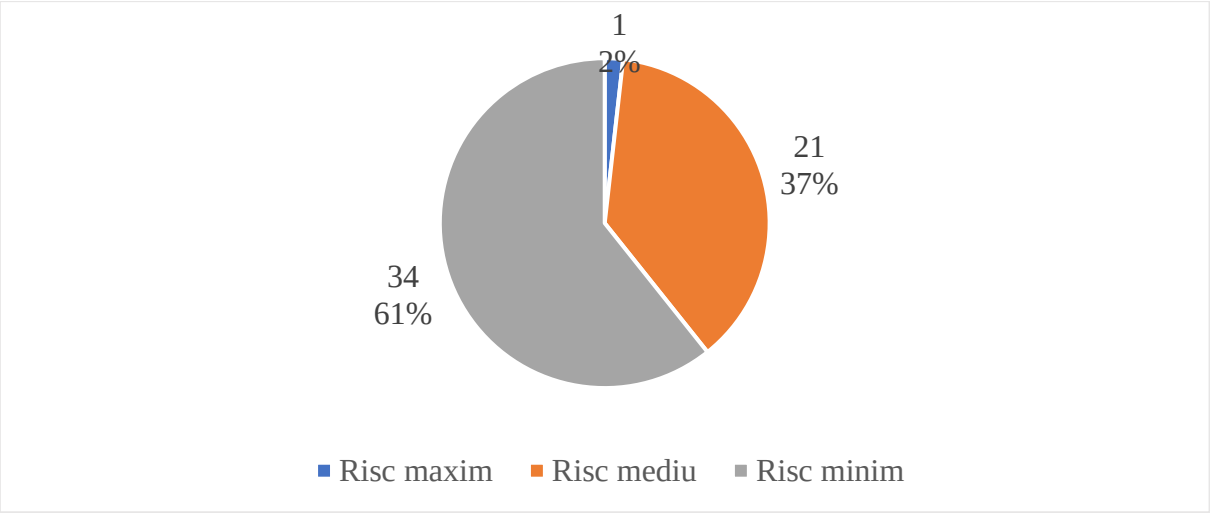


Fig. 5.9. Percepția personalului medical cu referire la expunerea riscului de a achiziționa TB în cadrul instituțiilor spitalicești (de ordin general)

În dezagregarea după tipul secției, doar o singură persoană (n=1) care activează în cadrul secției MDR (n=13) consideră că există un risc major de achiziționare a TB în cadrul spitalelor de ordin general. În majoritatea cazurilor, riscul de achiziționare a TB, în cadrul spitalelor de profil general, a fost considerat unul minim. În același timp, personalul cu un stagiu de muncă de până la 21 ani (n=27) consideră spitalele de profil general cu un risc mediu de achiziționare a TB (n=12) (Fig. 5.10).

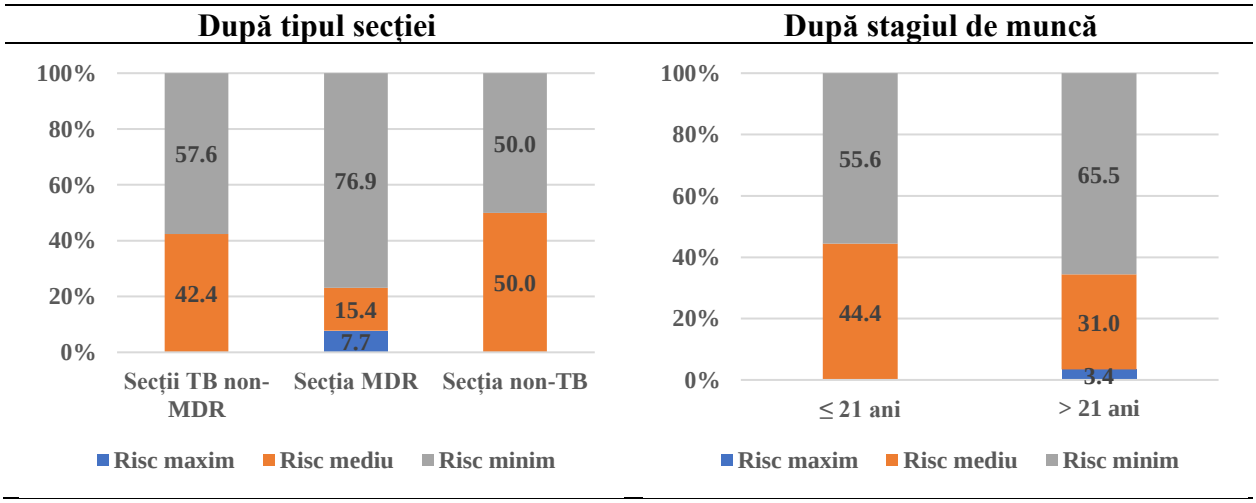


Fig. 5.10. Percepția personalului medical cu referire la expunerea riscului de a achiziționa TB în cadrul spitalelor de profil general în dezagregare după tipul secției și stagiul de muncă

Cu referire la opinia personalului medical privind riscul de achiziționare a TB în comunitate majoritatea dintre personalul medical consideră că acesta este maxim în 67,9% [IÎ95%:55,63-80,09] cazuri și mediu în 30,4% [IÎ95%:18,31-42,40] cazuri. Doar o persoană a considerat riscul minim de achiziționare a TB în comunitate (Fig. 5.11).

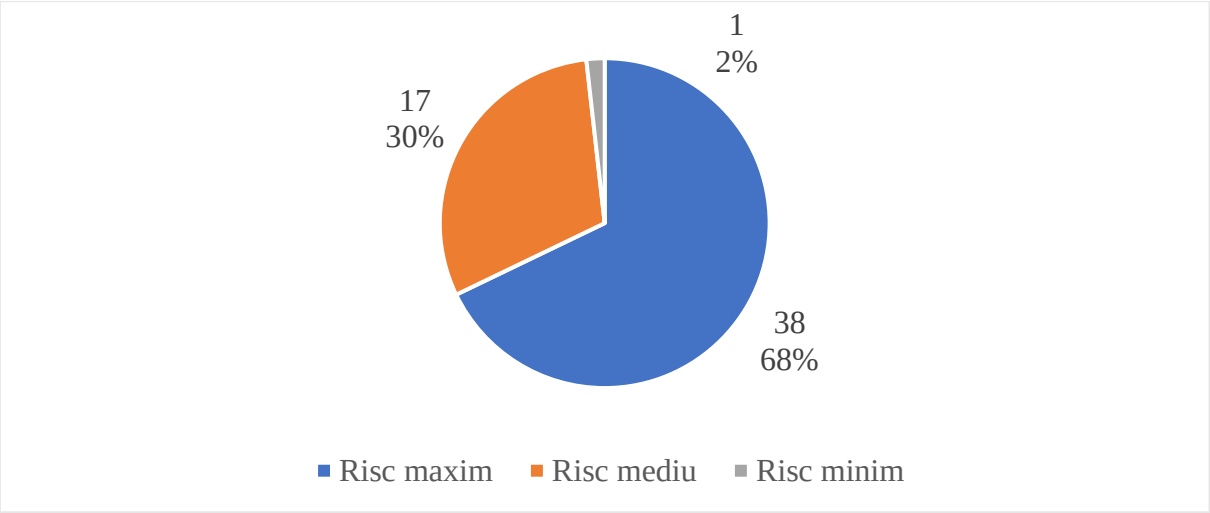


Fig. 5.11. Percepția personalului medical privind expunerea riscului de a achiziționa TB în comunitate

În dezagregarea după tipul secției, un risc maxim de a achiziționa TB în comunitate a fost menționat de către personalul medical din cadrul secțiilor TB non-MDR (72,7%; n=24) și a celor care activau în cadrul secției non-TB (70,0%; n=7). Personalul din cadrul secției MDR a menționat despre un risc maxim de achiziționare a TB în comunitate în 53,8% (n=7). Cu referire la stagiul medical de muncă, în majoritatea cazurilor, opinia personalului medical că riscul de a achiziționa TB în comunitate este maxim a fost practic aceeași, despre acest fapt menționând în 66,7% (n=18) cazuri cei cu un stagiu de până la 21 ani și în 69,0% (n=20) cazuri cei cu un stagiu mai mare de 21 ani (Fig. 5.12).

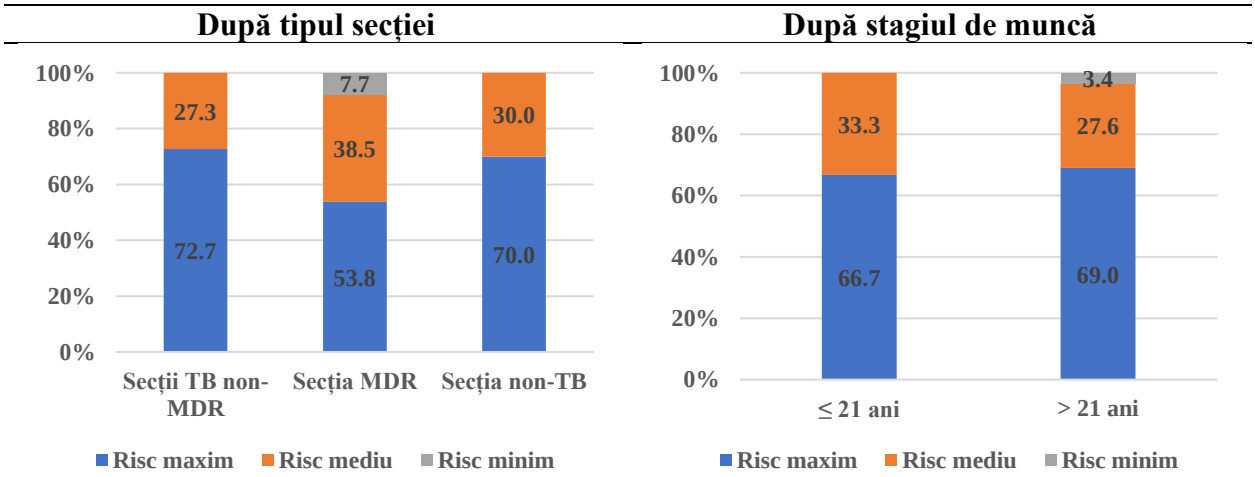


Fig. 5.12. Percepția personalului medical cu referire la expunerea riscului de a achiziționa TB în cadrul spitalelor de profil general în dezagregare după tipul secției și stagiul de muncă

Consideră un risc maxim de a achiziționa TB în comunitate 6 medici (n=7) și 32 dintre asistentele medicale (n=49). Personalul medical care a urmat instruiri în domeniul controlului

infecției TB în anul curent a menționat despre riscul maxim de a achiziționa TB în comunitate în 65,8% (25/38) cazuri, iar cei care au fost instruiți cu cel puțin doi ani în urmă - 72% (13/18) cazuri.

5.5 Concluzii în baza capitolului 5

1. Implementarea unui control al infecției de calitate, în special, într-o instituție în care sunt spitalizați pacienți infecțioși (cu TB de diferite forme), dar și ne-infecțioși (non-TB) implică aplicarea și respectarea măsurilor riguroase a unui control al infecției. Existența unui plan, program și a unui grup de lucru la nivel de instituție dovedește atitudinea riguroasă în domeniul implementării și respectării cerințelor de control al infecției TB.
2. Personalul medical din cadrul IFP a dovedit un nivel înalt de cunoștințe în aplicarea măsurilor de control al infecției TB, dar și un grad înalt în capacitarea acestora.
3. Datorită cunoștințelor evidente în domeniul controlului infecției TB, personalul medical percepe un risc major de infectare cu TB în cadrul în cadrul instituției în doar 13% cazuri, iar în cadrul sistemului spitalicesc de ordin general și în comunitate un risc de 1,8% pentru fiecare.

CONCLUZII GENERALE

1. Implementarea măsurilor de control al infecției în spitalele de profil din republică a stopat transmiterea nosocomială a infecției tuberculoase, în primul rând cu germeni rezistenți la medicamente și a redus substanțial numărul acestor forme de tuberculoză printre pacienții noi depistați.

2. Aplicarea metodelor de secvențiere a genomului întegral pe tulpini a *Mtbc* a identificat 2 cazuri probabile de transmitere (2/567), ceea ce indică o rată scăzută de transmitere nosocomială a tulpinilor de *Mtbc* RR/MDR în cadrul spitalului în care s-a desfășurat studiul.

3. Prezența mutațiilor genice responsabile de rezistența la medicamentele utilizate pentru tratamentul TB a fost determinată la 13 dintre 17 medicamente antituberculoase supuse analizei și care variază de la 100% (INH și RIF, medicamente de linia I) la 6,0% (CS, medicament de linia II). Nu au fost identificate mutații la nivel de gene responsabile de rezistența la CFZ, LZD, BDQ și DLM, ceea ce conferă încredere în aplicarea regimurilor noi, recomandate recent de către OMS pentru tratamentul TB rezistente, de scurtă durată.

4. Rezultatele tratamentului anti-tuberculos pentru pacienții cu TB RR/MDR au înregistrat un succes la tratament de la 63,4% în 2016 la 72,6% în 2020. Analiza bivariată a determinat că tulpinile de *Mtbc* care au prezentat mutații în genele responsabile pentru rezistența la MFX și LFX au șanse mai mari de a avea insucces la regimurile actuale aplicate pentru tratamentul TB RR/MDR.

5. Capacitatea WGS de a deduce cazurile de transmisie directă pe baza distanței genetice este una limitată din cauza clonalității ridicate a unor grupuri cu prevalență ridicată, unde 92% dintre tulpinile TB RR/MDR din Republica Moldova aparțin unor grupuri presupuse de transmitere. Rețelele largi de transmitere bazate pe asemănarea genomică au arătat că >85% din toate cazurile de TB cu cultură pozitivă ar putea fi cartografiate în grupuri presupuse de transmitere și că majoritatea (>54%) dintre aceste cazuri au fost găsite în 35 de grupuri mari de transmitere.

6. Personalul medical din cadrul instituției spitalicești de profil a dovedit un nivel înalt de cunoștințe în aplicarea măsurilor de control al infecției TB, dar și un grad înalt în capacitarea acestora.

RECOMANDĂRI

1. Trierea riguroasă a pacienților înainte de spitalizare în staționarele de profil.

2. Reducerea duratei de spitalizare în secțiile de TB, în special, cele destinate pentru pacienții cu TB RR/MDR prin promovarea tratamentului în condiții de ambulatoriu.

3. Reevaluarea și aplicarea criteriilor de internare în secțiile de ftiziopneumologie, dar și a principiilor de amplasare a pacienților, inclusiv evitarea transferurilor între secțiile non-MDR și MDR, fără indicații clinice elocvente.

4. Revizuirea planului național privind controlul infecției în TB la toate nivelele, inclusiv în staționarele de TB, instituțiile de ambulatoriu care prestează servicii pentru TB, dar și la nivel comunitar.

5. Pregătirea continuă a personalului medical din cadrul serviciului de ftiziopneumologie (staționar și ambulatoriu), dar și a personalului medical care activează la nivel comunitar, inclusiv prin dezvoltarea curiculei de studii, materialelor informaționale, instruiri, etc.

6. Evaluarea periodică a lucrătorilor medicali privind aplicarea metodelor de control al infecțiilor în cadrul staționarelor, ambulatoriu, etc.

BIBLIOGRAFIE

1. *Global tuberculosis report 2022.* Geneva: World Health Organization 2022.ISBN:978-92-4-006172-9.
2. *Resolution adopted by the General Assembly on 25 September 2015.* United Nations 2015.
3. *The End TB Strategy.* World Health Organization 2015.WHO/HTM/TB/2015.19.
4. ACOSTA, C.D., DADU, A., RAMSAY, A., DARA, M. Drug-resistant tuberculosis in Eastern Europe: challenges and ways forward. In: *In Public Health Action.* 2014; 4(Suppl 2), pp.3-12. ISSN 2220-8372.
5. *Tuberculosis-surveillance-monitoring-europe.* Stockholm,: European Centre for Disease Prevention and Control 2022.ISSN 2443-5538.
6. *WHO global lists of high burden countries for tuberculosis (TB), TB/HIV and multidrug/rifampicin-resistant TB (MDR/RR-TB), 2021–2025: background document.* Geneva: World Health Organization 2021.ISBN 978-92-400-2944-6.
7. *Roadmap to implement the tuberculosis action plan for the WHO European Region 2016–2020.* Geneva: World Health Organization 2020.ISBN 978-92-890-5169-9.
8. BROWN, T.S., ELDHOLM, V., BRYNILDSRUD, O., OSNES, M. et al. Evolution and emergence of multidrug-resistant Mycobacterium tuberculosis in Chisinau, Moldova. In: *Microbial Genomics.* 2021 Aug; nr. 7(8):000620. ISSN 2057-5858.
9. GENESTET, C., PARET, R., PICHAT C., BERLAND, J.L. et al. Routine survey of Mycobacterium tuberculosis isolates reveals nosocomial transmission. In: *European Respiratory Journal.* 2020 Mar; nr. 55(3):1901888. ISSN 1399-3003.
10. CRUDU, V., MERKER, M., LANGE, C., NOROC, E. et al. Nosocomial transmission of multidrug-resistant tuberculosis. In: *International Journal of Tuberculosis and Lung Disease.* 2015; nr. 19(12), pp.1520-1523. ISSN 1027-3719.
11. WALKER, T.M., IP, C.L., HARREL, R.H., EVANS, J.T. et al. Whole-genome sequencing to delineate Mycobacterium tuberculosis outbreaks: a retrospective observational study. In: *Lancet Infect Disease.* 2013 Feb; nr.13(2), pp. 137-46. ISSN 1201-9712.
12. NIKOLAYEVSKYY, V., NIEMANN, S., ANTHONY, R., VAN SOOLINGEN, D. et al. Role and value of whole genome sequencing in studying tuberculosis transmission. In: *Clin Microbiol Infect.* 2019 Nov; nr. 25(11), pp.1377-1382. ISSN 1438-4221.
13. ESTEBESOVA A. *Systematic Review of Infection Prevention and Control Policies and Nosocomial Transmission of Drug-Resistant Tuberculosis.* School of Public Health 2013.
14. CLAASSENS, M.M., VAN SCHALKWYK, C., DU TOIT, E., ROEST, E. et al. Tuberculosis in healthcare workers and infection control measures at primary healthcare facilities in South Africa. In: *PLoS One.* 2013 Oct; nr. 8(10), pp. 762-772. ISSN 1932-6203.
15. *WHO policy on TB infection control in health-care facilities, congregate settings and households.* Geneva: World Health Organization 2009.ISBN 978-92-4-159832-3.
16. *Guidelines for the surveillance of drug resistance in tuberculosis.* Geneva: World Health Organization 2020.ISBN 978-92-4-001803-7.
17. *Global investments in tuberculosis research and development: past, present and future. A policy paper prepared for the first WHO global ministerial conference on ending tuberculosis in the sustainable development era: a multisectoral response.* Geneva: World Health Organization 2017.ISBN 978-92-4-151332-6.

18. LIENHARDT, C., GLAZIOU, P., UPLEKAR, M., LONNROTH, K. et al. Global tuberculosis control: lessons learnt and future prospects. In: *Nature Reviews Microbiology.* 2012 May; nr.10(6), pp. 407-416. ISSN 1740-1526.
19. LONNROTH, K., CASTRO, K.G., CHAKAYA, J.M., CHAUHAN L., S., et al. Tuberculosis control and elimination 2010–50: cure, care, and social development. In: *Lancet.* 2010 May; nr. 375(9728), pp.1814-1829. ISSN 0140-6736.
20. FRICK, L.R., RAPANELLI, M., BUSSMAN, U.A, KLEKE, A.J. et al. Involvement of thyroid hormones in the alterations of T-cell immunity and tumor progression. In: *Biological Psychiatry.* 2009 Jun; nr. 65(11), pp. 935-942. ISSN 0006-3223.
21. MATVYEYEVA, S. Influence of compensation of selenium deficiency on immunological parameters of patients with multidrugresistant tuberculosis at the background of subclinical hypothyroidism. In: *Buletinul Academiei de Ştiinţe a Moldovei. Ştiinţe Medicale.* 2021; nr. 71(3), pp. 242-244. ISSN 1857-0011.
22. MAHUAD, C., BOZZA, V., PEZZOTTO, S.M., BAY, M.L. et al. Impaired immune responses in tuberculosis patients are related to weight loss that coexists with immunoendocrine imbalance. In: *Neuroimmunomodulation.* 2007 Jun; nr. 14(3-4), pp. 193-199. ISSN 1021-7401.
23. *Global tuberculosis control 2009.* Geneva: World Health Organization 2009.ISBN 978-92-4-159886-6.
24. JAMISON, D. T., BREMAN, J. G., MEASHAM, A. R., ALLEYNE, G. et. al. *Disease control priorities in developing countries.* 2nd ed. Washington (DC): Oxford University Press; 2006 ISBN-10: 0-8213-6179-1.
25. BROWN, T. S., ELDHOLM, V., BRYNILDSRUD, O., OSNES, M. et al. Evolution and emergence of multidrug-resistant Mycobacterium tuberculosis in Chisinau, Moldova. In: *Microb Genom.* 2021 Aug; nr. 7(8):000620. ISSN 2057-5858.
26. IAVORSCHI, C., KULCIȚKAIA, S., CODREANU, A., TUDOR, E. și al. Monitorizarea şi evaluarea actuală al bacilarității în tuberculoza aparatului respirator la copii pe fundalul tehnologiilor noi de detecţie a micobacteriilor și schemelor de tratament. In: *Buletinul Academiei de Ştiinţe al Republicii Moldova.* 2022; nr. 74(3), pp.105-109. ISSN 1857-0011.
27. CLARK, T.G., MALLARD, K., COLL, F., PRESTON, M. et al. Elucidating emergence and transmission of multidrug-resistant tuberculosis in treatment experienced patients by whole genome sequencing. In: *PloS one.* 2013; nr. 8(12), pp.803-812. ISSN 1932-6203.
28. ZHANG, Y., YEW, W.W. Mechanisms of drug resistance in Mycobacterium tuberculosis. In: *The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease.* 2015; vol.19, pp. 1276-1289. ISSN 1027-3719.
29. GILLESPIE, STEPHEN H. Evolution of drug resistance in Mycobacterium tuberculosis: clinical and molecular perspective. In: *Antimicrob Agents Chemother.* 2002; vol. 46, pp.267-274. ISSN 0066-4804.
30. DHEDA, K., LIMBERIS, J. D., PIETERSEN, E., PHELAN J., et al. Outcomes, infectiousness, and transmission dynamics of patients with extensively drug-resistant tuberculosis and home-discharged patients with programmatically incurable tuberculosis: a prospective cohort study. In: *The Lancet Respiratory Medicine.* 2017; vol. 5, pp. 269-281. ISSN 2213-2600.
31. KENDALL, E.A., FOFANA, M.O., DOWDY, D.W. Burden of transmitted multidrug resistance in epidemics of tubercu-losis: a transmission modelling analysis. In: *The Lancet Respiratory Medicine.* 2015; vol. 3, pp. 963-972. ISSN 2213-2600.

32. GRENFELL, B.T., PYBUS, O.G., GOG, J.R., WOOD, J., L., N. et al. Unifying the epidemiological and evolutionary dynamics of pathogens. In: *Science.* 2004; vol. 303(5656), pp. 327-332. ISSN 1233-1821.
33. LEMEY, P., RAMBAUT, A., WELCH, J.J., SUCHARD, M.A. Phylogeography takes a relaxed random walk in continu-ous space and time. In: *Molecular Biology and Evolution.* ; vol. 27, pp. 1877-1885. ISSN 1537-1719.
34. *Global tuberculosis report 2022.* Geneva: World Health Organization 2022.ISBN 978-92-4-006172-9.
35. CRUDU, V., CODREANU, A., ALEXANDRU, S. et. al. Analiza geografică și evaluarea secvențierii genomului m. Tuberculosis la nivel național. In: *Buletinul Academiei de Științe.* 2022; nr. 74(3), pp.174-178. ISSN 1857-0011.: p. 174-178.
36. XU, Y., CANCINO-MUNOZ, I., TORRES-PUENTE, M., VILLAMAYOR, l., M., et al. High-resolution mapping of tuberculosis transmission: Whole genome sequencing and phylogenetic modelling of a cohort from Valencia Region, Spain. In: *PLoS medicine.* 2019; nr. 16(10), p.e1002961. ISSN 1549-1277.: p. e1002961.
37. WOOLHOUSE, M.E.J., DYE, C., ETARD, J. F., SMITH T., et al. Heterogeneities in the transmission of infectious agents: implications for the design of control programs. In: *Proceedings of the National Academy of Sciences USA.* 1997; 94(1), pp.338-342. ISSN 0027-8424.
38. DOWDY, D.W., GOLUB, J.E., CHAISSON, R.E., SARACENI, V. Heterogeneity in tuberculosis transmission and the role of geographic hotspots in propagating epidemics. In: *Proceedings of the National Academy of Sciences.* 2012; nr. 109(24), pp.9557-9562. ISSN 0027-8424.
39. SHAH, N. S., AULD, S. C., BRUST, J. C. M., MATHEMA, B. et al. Transmission of Extensively Drug-Resistant Tuberculosis in South Africa. In: *New England journal of medicine.* 2017; nr. 376, pp. 243-253. ISSN 0028-4793.
40. DOWDY, D.W., TERON, G., TORNHEIM, J.A., KENDALL, E.A. Drug-resistant tuberculosis in 2017: at a crossroads. In: *Lancet Respiratory Medicine.* 2017; vol. 5, pp. 241-242. ISSN 2213-2600.
41. *WHO treatment guidelines for drug-resistant tuberculosis.* Geneva: World Health Organization 2016.ISBN: 978-92-4-154963-9.
42. DIXIT, A., FRESCHI, L., VARGAS, R., CALDERON R. et al. Whole genome sequencing identifies bacterial factors affecting transmission of multidrug-resistant tuberculosis in a high-prevalence setting. In: *Scientific Reports.* 2019; nr. 9(1), p5602. ISSN 2045-2322.
43. AARON, L., SAADOUN, D., CALATRONI, I., LAUNAY, O. et al. Tuberculosis in HIV-infected patients: a comprehensive review. Clinical microbiology and infection. In: *Clinical Microbiology and Infection.* 2004; nr. 10(5), pp.388-398. ISSN 2075-4418.
44. PATEL, K.B., BELMONTE, R., CROWE, H.M. Drug malabsorption and resistance tuberculosis in HIV-infected patients. In: *The New England Journal of Medicine.* 1995; vol. 332(5), pp. 336–337. ISSN 0028-4793.
45. O'BRIEN, R.J., VERNON, A.A. New tuberculosis drug development: how can we do better? In: *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine.* 1998; vol. 157, pp. 1705-1707. ISSN 1073-449X.
46. ALISJAHBANA, B., SAHIRATMADJA, E., NELVAN, E.J., PURWA, A. M. et al. The Effect of Type 2 Diabetes Mellitus on the Presentation and Treatment Response of Pulmonary Tuberculosis. In: *Clinical Infectious Diseases.* 2007; vol. 45, pp. 428-435. ISSN 1537-6591.

47. HARRIES, A., LIN, Y., SATYANARAYANA, S., LONNROTH, K. et al. The Looming Epidemic of Diabetes-Associated Tuberculosis: Learning Lessons from HIV-Associated Tuberculosis. In: *The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease.* 2011; vol. 15, pp. 1436-1444. ISSN 1027-3719.
48. MAURICE, J. WHO Framework Target Tuberculosis-Diabetes Link. In: *The Lancet.* 2011; vol. 378(9798), pp. 1209-1210. ISSN 0140-6736.
49. BAKER, M., HARRIESS, A., JEON, C.Y., HART, J. E. et al. The Impact of Diabetes on Tuberculosis Treatment Outcomes: A Systematic Review. In: *BMC Medicine.* 2011; vol. 9(81), pp. 1-15. ISSN 1741-7015.
50. DOOLEY, K., CHAISSON, R. Tuberculosis and Diabetes Mellitus: Convergence of Two Epidemics. In: *The Lancet Infectious Diseases.* 2009; vol. 45, pp.428-435. ISSN 1473-3099.
51. MI, F., TAN, S., LIANG, L., HARRIES, A., et al. Diabetes Mellitus and Tuberculosis: Patterns of Tuberculosis, Two-Month Smear Conversion and Treatment Outcomes in Guangzhou, China. In: *Tropical Medicine and International Health.* 2013; vol.18, pp.1379-1385. ISSN 1365-3156.: p. 1379-1385.
52. DEISS, R., RODWELL, T., GARFEIN, R. Tuberculosis and Drug Use: Review and Update. In: *Clinical Infectious Diseases.* 2009; vol. 48, pp.72-82. ISSN 1058-4838.: p. 72-82.
53. MDIVANI, N., ZANGALADZE, E., VOLKOVA, N., KOURBATOVA, E et al. High Prevalence of Multidrug-Resistant Tuberculosis in Georgia. In: *International Journal of Infectious Diseases.* 2008; vol. 12, pp. 635-644. ISSN 1201-9712.
54. DUARTE, R., SANTOS, A., MOTA, M., CARVALHO, A. et al. Involving Community Partners in the Management of Tuberculosis among Drug Users. In: *Public Health.* 2011; vol. 125, pp.60-62. ISSN 0033-3506.
55. SUAREZ-GARCIA, I., RODRIGUES-BLANCO, A., VIDAL-PEREZ, J.L., JARAS-HERNANDEZ, M. J. et al. Risk Factors for Multidrug—Resistant Tuberculosis in a Tuberculosis Unit in Madrid, Spain. In: *European Journal of Clinical Microbiology Infectious Diseases.* 2009; vol. 28, pp. 325-330. ISSN 0934-9723.
56. GOMES, M., CORREIA, A., MENDONCA, D., DUARTE, R. Risk factors for drug-resistant tuberculosis. In: *Journal of Tuberculosis Research.* 2014; vol. 2(3), pp. 111-118. ISSN 2329-843X.
57. *Global tuberculosis control 2011.* Geneva: World Health Organization 2011.ISBN: 978-92-4-156438-0.
58. PABLOS-MENDEZ A., KNIRCH C.A., BARR R.G., LERNER B.H. et al. Nonadherence in tuberculosis treatment: predictors and consequences in New York City. In: *American Journal of Medicine.* 1997; vol. 102(2), pp.164-170. ISSN 0002-9343.: p. 164-170.
59. VERVER, S., WARREN, R. M., BEYERS, N., Richardson M. et al. Rate of reinfection tuberculosis after successful treatment is higher than rate of new tuberculosis. In: *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine.* 2005; vol. 171(12), pp. 1430-1435. ISSN 0003-0805.
60. KOLAPPAN, C.S.R., SUBRAMANI, R., KARUNAKARAN, K., NARAYANAN, P. R. Mortality of tuberculosis patients in Chennai, India. In: *Bulletin of the World Health Organization.* 2006; vol. 84, pp. 555-560. ISSN 1564-0604.
61. TUDOR, E., IAVORSCHI, I., BRUMARU, A., KULCITCHI S. și al. Patogeneza și caracteristica clinico-epidemiologică a recidivelor tuberculozei pulmonare la pacienții cu dependență de alcool și la persoanele fără adăpost. In: *Buletinul Academiei de Științe.* 2022; nr. 74(3), pp.110-115. ISSN 0367-6749.

62. *Tuberculosis action plan for the WHO European Region 2023–2030, background document.* World Health Organization 2022.220771.
63. *COVID-19 weekly epidemiological update 2020.* Geneva: World Health Organization 2020.
64. DARA, M., KUCHUKHIDZE, G., YEDILBAYEV, A., PEREHINETS, I. et al. Early COVID-19 pandemic's toll on tuberculosis services, WHO European Region Januar y to June 2020. In: *Euro Surveillance.* 2021; nr. 26(24), 2100231. ISSN 1560-7917.
65. ABUBAKAR, I., DARA, M., MANISSERO, D. et al. Tackling the spread of drug-resistant tuberculosis in Europe. In: *Lancet.* 2012; vol. 379, pp. e21-e13.
66. SKRAHINA, A., HUREVICH, H., ZALUTSKAYA, A., SAHALCHYK, E. et al. Alarming levels of drug-resistant tuberculosis in Belarus: results of a survey in Minsk. In: *European Respiratory Journal.* 2012; vol. 39, pp. 1425–1431. ISSN 1399-3003.
67. SKRAHINA, A., ZALUTSKAYA, A., SAHALCHYK, E. et al. Determining the true burden of anti-TB drug resistance in Minsk: routine surveillance vs. survey. In: *International Journal of Tuberculosis and Lung Disease.* 2011; vol. 15(Suppl. 3), pp. 310S–311S. ISSN 1027-3719.
68. SOTGIU, G., CENTIS, R., D'AMBROSIO, L., LORENZO, S.D. et al. Development of a standardised tool to survey MDR-/XDR-TB case management in Europe. In: *European Respiratory Journal.* 2010; vol. 36, pp. 208–211. ISSN 1399-3003.
69. SOTGIU, G., D'AMBROSIO, L., CENTIS, R., BOTHAMLEY, G. et al. TB and M/XDR-TB infection control in European TB reference centres: the Achilles' heel? In: *European Respiratory Journal.* 2011; vol. 38, pp. 1221–1223. ISSN 1399-3003.
70. MIGLIORI, G.B., SOTGIU, G., BLASI F., ZUMLA, A. et al. Towards the development of EU/EEA Standards for Tuberculosis Care (ESTC). In: *European Respiratory Journal.* 2011; vol. 38, pp.493-495. ISSN 1399-3003.
71. *Guidelines for the programmatic management of drug-resistant tuberculosis - 2011 update.* Geneva: World Health Organization 2011.ISBN 978-92-4-150158-3.
72. MIGLIORI, G. B., DARA, M., DE COLOMBANI, P., KLUGE, H. et al. Multidrug-resistant tuberculosis in Eastern Europe: still on the increase? In: *European Respiratory Journal.* 2012; vol. 39(6), pp.1290-1291. ISSN 1399-3003.
73. European Centre for Disease Prevention and Control, WHO Regional Office for Europe. *Tuberculosis surveillance and monitoring in Europe 2022 – 2020 data.* 2022.https://www.who.int/europe/publications/i/item/9789289057820.
74. ACOSTA, C.D., DADU, A., RAMSAY, A., DARA, M. Drug-resistant tuberculosis in Eastern Europe: challenges and ways forward. In: *Public Health Action.* 2014; vol. 4 (suppl 2), pp. 3-12. DOI:10.5588/pha.14.0087.
75. RAVIGLIONE, M.C. The TB epidemic from 1992 to 2002. In: *Tuberculosis (Edinb).* 2003; vol. 83, pp. 4-14. DOI: 10.1016/s1472-9792(02)00071-9. PMID: 12758183.
76. SHILOVA, M.V., DYE, C. The resurgence of tuberculosis in Russia. In: *Philosophical Transactions of the Royal Society.* 2001; nr. 356, pp. 1069-1075. DOI:10.1098/rstb.2001.0895.
77. POPA, V., USTIAN, A., HAIDARLÎ, I. și al. Letalitatea prin tuberculoză în imsp Spitalul Clinic Municipal de Ftiziopneumologie mun. Chișinău. In: *Buletinul Academiei de Ştiinţe a Moldovei. Ştiinţe Medicale.* 2011; nr. 32 (4), pp. 44-48. ISSN 1857-0011.
78. World Health Organization. Multidrug and extensively drugresistant TB (M/XDR-TB). 2010 global report on surveillance and response. In: *Geneva, Switzerland: WHO.* 2010; http://whqlibdoc.who.int/publications/2010/9789241599191_eng.pdf.

79. Tuberculosis surveillance and monitoring in Europe. 2021-2022; ISBN 978-92-9498-567-5.

80. *Tuberculosis surveillance and monitoring in Europe 2020: 2018 data.*; 2020.

81. Tuberculosis surveillance and monitoring in Europe 2022: 2020 data. 2022; ISBN 978-92-9498-567-5.

82. SAIN, D., HAIDARLÎ, I., RÎVNEAC, L. și al. Aspecte de management al abandonului tratamentului antituberculos în Republica Moldova. In: *Buletinul Academiei de Ştiinţe a Moldovei. Ştiinţe Medicale.* 2012; nr. 36 (4), pp. 48-51. ISSN 1857-0011.

83. SAIN, D., CRUDU, V., MORARU, N. și al. Tuberculoza multidrogrezistentă: realizări şi probleme. Actualităţi în etiologia, patogenia, profi laxia, diagnosticul şi tratamentul tuberculozei şi afecţiunilor pulmonare nespecifice. 2008;: p. 12-19.

84. Programul național de răspuns la tuberculoză pentru anii 2022-2025. 2022.

85. DOMENTE, L., ALEXANDRU, S., IAVORSCHI, C. și al. *Protocol clinic naţional "Tuberculoza la adult".* Chisinau; 2012.

86. SIANOVIC, E., RAMMA, L., VASSALL, A. et al. Impact of reduced hospitalisation on the cost of treatment for drug-resistant tuberculosis in South Africa. In: *Int J Tuberc Lung Dis.* 2015; vol. 19, pp. 172-178. DOI:10.5588/ijtld.14.0421.

87. KARUMBI, J., GARNER, P. Directly observed therapy for treating tuberculosis. In: *Cochrane Database Syst Rev.* 2015; vol. 5, pp. DOI:10.1002/14651858.CD003343.pub4.

88. HUANG, C.C. et al. Te Efect of HIV-Related Immunosuppression on the Risk of Tuberculosis Transmission to Household Contacts. In: *Clin. Infect. Dis. Of. Publ. Infect. Dis. Soc. Am.* 2014; vol. 58, pp. 765-774. DOI:10.1093/cid/cit948: p. 765–774.

89. LONDON, L. Confinement for extensively drug-resistant tuberculosis: balancing protection of health systems, individual rights and the public's health. In: *Int J Tuberc Lung Dis.* 2009; vol. 13, pp. 1200-1209. PMID: 19793423.: p. 1200–09.

90. CRUDU, V., SAIN, D., BORTĂ, V. Principiile de interpre-tare a rezultatelor testării rezistenței M.tuderculosis prin metode molecular genetice: Xpert MTB/RIF. In: *Recomandări Metodice.* 2016; pp. 62..

91. ЧУМАКОВА, Е.С., КОМИССАРОВА, О.Г., АБДУЛЛАЕВ, Р.Ю., ОДИНЦЕВ, В.С. Роль теста GeneXpert MTB/RIF в повышении эффективности лечения больных впервые выявленным МЛУ туберкулезом в Ставропольском крае Российской Федерации. In: *Вестник ЦНИИТ.* 2018; 76-83 с. https://doi.org/10.7868/S2587667818010090.

92. KULCIȚCHI, S. Tuberculoza rezistentă la copii. In: *Buletinul Academiei de Ştiinţe a Moldovei. Ştiinţe Medicale.* 2020; nr. 66 (2). pp. 117-121. ISSN 1857-0011.

93. ЗУБОВА, Е., ТАХТОХОДЖАЕВА, Г., ЮСУБОВА, А. и др. Применение препаратов резервного ряда в химиотерапии детей и подростков, больных туберкулезом. In: *Buletinul Academiei de Ştiinţe a Moldovei. Ştiinţe Medicale.* 2021; nr. 69(1), pp. 79-84. DOI: https://doi.org/10.52692/1857-0011.2021.1-69.16.

94. American Thoracic Society. Centers for Disease Control and Prevention/Infectious Disease Society of America: Controlling Tuberculosis in the United States. In: *Am.J.Respir. Crit. Care Med.* 2005; 172 p. DOI: 10.1164/rccm.2508001.

95. American Thoracic Society. Diagnostic Standard and Classifi cation of Tuberculosis in Adults and Children. In: *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* ; vol. 161, pp.1376-1395. DOI: 10.1164/ajrccm.161.4.16141.

96. NALIVAICO, N. Concepţia internaţională în managementul tuberculozei în condiţiile epidemiologice contemporane. In: *Buletinul Academiei de Ştiinţe a Moldovei. Ştiinţe Medicale.* ; vol. 4, pp. 206-211. ISSN 1857-0011.
97. WHO. Consolidated guidelines on tuberculosis: mod-ule 2: systematic screening for tuberculosis disease. 2021; ISBN: 978–92–4-002267–6.
98. WHO. Systematic screening for active tuberculosis: an operational guide. 2016; ISBN 978 92 4 154917 2.
99. LESNIC, E., MALIC, A., CORLĂTEANU, A. Actualităţi în screeningul la Tuberculoză. Revista ghidurilor. In: *Buletinul Academiei de Ştiinţe al Republicii Moldova.* 2022; nr. 74(3), pp. 39-42. ISBN 978 92 4 154917 2.
100. WHO. Chest radiograpghy in tuberculosis detection. Summary of current WHO recommendations and guidance on programmatic approaches. In: *2016.* ; ISBN: 978-92-4-151150-6.
101. WHO. *WHO treatment guidelines for drug-resistant tuberculosis, 2016 update.* 2016.ISBN: 978-92-4-154963-9.
102. ALEXANDRU, S., VILC, V., TUDOR, E. et. al. *Protocolul Clinic Naţional-123 "Tubercuoza la adult".* Chisinau; 2020.
103. MEEHAN, C.J., MORIS, P., KOHL, T.A. et al. The relationship between transmission time and clustering methods in Mycobacterium tuberculosis epidemiology. In: *EBioMedicine.* 2018; vol. 37, pp. 419-416. DOI: 10.1016/j.ebiom.2018.10.013.
104. FAKSRI, K. et al. Comparisons of whole-genome sequencing and phenotypic drug susceptibility testing for Mycobacterium tuberculosis causing MDR-TB and XDR-TB in Thailand. In: *International Journal of Antimicrobial Agents.* 2019; vol. 54, pp. 109-116. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2019.04.004.
105. PAPAVENTSIS, D., CASALI, N., KONTSEVAYA, I. et al. Whole genome sequencing of Mycobacterium tuberculosis for detection of drug resistance: a systematic review. In: *Clinical Microbiology and Infection.* 2017; vol. 23, pp. 61-68. DOI: 10.1016/j.cmi.2016.09.008.
106. WANG, L., YANG, J., CHEN, L. et al. Whole-genome sequencing of Mycobacterium tuberculosis for prediction of drug resistance. In: *Epidemiology and Infection.* 2022; nr. 150(e22), pp. 1-8. DOI: 10.1017/S095026882100279X.
107. EuroTB (InVS/KNCV) and the national coordinators for tuberculosis surveillance in the WHO European Region. *Surveillance of tuberculosis in Europe. Report on tuberculosis cases notified in 2000.* 2002.https://doi.org/10.2807/esm.07.06.00423-en.
108. European Centre for Disease Prevention and Control/WHO Regional Office. *Tuberculosis surveillance and monitoring in Europe 2018–2016.* 2018.ISBN: 9789289053037.
109. ROSENTHAL, A., GABRIELIAN, A., ENGLE, E. et. al. The TB portals: an open-access web-based platform for global drug-resistant-tuberculosis data sharing and analysis. In: *J Clin Microbiol.* 2017; vol. 55(11), pp. 3267-3282. DOI: 10.1128/JCM.01013-17.
110. WOLLENBERG, K., HARRIS, M., GABRIELIAN, A., CIOBANU, N. et. al. A retrospective genomic analysis of drug-resistant strains of M. tuberculosis in a high-burden setting, with an emphasis on comparative diagnostics and reactivation and reinfection status. In: *BMC Infectious Diseases.* 2020; vol. 20. pp 1-12. https://doi.org/10.1186/s12879-019-4739-z.
111. HOLT, K. E. et al. Frequent transmission of the Mycobacterium tuberculosis Beijing lineage and positive selection for the EsxW Beijing variant in Vietnam. In: *Nat. Genet.* 2018; vol. 50, pp. 849-856. DOI: 10.1038/s41588-018-0117-9.

112. DRUMMOND, A.J., BOUCKAERT, R.R. Bayesian Evolutionary Analysis with BEAST. In: *Cambridge University Press.* 2015; ISBN 9781139095112.
113. COHEN, K.A., ABEEL, T., MANSON MCGUIRE, A. et al. Evolution of extensively drug-resistant tuberculosis over four decades: whole genome sequencing and dating analysis of Mycobacterium tuberculosis isolates from KwaZulu-Natal. In: *PLoS Med.* 2015; nr. 12(9), pp. e1001880. DOI: 10.1371/journal.pmed.1001880.
114. WOLLENBERG, K.R., DESJARDINS, C.A., ZALUTSKAYA, A. et al. Whole-genome sequencing of Mycobacterium tuberculosis provides insight into the evolution and genetic composition of drug-resistant tuberculosis in Belarus. In: *J Clin Microbiol.* 2017; nr. 55(2), pp. 457-469. DOI: 10.1371/journal.pmed.1001880.
115. CASALI, N., NIKOLAYEVSKYY, V., BALABANOVA, Y. et al. Evolution and transmission of drug-resistant tuberculosis in a Russian population. In: *Nat Genet.* 2014; nr. 46(3), pp. 279-286. DOI: 10.1038/ng.2878.
116. NIEMANN, S., KOSER, C.U., GAGNEUX, S., PLINKE, C. et al. Genomic diversity among drug sensitive and multidrug resistant isolates of Mycobacterium tuberculosis with identical DNA fingerprints. In: *PLoS One.* 2009; nr. 4(10), pp. e7407. DOI: 10.1371/journal.pone.0007407.
117. WALKER, T.M., IP, C.L.C., HARRELL, R.H. et al. Whole-genome sequencing to delineate Mycobacterium tuberculosis outbreaks: a retrospective observational study. In: *The Lancet.* 2013; nr. 13(2), pp.137-146. DOI:https://doi.org/10.1016/S1473-3099(12)70277-3.
118. ROETZER, A., DIEL, R., KOHL, T.A. et. al. Whole genome sequencing versus traditional genotyping for investigation of a Mycobacterium tuberculosis outbreak. In: *PLoS Med.* 2013; nr. 10(2), pp. 101387. DOI:https://doi.org/10.1016/S1473-3099(12)70277-3: p. 1001387.
119. Nosocomial transmission of multidrug-resistant tuberculosis. In: *International Journal of Tuberculosis and Lung Disease.* 2015 Dec; nr. 19(12). pp. 1520-1523. ISSN 1027-3719.
120. HATHERELL, H.A., COLIJN, C., STAGG, H.R. et al. Interpreting whole genome sequencing for investigating tuberculosis transmission: a systematic review. In: *BMC Med.* 2016; vol.16, pp. 21. https://doi.org/10.1186/s12916-016-0566-x.
121. MUIR, P., LI, S., LOU, S. et al. The real cost of sequencing: scaling computation to keep pace with data generation. In: *Genome Biol.* 2016; nr. 17(1), pp. 53. DOI: https://doi.org/10.1186/s13059-016-0917-0.
122. LEINONEN, R., SUGAWARA, H., SHUMWAY, M. International Nucleotide Sequence Database Collaboration. The sequence read archive. In: *Nucleic Acids Res.* 2011; vol. 39, pp. 19-21. DOI: 10.1093/nar/gkq1019.
123. SANCHINI, A., JANDRASITS, C., TEMBROCKHAUS, J. et al. Improving tuberculosis surveillance by detecting international transmission using publicly available whole genome sequencing data. In: *Eurosurveillance.* 2021; nr. 26(2), pp.1900677. https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2021.26.2.1900677.
124. OHTA, T., NAKAZATO, T., BONO, H. Calculating the quality of public high-throughput sequencing data to obtain a suitable subset for reanalysis from the Sequence Read Archive. In: *Gigascience.* 2017; nr. 6(6), pp. 1-8. DOI: 10.1093/gigascience/gix029.
125. HEEP, M. et al. Frequency of rpoB mutations inside and outside the cluster I region in rifampin-resistant clinical Mycobacterium tuberculosis isolates. In: *Journal of Clinical Microbiology.* 2001; vol. 39, pp. 107-110. DOI: https://doi.org/10.1128/jcm.39.1.107-110.2001.

126. MCNERNEY, R., CLARK, T.G., CAMPINO, S. et al. Removing the bottleneck in whole genome sequencing of Mycobacterium tuberculosis for rapid drug resistance analysis: a call to action. In: *International journal of infectious diseases.* 2017; vol. 56, pp. 130-135. https://doi.org/10.1016/j.ijid.2016.11.422.
127. THIERRY, D., CAVE., M.D., EISENACH, K.D. et al. IS6110, an IS-like element of Mycobacterium tuberculosis complex. In: *Nucleic Acids Research.* 1990; nr. 18(1), pp. 188. doi: 10.1093/nar/18.1.188. PMID: 2155396.
128. KAMERBEEK, J., SCHOULS, L., KOLK, A. et al. Simultaneous detection and strain differentiation of Mycobacterium tuberculosis for diagnosis and epidemiology. In: *J Clin Microbiol.* 1997; nr. 35(4), pp. 907-914. DOI: https://doi.org/10.1128/jcm.35.4.907-914.1997.
129. SUPPLY, P., MAGDALENA, J., HIMPENS, S., LOCHT, C. Identification of novel intergenic repetitive units in a mycobacterial two-component system operon. In: *Mol Microbiol.* 1997; nr. 26(5), pp. 991-1003. https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.1997.6361999.x.
130. MERKER, M., KOHL, TA, NIEMANN, S., SUPPLY, P. The Evolution of Strain Typing in the Mycobacterium tuberculosis Complex. 2017; pp. 43-78. ISBN : 978-3-319-64369-4.
131. SUPPLY, P., ALLIX, C., LESJEAN, S. et al. Proposal for standardization of optimized mycobacterial interspersed repetitive unit-variable-number tandem repeat typing of Mycobacterium tuberculosis. In: *Journal of clinical microbiology.* 2006; nr. 44(12), pp. 4498-4510. DOI: https://doi.org/10.1128/jcm.01392-06.
132. WALKER, T.M., KOHL, T.A., OMAR, S.V. et al. Whole-genome sequencing for prediction of Mycobacterium tuberculosis drug susceptibility and resistance: a retrospective cohort study. In: *Lancet.* 2015; vol. 15, pp. 1193-1202. DOI:https://doi.org/10.1016/S1473-3099(15)00062-6.
133. GARDY, J.L. et al. Whole-genome sequencing and social-network analysis of a tuberculosis outbreak. In: *N. Engl. J. Med.* 2011; vol. 364, pp. 730-739. DOI: 10.1056/NEJMoa1003176.
134. WALKER, T.M., LALOR, M.K., BRODA, A. et al. Assessment of Mycobacterium tuberculosis transmission in Oxfordshire, UK, 2007–12, with whole pathogen genome sequences: an observational study. In: *Lancet Resp Med.* 2014; vol. 2, pp. 285-292. DOI:https://doi.org/10.1016/S2213-2600(14)70027-X.
135. DEDICOAT, M., COOKE, G.S. Can routine genetic testing help to end TB transmission? In: *Thorax.* 2016; nr. 71(8), pp. 681-682. http://dx.doi.org/10.1136/thoraxjnl-2016-208554.
136. MEEHAN, C.J., GOIG, G.A., KOHL, T.A. et al. Whole genome sequencing of Mycobacterium tuberculosis: current standards and open issues. In: *Nature Reviews Microbiology.* 2019; vol. 17, pp. 533-545. DOI: https://doi.org/10.1038/s41579-019-0214-5.
137. SERAPHIN, M.N., NORMAN, A., RASMUSSEN, E.M. et al. Direct transmission of within-host Mycobacterium tuberculosis diversity to secondary cases can lead to variable between-host heterogeneity without de novo mutation: a genomic investigation. In: *EBioMedicine.* 2019; vol. 47, pp. 293-300. DOI:https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2019.08.010.
138. LIEBERMAN, T.D., WILSON, D., MISRA, R. et al. Genomic diversity in autopsy samples reveals within-host dissemination of HIV-associated Mycobacterium tuberculosis. In: *Nat Med.* 2016; vol. 22, pp. 1470-1474. https://doi.org/10.1038/nm.4205.
139. MERKER, M., KOHL, T.A., ROETZER, A. et al. Whole genome sequencing reveals complex evolution patterns of multidrug-resistant Mycibacterium tuberculosis Beijing

strains in patients. In: *PLoS One.* 2013; vol. 8, pp. e82551. doi.org/10.1371/journal.pone.0082551.

140. HAYDEN, S.R., BROWN, M.D. Likelihood ratio: A powerful tool for incorporating the results of a diagnostic test into clinical decisionmaking. In: *Annals of emergency medicine.* 1999; nr. 33(5), pp. 575-580. https://doi.org/10.1016/S0196-0644(99)70346-X.
141. BROWN, M.D., REEVES, M.J. Evidence-based emergency medicine/skills for evidence-based emergency care. Interval likelihood ratios: another advantage for the evidence-based diagnostician. In: *Annals of emergency medicine.* 2003; nr. 42(2), pp. 292-297. https://doi.org/10.1067/mem.2003.274. PMID: 12883521.
142. GOODMAN, S.N. Toward evidence-based medical statistics. 2: The Bayes factor. In: *Annals of internal medicine.* 1999; nr. 130(12), pp. 1005-1013. https://doi.org/10.7326/0003-4819-130-12-199906150-00019.
143. SEIFERT, M., CATANZARO, D., CATANZARO, A., RODWELL, T.C. Genetic mutations associated with isoniazid resistance in Mycobacterium tuberculosis: a systematic review. In: *PloS one.* 2015; nr. 10(3), pp. e0119628. https://doi.org/10.7326/0003-4819-130-12-199906150-00019.
144. World Health Organization. The use of next-generation sequencing technologies for the detection of mutations associated with drug resistance in Mycobacterium tuberculosis complex: technical guide. In: *World Health Organization.* 2018; nr. 19, pp. 17-30. http://apps.who.int/iris.
145. TELENTI, A., IMBODEN, P., MARCHESI, F. et al. Detection of rifampicin-resistance mutations in Mycobacterium tuberculosis. In: *Lancet.* 1993; nr. 341(8846), pp. 647-650. https://doi.org/10.1016/0140-6736(93)90417-F.
146. RAMASWAMY, S., MUSSER, J.M. Molecular genetic basis of antimicrobial agent resistance in Mycobacterium tuberculosis: 1998 update. In: *Tubercle and lung disease.* 1998; nr. 79(1), pp. 3-29. https://doi.org/10.1054/tuld.1998.0002.
147. BUU, T.N., VAN SOOLINGEN, D., HUYEN, M.N. et al. Tuberculosis acquired outside of households, rural Vietnam. In: *Emerg Infect Dis.* 2010; vol. 16, pp. 1466-1468. doi: 10.3201/eid1609.100281.
148. YATES, T.A., TANSER, F., ABUBAKAR, I. Plan beta for tuberculosis: it's time to think seriously about poorly ventilated congregate settings. In: *Int J Tuberc Lung Dis.* 2016; vol. 20, pp.5-10. DOI: https://doi.org/10.5588/ijtld.15.0494.
149. YATES, T.A., KHAN, P.Y., KNIGHT, G.M. et al. The transmission of Mycobacterium tuberculosis in high burden settings. In: *he Lancet infectious diseases.* 2016; nr. 16(2), pp. 227-238. DOI:https://doi.org/10.1016/S1473-3099(15)00499-5.
150. SUPPLY, P. et al. Variable human minisatellite-like regions in the Mycobacterium tuberculosis genome. In: *Mol Microbiol.* 2000; vol. 36, pp. 762-771. https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.2000.01905.x.
151. KATO-MAEDA, M., METCALFE, J. Z. FLORES, L. Genotyping of Mycobacterium tuberculosis: application in epidemiologic studies. In: *Future Microbiol.* 2011; vol. 6, pp. 203-216. https://doi.org/10.2217/fmb.10.165.
152. ALARIDAH, N., HALLBACK, E.T., TANGROT, J. et al. Transmission dynamics study of tuberculosis isolates with whole genome sequencing in southern Sweden. In: *Scientific Reports.* 2019; nr. 9(1), pp. 493-501. https://doi.org/10.1038/s41598-019-39971-z: p. 4931.
153. STUCKI, D. et al. Standard Genotyping Overestimates Transmission of Mycobacterium tuberculosis among Immigrants in a Low-Incidence Country. In: *J Clin Microbiol.* 2016; vol. 54, pp. 1862-1870. DOI: https://doi.org/10.1128/jcm.00126-16.

154. JAJOU, R. et al. Epidemiological links between tuberculosis cases identifed twice as efciently by whole genome sequencing than conventional molecular typing: A population-based study. In: *PLoS One.* 2018; vol. 13, pp. e0195413. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0195413.
155. NORHEIM, G. et al. Tuberculosis Outbreak in an Educational Institution in Norway. In: *J. Clin. Microbiol.* 2017; vol. 55, pp. 1327-1333. DOI: https://doi.org/10.1128/jcm.01152-16.
156. CASALI, N. et al. Whole Genome Sequence Analysis of a Large Isoniazid-Resistant Tuberculosis Outbreak in London: A Retrospective Observational Study. In: *PLoS Med.* 2016; vol. 13, pp. e1002137. https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1002137.
157. MANSON, A.L., COHEN, K.A., ABEEL, T. et. al. Genomic analysis of globally diverse Mycobacterium tuberculosis strains provides insights into the emergence and spread of multidrug resistance. In: *Nature Genetics.* 2017; nr. 49(3), pp. 395-402. https://doi.org/10.1038/ng.3767.
158. YANG, C., SOBKOWIAK, B., NAIDU, V. et al. Phylogeography and transmission of M.tuberculosis in Moldova: A prospective genomic analysis. In: *PLOS Medicine.* 2022; nr. 19 (2). https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1003933.
159. COX, H.E., KUBICA, T., DOSHETOV, D. et al. The Beijing genotype and drug resistant tuberculosis in the Aral Sea region of Central Asia. In: *Respir Res.* 2005; vol. 6, pp. 134. doi:10.1186/1465-9921-6-134.
160. YOSHIDA, S., SUZUKI, K., TSUYUGUCHI, K. et al. Molecular epidemiology of Mycobacterium tuberculosis - comparison between multidrug-resistant strains and susceptible strains. In: *Kekkaku.* 2007; vol. 82, pp. 531-538. ISSN 1884-2410.
161. TRACEVSKA, T., JANSONE, I, BAUMANIS, V., et al. Prevalence of Beijing genotype in Latvian multidrug-resistant Mycobacterium tuberculosis isolates. In: *Int J Tuberc Lung Dis.* 2003; vol. 7, pp. 1097-1103.
162. KRUUNER, A., HOFFNER, S.E., SILLASTU, H. et al. Spread of drug-resistant pulmonary tuberculosis in Estonia. In: *J Clin Microbiol.* 2001; vol. 39, pp. 3339-3345. DOI: https://doi.org/10.1128/jcm.39.9.3339-3345.2001.
163. PFYFFER, G.E., STRASSLE, A., VAN GORKOM, T. et al. Multidrug-resistant tuberculosis in prison inmates, Azerbaijan. In: *Emerg Infect Dis.* 2001; vol. 7, pp. 855-861. doi: 10.3201/eid0705.017514. PMID: 11747699.
164. NODIEVA, A., JANSONE, I., BROKA, L. et al. Recent nosocomial transmission and genotypes of multidrug-resistant Mycobacterium tuberculosis. In: *Int J Tuberc Lung Dis.* 2010; vol. 14, pp. 427-433..
165. ANH, D.D., BORGDORFF, M., VAN L.N. et al. Mycobacterium tuberculosis Beijing genotype emerging in Vietnam. In: *Emerg Infect Dis.* 2000; vol. 6, pp. 302-305. doi: 10.3201/eid0603.000312.
166. HELDAL, E., DAHLE, U.R., SANDVEN, P. et al. Risk factors for recent transmission of Mycobacterium tuberculosis. In: *Eur Respir J.* 2003; vol. 22, pp. 637-642. DOI: 10.1183/09031936.03.00019103.
167. FRIEDEN, T.R., WOODLEY, C.L., CRAWFORD, J.T. et. al. The molecular epidemiology of tuberculosis in New York City: the importance of nosocomial transmission and laboratory error. In: *Tubercle Lung Dis.* 1995; vol. 76, pp. 407-413. https://doi.org/10.1016/S0962-8479(96)90112-4.
168. SHAFER, R.W., SINGH, S.P., LARKIN, C., SMALL, P.M. Exogenous reinfection with multidrug-resistant Mycobacterium tuberculosis in an immunocompetent patient. In:

Tubercle Lung Dis. 1995; vol. 76, pp. 575-577. https://doi.org/10.1016/S0962-8479(96)90112-4.

169. KENYON, A., RIDZON, R., LUSKIN-HAWK, R. et al. A nosocomial outbreak of multidrug-resistant tuberculosis. In: *Ann Intern Med.* 1997; vol. 12, pp. 32-36. https://doi.org/10.7326/0003-4819-127-1-199707010-00006.
170. FAUSTINI, A., HALL, A.H., PERUCCI, C.A. Risk factors for multidrug resistant tuberculosis in Europe: a systematic review. In: *Thorax.* 2006; vol. 61, pp. 158-163. http://dx.doi.org/10.1136/thx.2005.045963.
171. FARNIA, P., MASJEDI, M.R., MIRSAEDI, M. et al. Prevalence of Haaraarlem I and Beijing genotypes of Mycobacterium tuberculosis strains in Iranian and Afghan MDR-TB patients. In: *J Infect.* 2006; vol. 53, pp. 331-336. https://doi.org/10.1016/j.jinf.2005.12.020.
172. HELDAL, E., DOCKER, H., CAUGANT, D.A., TVERDAL, A. Pulmonary tuberculosis in Norwegian patients. The role of reactivation, reinfection and primary infection assessed by previous mass screening data and restriction fragment length polymorphism analysis. In: *Int J Tuberc Lung Dis.* 2000; vol. 4, pp. 300-307..
173. VAN DEUTECOM, H., HOIJING, S.P., DE HAAS, P.E.W. et al. Clustered tuberculosis cases. Do they represent recent transmission and can they be detected earlier? In: *Am J Respir Crit Care Med.* 2004; vol. 169, pp. 806-810. https://doi.org/10.1164/rccm.200306-856OC.
174. JENKINS, H.E., PLESCA, V., CIOBANU, A. et al. Assessing spatial heterogeneity of multidrug-resistant tuberculosis in a high-burden country. In: *European Respiratory Journal.* 2013; nr. 42(5), pp. 1291-1301. DOI: 10.1183/09031936.00111812.
175. SINKOV, V., OGARKOV, O., MOKROUSOV, I. et al. New epidemic cluster of preextensively drug resistant isolates of Mycobacterium tuberculosis Ural family emerging in Eastern Europe. In: *BMC Genomics.* 2018; nr. 19(1), pp. 762. https://doi.org/10.1186/s12864-018-5162-3.
176. MOKROUSOV, I. Mycobacterium tuberculosis phylogeography in the context of human migration and pathogen's pathobiology: Insights from Beijing and Ural families. In: *Tuberculosis (Edinb).* 2015; vol. 95, pp. 167-176. https://doi.org/10.1016/j.tube.2015.02.031.
177. ABASCAL, E., GENESTET, C., VALERA, A. et al. Assessment of closely related Mycobacterium tuberculosis variants with different transmission success and in vitro infection dynamics. In: *Scientific Reports.* 2021; nr. 11(1), pp. 11041. https://doi.org/10.1038/s41598-021-90568-x.
178. KOHL, T.A., HARMSEN, D., ROTHGANGER, J. et al. Harmonized genome wide typing of tubercle bacilli using a web-based gene-by-gene nomenclature system. In: *EBioMedicine.* 2018; vol. 34, pp. 131-138. DOI:https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2018.07.030.
179. WYLLIE, D.H., DAVIDSON, J.A., GRACE SMITH, E. et al. A quantitative evaluation of MIRU-VNTR Typing against whole-genome sequencing for identifying mycrobacteriun tuberculosis transmision: a prospective observational cohort study. In: *EBioMedicine.* 2018; vol. 34, pp. 122-130. DOI:https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2018.07.019.
180. WALKER, T.M., MERKER, M., KNOBLAUCH, A.M. et al. A cluster of multidrug-resistant Mycobacterium tuberculosis among patients arriving in Europe from the Horn of Africa: a molecular epidemiological study. In: *The Lancet Infectious Diseases.* 2018; nr. 18(4), pp. 431-440. DOI:https://doi.org/10.1016/S1473-3099(18)30004-5.
181. COMAS, I. Genomic Epidemiology of Tuberculosis. In: *Springer.* 2017; pp. 79-93. ISBN 978-3-319-64369-4.

182. KOHL, T.A., DIEL, R., HARMSEN, D. et al. Whole-genome-based Mycobacterium tuberculosis surveillance: a standardized, portable, and expandable approach. In: *J Clin Microbiol.* 2014; nr. 52(7), pp. 2479-2486. DOI: https://doi.org/10.1128/jcm.00567-14.
183. BJORN-MORTENSEN, K., SOBOROG, B., KOCH, A. et al. Tracing Mycobacterium tuberculosis transmission by whole genome sequencing in a high incidence setting: a retrospective population-based study in East Greenland. In: *Scientific reports.* 2016; nr. 6(1), pp.1-8. https://doi.org/10.1038/srep33180.
184. COLE, S.T., BROSCH, R., PARKHILL, J. et al. Deciphering the biology of Mycobacterium tuberculosis from the complete genome sequence. In: *Nature.* 1998; nr. 393(6685), pp. 537-540. https://doi.org/10.1038/24206.
185. BRYANT, J.M. et al. Inferring patient to patient transmission of Mycobacterium tuberculosis from whole genome sequencing data. In: *BMC Infect. Dis.* 2013; vol. 13, pp. 110. https://doi.org/10.1186/1471-2334-13-110.
186. FORD, C.B. et al. Use of whole genome sequencing to estimate the mutation rate of Mycobacterium tuberculosis during latent infection. In: *Nat. Genet.* 2011; vol. 43, pp. 482-486. https://doi.org/10.1038/ng.811.
187. PEREZ-LAGO, L. et al. Whole genome sequencing analysis of intrapatient microevolution in Mycobacterium tuberculosis: potential impact on the inference of tuberculosis transmission. In: *J. Infect. Dis.* 2014; vol. 209, pp. 98-108. https://doi.org/10.1093/infdis/jit439.
188. ELDHOLM, V. et al. Evolution of extensively drug-resistant Mycobacterium tuberculosis from a susceptible ancestor in a single patient. In: *Genome Biol.* 2014; vol. 15, pp. 490. https://doi.org/10.1186/s13059-014-0490-3.
189. BARRERA, E., LIVICHITS, V., NARDELL, E. F-A-S-T: a refocused, intensified, administrative tuberculosis transmission control strategy. In: *Int J Tuberc Lung Dis.* 2015 Apr; nr. 19(4), pp.381-384. ISSN 1027-3719.
190. NOROC, S.E., ROMANCENCO, E., MORARU, N. și al. Re-infecţia exogenă ca factor de risc major asociat cu răspândirea tuberculozei rezistente în spitalele de profil din ţară. In: *Buletinul Academiei de Ştiinţe a Moldovei. Ştiinţe Medicale.* 2012; nr. 36(4), pp. 70. ISSN 1857-0011.
191. World Health Organization. Joint tuberculosis control programme review mission to the Republic of Moldova WHO Regional Office for Europe. In: *Copenhagen, Denmark: WHO.* 2012; 47 p. http://www.who.int/tb/publications/global_report/2009/en/.
192. JENKINS, H.E., CIOBANU, A., PLESCA, V. et al. Risk factors and timing of default from treatment for non-multidrug-resistant tuberculosis in Moldova. In: *The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease.* 2013; nr. 17(3), pp. 373-380. DOI: https://doi.org/10.5588/ijtld.12.0464.
193. JENKINS, H.E., CRUDU, V., SOLTAN, V. et al. High risk and rapid appearance of multidrug resistance during tuberculosis treatment in Moldova. In: *European Respiratory Journal.* 2014; vol. 43, pp. 1132-1141. DOI: 10.1183/09031936.00203613.
194. SCHON, T., MIOTTO, P., KOSER, C.U. et al. Mycobacterium tuberculosis drug-resistance testing: challenges, recent developments and perspectives. In: *Clinical Microbiology and Infection.* 2017; vol. 23, pp. 154-160. https://doi.org/10.1016/j.cmi.2016.10.022.
195. AHUJA, S.D., ASHKIN, D., AVENDANO, M. et al. Multidrug resistant pulmonary tuberculosis treatment regimens and patient outcomes: an individual patient data meta-analysis of 9,153 patients. In: *PLoS medicine.* 2012; nr. 9(8), pp. e1001300. https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1001300.

196. LANIADO-LABORIN, R. Multidrug-resistant tuberculosis: standardized or individualized treatment? The question has already been answered. In: *Expert review of respiratory medicine.* 2010; nr. 4(2), pp. 143-146. https://doi.org/10.1586/ers.10.6.
197. BORISOV, S.E., DHEDA, K., ENWEREM, M. et al. Effectiveness and safety of bedaquiline containing regimens in the treatment of MDR- and XDR-TB: a multicentre study. In: *The European respiratory journal.* 2017; nr. 49(5). DOI: 10.1183/13993003.00387-2017.
198. FORSMAN, L.D., BRUCHFELD, J., ALFFENAAR, J.W.C. Therapeutic drug monitoring to prevent acquired drug resistance of fluoroquinolones in the treatment of tuberculosis. In: *The European respiratory journal.* 2017; nr. 49(4), DOI: 10.1183/13993003.00173-2017.
199. TADOLINI, M., LINGTSANG, R.D., TIBERI, S. et al. First case of extensively drug-resistant tuberculosis treated with both delamanid and bedaquiline. In: *The European respiratory journal.* 2016; nr. 48(3), pp. 935-938. DOI: 10.1183/13993003.00637-2016.
200. PONTALI, E., SOTGIU, G., D'AMBROSIO, L. et al. Bedaquiline and multidrug-resistant tuberculosis: a systematic and critical analysis of the evidence. In: *The European respiratory journal.* 2016; nr. 47(2), pp. 394-402. DOI: 10.1183/13993003.01891-2015.
201. PYM, A.S., DIACON, A.H., TANG, S.J. et al. Bedaquiline in the treatment of multidrug- and extensively drug-resistant tuberculosis. In: *The European respiratory journal.* 2016; nr. 47(2), pp. 564-574. DOI: 10.1183/13993003.00724-2015.
202. MERKER, M., CRUDU, V., NOROC, E. et al. The impact of mixed infections on the interpretation of molecular epidemiology studies of tuberculosis. In: *The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease.* 2016; nr. 20(3), pp. 424. 10.5588/ijtld.15.1024-2.
203. NALIVAICO, N. Managementul activităţii staţionarelor de ftiziopneumologie în cadrul realizării programului naţional de control şi profilaxie al tuberculozei pentru anii 2006-2010 în Republica Moldova. In: *Buletinul Academiei de Ştiinţe a Moldovei. Ştiinţe Medicale.* 2011; nr. 32(4), pp. 31-34. ISSN 1857-0011.
204. Baza de date a unităţii „Monitorizare şi Evaluare a Programelor Naţionale de Sănătate în cadrul Centrului Naţional de Management în Sănătate". 2009 - 2010.
205. *Guidelines for the prevention of tuberculosis in health care facilities in resource-limited settings.* Geneva: 1999.WHO/CDS/TB/99.269.
206. World Health Organization, Centers for Disease Control and Prevention (U.S.). *Tuberculosis infection-control in the era of expanding HIV care and treatment – addendum to WHO guidelines for the prevention of tuberculosis in health care facilities in resource-limited settings.* Geneva: 1999.https://stacks.cdc.gov/view/cdc/6884.
207. GELLING L. Stages in the research process. In: *Nursing Standard.* 2015 Mar; nr. 29(27), pp. 44-9. DOI:10.7748/ns.29.27.44.e8745.
208. *HG nr.107 Privind aprobarea Programului național de răspuns.* 2022.
209. *WHO guidelines on tuberculosis infection prevention and control, 2019 update.* 2019.ISBN 978-92-4-155051-2.
210. NOROC, E., CHESOV, D., MERKER, M., GROSCHEL, M.I. et. al. Limited Nosocomial Transmission of Drug-Resistant Tuberculosis, Moldova. In: *Emerging Infectious Diseases.* 2023 Mai; vol. 29. doi: 10.3201/eid2905.230035.
211. SCHIEBELHUT LM,ASS,GDLEea. A comparison of DNA extraction methods for high-throughput DNA analyses. 2017;(nr. 17(4), pp. 721–729. https://doi.org/10.1111/1755-0998.12620).

212. KOHL, T.A., UTPATEL, C., SCHLEUSENER, V. et al. MTBseq: a comprehensive pipeline for whole genome sequence analysis of Mycobacterium tuberculosis complex isolates. 2018; vol. 6, pp. e5895. https://doi.org/10.7717/peerj.5895.
213. GROBBEL, H.P., MERKER, M., KOHLER, N. et al. Design of Multidrug-Resistant Tuberculosis Treatment Regimens Based on DNA Sequencing. 2021 Oct; nr. 73(7), pp. 1194-1202. https://doi.org/10.1093/cid/ciab359.
214. COLL F,MR,GAJAea. A robust SNP barcode for typing Mycobacterium tuberculosis complex strains. 2014 Sep 1,; vol. 4812. https://doi.org/10.1038/ncomms5812.
215. DOMENTE, L., ALEXANDRU, S., IAVORSCHI, C. și al. Protocol clinic naţional. Tuberculoza la adult. 2012.
216. *WHO consolidated guidelines on tuberculosis. Module 4: treatment - drug-resistant tuberculosis treatment, 2022 update.* 2022.ISBN 978-92-4-006313-9.
217. VALFAR, S.J. Systematic Review of Mutations Associated with Isoniazid Resistance Points to Continuing Evolution and Subsequent Evasion of Molecular Detection, and Potential for Emergence of Multidrug Resistance in Clinical Strains of Mycobacterium tuberculosis. In: *Antimicrobial Agents and Chemotherapy.* 2021 March; nr. 65(3). DOI: https://doi.org/10.1128/aac.02091-20.
218. LI, M. et al. rpoB Mutations and Effects on Rifampin Resistance. In: *Infection and Drug Resistance.* 2021 October; vol. 14, pp. 4119-4128. DOI: 10.2147/IDR.S333433.
219. SATISH, K., LINGARAJA, J. Understanding Rifampicin Resistance in Tuberculosis through a Computational Approach. In: *Genomics & Informatics.* 2014 December; nr. 12(4), pp. 276-282. ISSN 2234-0742.
220. CUEVAS-CORDOBA, B. et al. rrs and rpsL mutations in streptomycin-resistant isolates of Mycobacterium tuberculosis from Mexico. In: *Journal of Microbiology, Immunology and Infection.* 2013 February; nr. 46(1). https://doi.org/10.1016/j.jmii.2012.08.020.
221. BWALYA Pea. Characterization of Mutations Associated with Streptomycin. In: *Antibiotics.* 2021 October; nr. 10(10). https://doi.org/10.3390/antibiotics10101169.
222. TUDO Gea. Characterization of mutations in streptomycin-resistant Mycobacterium tuberculosis clinical isolates in the area of Barcelona. In: *Journal of Antimicrobial Chemotherapy.* 2010 November; nr. 65(11), pp. 2341-2346. https://doi.org/10.1093/jac/dkq322.
223. HLAING YMea. Mutations in Streptomycin Resistance Genes and Their Relationship to Streptomycin Resistance and Lineage of Mycobacterium tuberculosis Thai Isolates. In: *Tuberculosis and Respiratory Diseases.* 2017 March; nr. 80(2), pp. 159-168. DOI: https://doi.org/10.4046/trd.2017.80.2.159.
224. STARKS AMea. Mutations at embB Codon 306 Are an Important Molecular Indicator of Ethambutol Resistance in Mycobacterium tuberculosis. In: *ANTIMICROBIAL AGENTS AND CHEMOTHERAPY.* 2009 March; nr. 53(3), 1061-1066. DOI: https://doi.org/10.1128/aac.01357-08.
225. BROSSIER Fea. Molecular Analysis of the embCAB Locus and embR Gene Involved in Ethambutol Resistance in Clinical Isolates of Mycobacterium tuberculosis in France. In: *Antimicrobial Agents and Chemotherapy.* 2015 August; nr. 59(8). DOI: https://doi.org/10.1128/aac.00150-15.
226. FINCI, I., ALBERTINI, A., MERKER, M., ANDRES, S. et. al. Genotype to phenotype: variable resistance levels in clinical Mycobacterium tuberculosis complex strains caused by resistance mutations. In: *The Lancet Microbe.* 2022; nr. 3(9), pp. 672-682. https://doi.org/10.1016/S2666-5247(22)00116-1.

227. YANG, C., SOBKOWIAK, B., NAIDU, V. et al. Phylogeography and transmission of M. tuberculosis in Moldova: A prospective genomic analysis. 2022 Feb; nr. 19(2), pp. e1003933. https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1003933.
228. BANTUBANI N,KG,CCea. High rates of potentially infectious tuberculosis and multidrug-resistant tuberculosis (MDR-TB) among hospital inpatients in KwaZulu Natal, South Africa indicate risk of nosocomial t. 2014; nr. 9(3), pp. e90868. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0090868.
229. GANDHI NR,WD,MPea. Nosocomial transmission of extensively drug-resistant tuberculosis in a rural hospital in South Africa. 2013 Jan 1; nr. 207(1), pp. 9-17. https://doi.org/10.1093/infdis/jis631.
230. SMITH JP,MC,MPKea. Tuberculosis attributed to transmission within healthcare facilities, Botswana-The Kopanyo Study. 2022 Nov; nr. 43(11), pp. 1603-1609. doi:10.1017/ice.2021.517.
231. FOX GJ,RL,CV,HJ. The Effectiveness of Individual and Environmental Infection Control Measures in Reducing the Transmission of Mycobacterium tuberculosis: A Systematic Review. 2021 Jan 23; nr. 72(1), pp. 15-26. https://doi.org/10.1093/cid/ciaa719.
232. World Health Organization. *WHO policy on TB infection control in health-care facilities, congregate settings and households.* Geneva, Switzerland: 2009.ISBN 978 92 4 159832 3.
233. CONRADIE F,BTR,BSea. Bedaquiline-Pretomanid-Linezolid Regimens for Drug-Resistant Tuberculosis. 2022 Sep 1; nr. 387(9), pp. 810-823.
234. NYANG'WAT B.T. BC,KEea. A 24-Week, All-Oral Regimen for Rifampin-Resistant Tuberculosis. 2022 Dec 22; nr. 387(25), pp. 2331-2343.
235. World Health Organization. *Consolidated guidelines on tuberculosis. Module 4: treatment - drug-resistant tuberculosis treatment.* Geneva, Switzerland: 2022.
236. CHESOV, E., CHESOV, D., MAURER, F.P. et al. Emergence of bedaquiline resistance in a high tuberculosis burden country. 2022 Mar; nr. 59(3).
237. JOUET, A., GAUDIN, C., BADALATO, N.A. et al. Deep amplicon sequencing for culture-free prediction of susceptibility or resistance to 13 anti-tuberculous drugs. 2021 Mar; nr. 57(3).
238. KOHL, T.A., DIEL, R., HARMSEN, D.R. et al. Whole-genome-based Mycobacterium tuberculosis surveillance: a standardized, portable, and expandable approach. 2014 Jul; nr. 52(7), pp. 2479-2486.
239. MERKER, M., RASIGADE, J.P., BARBIER, M. et al. Transcontinental spread and evolution of Mycobacterium tuberculosis W148 European/Russian clade toward extensively drug resistant tuberculosis. 2022 Aug; nr. 13(1), pp. 5105.
240. *Ghidul de supraveghere şi control în infecţiile nosocomiale, Ediția I.* Chișinău; 2008.
241. *Ghid de supraveghere şi control în infecţiile nosocomiale, Ediţia II.* Chișinău; 2009.

ANEXE

Anexa 1. Factori asociați mutației *rpsL K88R* la Streptomicină

Denumire factori	Prezența mutației *rpsL K88R*		OR [IÎ95%]	Valoarea p
	Da n (%)	Nu n (%)		
Total	**146**	**122**		
Sex				0.148*
Bărbați	117 (80.1)	88 (72.1)	1.56 [0.88-2.75]	
Femei	29 (19.9)	34 (27.9)		
Mediu de reședință				0.832
Urban	39 (26.7)	34 (27.9)	0.94 [0.55-1.62]	
Rural	107 (73.3)	88 (72.1)		
Vârsta				0.166
≤ 44 ani	106 (72.6)	79 (64.8)	1.44 [0.86-2.43]	
> 45 ani	40 (27.4)	43 (35.2)		
Migrant*				0.179*
Da	26 (17.8)	30 (24.6)	0.66 [0.37-1.20]	
Nu	120 (82.2)	92 (75.4)		
Localizare				0.460*
Pulmonară	141 (96.6)	120 (98.4)	0.47 [0.90-2.47]	
Extrapulmonară	5 (3.4)	2 (1.6)		
Tipul cazului				**0.034**
Caz nou	70 (47.9)	73 (59.8)	1.63 [1.1-2.63]	
Retratament	76 (52.1)	49 (40.2)		
Statutul HIV				
Pozitiv	5 (3.4)	12 (9.8)	0.32 [0.11-0.95]	0.058*
Negativ/necunoscut	141 (96.6)	110 (90.2)		

* Fisher exact test; ref – valoarea de referință; IÎ – interval de încredere; OR - odds ratio

Anexa 2. Factori asociați mutației *rpsL K43R* la Streptomicină

Denumire factori	Prezența mutației *rpsL K43R*		OR [IÎ95%]	Valoarea p
	Da n (%)	Nu n (%)		
Total	**91**	**177**		
Sex				1.226*
Bărbați	64 (70.3)	141 (79.7)	0.60 [0.34-1.08]	
Femei	27 (29.7)	36 (20.3)	ref	
Mediu de reședință				0.212*
Urban	20 (22.0)	53 (29.9)	0.66 [0.36-1.19]	
Rural	71 (78.0)	124 (70.1)	ref	
Vârsta				0.287
≤ 44 ani	59 (64.8)	126 (71.2)	0.75 [0.43-1.28]	
> 45 ani	32 (35.2)	51 (28.8)	ref	
Migrant*				0.269*
Da	23 (25.3)	33 (18.6)	1.48 [0.81-2.70]	
Nu	68 (74.7)	144 (81.4)	ref	
Localizare				0.497*
Pulmonară	90 (98.9)	171 (96.6)	3.15 [0.37-26.6]	
Extrapulmonară	1 (1.1)	6 (3.4)	ref	
Tipul cazului				0.288
Caz nou	53 (58.2)	91 (51.4)	1.32 [0.79-2.20]	
Retratament	38 (31.8)	86 (48.6)	ref	
Statutul HIV				
Pozitiv	8 (8.8)	9 (5.1)	1.80 [0.67-4.83]	0.179*
Negativ/necunoscut	83 (91.2)	168 (94.9)	ref	

* Fisher exact test; ref – valoarea de referință; IÎ – interval de încredere; OR - odds ratio

Anexa 3. Factori asociați mutației genetice (21 gene) la Etambutol

Denumire factori	Prezența mutației (21 gene)		OR [IÎ95%]	Valoare p
	Da n (%)	Nu n (%)		
Total	**165**	**103**		
Sex				0.720
Bărbați	125 (75.8)	80 (77.7)	0.90 [0.50-1.61]	
Femei	40 (24.2)	23 (22.3)	ref	
Mediu de reședință				0.253
Urban	49 (29.7)	24 (23.3)	1.39 [0.69-2.45]	
Rural	116 (70.3)	79 (76.7)	ref	
Vârsta				**0.041**
≤ 44 ani	107 (64.8)	79 (75.7)	ref	
> 45 ani	58 (35.2)	24 (24.3)	1.78 [1.19-3.11]	
Migrant				0.277
Da	38 (23.0)	18 (17.5)	1.41 [0.76-2.64]	
Nu	127 (77.0)	85 (82.5)	ref	
Localizare				0.587
Pulmonară	160 (97.0)	101 (98.1)	0.63 [0.12-3.33]	
Extrapulmonară	5 (3.0)	2 (1.9)	ref	
Tipul cazului				0.676
Caz nou	87 (52.7)	57 (55.3)	0.90 [0.55-1.48]	
Retratament	78 (47.3)	46 (44.7)	ref	
Statutul HIV				
Pozitiv	12 (7.3)	5 (4.9)	1.54 [0.53-2.50]	0.302*
Negativ/necunoscut	153 (92.7)	98 (95.1)	ref	

* Fisher exact test; ref – valoarea de referință; IÎ – interval de încredere; OR - odds ratio

Anexa 4. Factori asociați mutaților genetice (83 gene) la Pirazinamidă

Denumire factori	Prezența mutației (83 gene)		OR [IÎ95%]	Valoare p
	Da n (%)	Nu n (%)		
Total	**132**	**136**		
Sex				0.780
Bărbați	100 (75.8)	105 (77.2)	0.92 [0.52-1.62]	
Femei	32 (24.2)	31 (22.8)	ref	
Mediu de reședință				0.417
Urban	33 (25.0)	40 (29.4)	0.80 [0.47-1.37]	
Rural	99 (75.0)	96 (70.6)	ref	
Vârsta				0.767
≤ 44 ani	90 (68.2)	95 (69.9)	0.92 [0.55-1.55]	
> 45 ani	42 (31.8)	41 (30.1)	ref	
Migrant				**0.036***
Da	33 (25.0)	20 (14.7)	1.93 [1.12-3.58]	
Nu	99 (75.0)	116 (85.3)	ref	
Localizare				0.967*
Pulmonară	128 (97.0)	133 (97.8)	0.72 [0.10-4.36]	
Extrapulmonară	4 (3.0)	3 (2.2)	ref	
Tipul cazului				0.052
Caz nou	63 (47.7)	81 (59.6)	ref	
Retratament	69 (52.3)	55 (40.4)	1.61 [1.0-2.62]	
Statutul HIV				
Pozitiv	9 (6.8)	8 (5.9)	1.17 [0.44-3.13]	0.474*
Negativ/necunoscut	123 (93.2)	128 (94.1)	ref	

*Fisher exact test; ref – valoarea de referință; IÎ – interval de încredere; OR - odds ratio

Anexa 5. Factori asociați mutaților genetice (17 gene) la Moxifloxacină

Denumire factori	Prezența mutaților genetice (17 gene)		OR [IÎ95%]	Valoare p
	Da n (%)	Nu n (%)		
Total	**68**	**200**		
Sex				0.511*
Bărbați	50 (73.5)	155 (77.5)	0.81 [4.23-1.52]	
Femei	18 (26.5)	45 (22.5)	ref	
Mediu de reședință				0.876*
Urban	19 (27.9)	54 (27.0)	0.80 [0.47-1.37]	
Rural	49 (72.1)	146 (73.0)	ref	
Vârsta				0.879*
≤ 44 ani	48 (70.6)	137 (68.5)	1.10 [0.60-2.01]	
> 45 ani	20 (29.4)	63 (31.5)	ref	
Migrant				
Da	14 (20.6)	42 (21.0)	0.97 [0.49-1.92]	1.000
Nu	54 (79.4)	158 (79.0)		
Localizare				
Pulmonară	66 (97.1)	195 (97.5)	0.85 [0.16-4.46]	1.000*
Extrapulmonară	2 (2.9)	5 (2.5)		
Tipul cazului				
Caz nou	29 (42.6)	115 (57.5)	ref	
Retratament	39 (57.4)	85 (42.5)	1.82 [1.05-3.31]	**0.040**
Statutul HIV				
Pozitiv	3 (4.4)	14 (7.0)	0.61 [0.17-2.20]	0.333
Negativ/necunoscut	65 (95.6)	186 (93.0)	ref	

*Fisher exact test; ref – valoarea de referință; IÎ – interval de încredere; OR - odds ratio

Anexa 6. Factori asociați mutațiilor genetice (21 gene) la Levofloxacină

Denumire factori	Prezența mutaților (21 gene)		OR [IÎ95%]	Valoare p
	Da n (%)	Nu n (%)		
Total	**71**	**197**		
Sex				0.744*
Bărbați	53 (74.6)	152 (77.2)	0.87 [0.46-1.64]	
Femei	18 (25.4)	45 (22.8)	ref	
Mediu de reședință				0.877*
Urban	20 (28.2)	53 (26.9)	1.06 [0.58-1.95]	
Rural	51 (71.8)	144 (73.1)	ref	
Vârsta				0.654*
≤ 44 ani	51 (71.8)	134 (68.0)	1.20 [0.66-2.18]	
> 45 ani	20 (28.2)	63 (32.0)	ref	
Migrant				1.000*
Da	15 (21.1)	41 (20.8)	1.02 [0.52-1.98]	
Nu	56 (78.9)	156 (79.2)	ref	
Localizare				1.000*
Pulmonară	69 (97.2)	192 (97.5)	0.89 [0.70-4.74]	
Extrapulmonară	2 (2.8)	5 (2.5)	ref	
Tipul cazului				**0.027**
Caz nou	30 (42.3)	114 (57.9)	ref	
Retratament	41 (57.7)	83 (42.1)	1.88 [1.20-3.25]	
Statutul HIV				
Pozitiv	3 (4.2)	14 (7.1)	1.88 [1.20-3.25]	0.295*
Negativ/necunoscut	68 (95.8)	183 (92.9)	ref	

*Fisher exact test; ref – valoarea de referință; IÎ – interval de încredere; OR - odds ratio

Anexa 7. Factori asociați mutațiilor genetice (11 gene) la Kanamicină

Denumire factori	Prezența mutației (11 gene)		OR [IÎ95%]	Valoare p
	Da n (%)	Nu n (%)		
Total	**181**	**87**		
Sex				0.445*
Bărbați	141 (77.9)	64 (73.9)	1.27 [0.70-2.29]	
Femei	40 (22.1)	23 (26.4)	ref	
Mediu de reședință				0.308
Urban	53 (29.3)	20 (23.0)	1.39 [0.77-2.51]	
Rural	128 (70.7)	67 (77.0)	ref	
Vârsta				0.252
≤ 44 ani	129 (71.3)	56 (64.4)	1.37 [0.80-2.37]	
> 45 ani	52 (28.7)	31 (35.6)	ref	
Migrant				1.000
Da	38 (21.0)	18 (20.7)	1.02 [0.54-1.91]	
Nu	143 (79.0)	69 (79.3)	ref	
Localizare				0.434
Pulmonară	175 (96.7)	86 (98.9)	0.34 [0.40-2.86]	
Extrapulmonară	6 (3.3)	1 (1.1)	ref	
Tipul cazului				0.266
Caz nou	93 (51.4)	51 (58.6)	0.75 [0.44-1.25]	
Retratament	88 (48.6)	36 (41.4)	ref	
Statutul HIV				
Pozitiv	8 (4.4)	9 (10.3)	0.40 [0.15-1.08]	0.059*
Negativ/necunoscut	173 (95.6)	78 (89.7)	ref	

*Fisher exact test; ref – valoarea de referință; IÎ – interval de încredere; OR - odds ratio

Anexa 8. Factori asociați mutaților (4 gene) la Amikacină

Denumire factori	Prezența mutației (4 gene)		OR [IÎ95%]	Valoare p
	Da n (%)	Nu n (%)		
Total	**35**	**233**		
Sex				0.885*
Bărbați	26 (74.3)	179 (76.8)	0.87 [0.38-1.97]	
Femei	9 (25.7)	54 (23.2)	ref	
Mediu de reședință				0.230*
Urban	13 (37.1)	60 (25.8)	1.70 [0.74-3.79]	
Rural	22 (62.9)	173 (74.2)	ref	
Vârsta				0.156*
≤ 44 ani	20 (57.1)	165 (70.8)	0.55 [0.27-1.23]	
> 45 ani	15 (42.9)	68 (29.2)	ref	
Migrant				0.999*
Da	7 (20.0)	49 (21.0)	0.94 [0.39-2.27]	
Nu	28 (80.0)	184 (79.0)	ref	
Localizare				
Pulmonară	34 (97.1)	227 (97.4)	0.90 [0.10-42.5]	0.999*
Extrapulmonară	1 (2.9)	6 (2.6)	ref	
Tipul cazului				
Caz nou	19 (54.3)	125 (53.6)	1.03 [0.50-2.09]	0.999*
Retratament	16 (45.7)	108 (46.4)	ref	
Statutul HIV				
Pozitiv	5 (14.3)	12 (5.2)	3.07 [1.01-9.32]	**0.039***
Negativ/necunoscut	30 (85.7)	221 (94.8)	ref	

*Fisher exact test; ref – valoarea de referință; IÎ – interval de încredere; OR - odds ratio

Anexa 9. Factori asociați mutaților (7 gene) la Capreomicină

Denumire factori	Prezența mutației (7 gene)		OR [IÎ95%]	Valoare p
	Da n (%)	Nu n (%)		
Total	**37**	**177**		
Sex				1.000*
Bărbați	28 (75.7)	177 (76.6)	0.94 [0.40-2.43]	
Femei	9 (24.3)	54 (23.4)	ref	
Mediu de reședință				0.334*
Urban	13 (35.1)	60 (26.0)	1.54 [0.74-3.22]	
Rural	24 (64.9)	171 (74.0)	ref	
Vârsta				0.246*
≤ 44 ani	22 (59.2)	163 (70.6)	0.61 [0.29-1.25]	
> 45 ani	15 (40.5)	68 (29.4)	ref	
Migrant				0.718*
Da	9 (24.3)	47 (30.3)	1.26 [0.56-2.85]	
Nu	28 (75.7)	184 (79.7)	ref	
Localizare				
Pulmonară	35 (94.6)	226 (97.8)	0.39 [0.07-4.23]	0.498*
Extrapulmonară	2 (5.4)	5 (2.2)	ref	
Tipul cazului				
Caz nou	19 (51.4)	125 (54.1)	0.89 [0.42-1.91]	0.890*
Retratament	18 (48.6)	106 (45.9)	ref	
Statutul HIV				
Pozitiv	6 (16.2)	11 (4.8)	3.87 [1.34-11.2]	**0.018***
Negativ/necunoscut	31 (83.8)	220 (95.2)	ref	

*Fisher exact test; ref – valoarea de referință; IÎ – interval de încredere; OR - odds ratio

Anexa 10. Factori asociați mutaților în combinația genetică *fabG1 -15c>t&ethA H281P* pentru Etionamidă/Protionamidă

Denumire factori	Prezența mutației *fabG1 -15c>t&ethA H281P*		OR [IÎ95%]	Valoare p
	Da n (%)	Nu n (%)		
Total	**130**	**138**		
Sex				0.198*
Bărbați	104 (80.0)	101 (73.2)	1.47 [0.83-2.59]	
Femei	26 (20.0)	37 (26.8)	ref	
Mediu de reședință				0.682*
Urban	37 (28.5)	36 (26.1)	1.13 [0.66-1.93]	
Rural	93 (71.5)	102 (73.9)	ref	
Vârsta				**0.028**
≤ 44 ani	99 (76.1)	88 (63.8)	1.82 [1.1-3.09]	
> 45 ani	31 (23.9)	50 (36.2)	ref	
Migrant				0.134*
Da	22 (16.9)	34 (24.6)	0.62 [0.34-1.13]	
Nu	108 (83.1)	104 (75.4)	ref	
Localizare				
Pulmonară	126 (96.9)	135 (97.8)	0.70 [0.15-3.19]	0.716*
Extrapulmonară	4 (3.1)	3 (2.2)	ref	
Tipul cazului				
Caz nou	66 (50.8)	78 (56.5)	0.79 [0.49-1.28]	0.345
Retratament	64 (49.2)	60 (43.5)	ref	
Statutul HIV				
Pozitiv	3 (2.3)	14 (10.1)	0.21 [0.06-0.75]	**0.011***
Negativ/necunoscut	127 (97.7)	124 (89.9)	ref	

*Fisher exact test; ref – valoarea de referință; IÎ – interval de încredere; OR - odds ratio

Anexa 11. Factori asociați mutațiilor genetice (20 gene) la Etionamidă/Protionamidă

Denumire factori	Prezența mutațiilor (20 gene)		OR [IÎ95%]	Valoare p
	Da n (%)	Nu n (%)		
Total	**104**	**164**		
Sex				0.106*
Bărbați	74 (71.2)	131 (79.9)	0.62 [0.35-1.10]	
Femei	30 (28.8)	33 (20.1)	ref	
Mediu de reședință				0.574*
Urban	26 (25.0)	47 (28.7)	0.83 [0.48-1.45]	
Rural	78 (75.0)	117 (71.3)	ref	
Vârsta				0.589
≤ 44 ani	74 (71.2)	111 (67.7)	1.18 [0.69-2.01]	
> 45 ani	30 (28.8)	53 (32.3)	ref	
Migrant				**0.014***
Da	30 (28.8)	26 (15.9)	2.15 [1.18-3.91]	
Nu	74 (71.2)	138 (84.1)	ref	
Localizare				
Pulmonară	101 (97.1)	160 (97.6)	0.84 [0.19-3.84]	1.000*
Extrapulmonară	3 (2.9)	4 (2.4)	ref	
Tipul cazului				
Caz nou	60 (57.7)	84 (51.2)	1.30 [0.79-2.13]	0.300
Retratament	44 (42.3)	80 (48.8)	ref	
Statutul HIV				
Pozitiv	13 (12.5)	4 (2.4)	5.71 [1.81-18.0]	**0.001***
Negativ/necunoscut	91 (87.5)	160 (97.6)	ref	

*Fisher exact test; ref – valoarea de referință; IÎ – interval de încredere; OR - odds ratio

Anexa 12. Factori asociați mutațiilor genetice (16 gene) la Cicloserină

Denumire factori	Prezența mutației genetice (16 gene)		OR [IÎ95%]	Valoare p
	Da n (%)	Nu n (%)		
Total	**16**	**191**		
Sex				0.374*
Bărbați	14 (87.5)	191 (75.8)	2.24 [0.49-10.1]	
Femei	2 (12.5)	61 (24.2)	ref	
Mediu de reședință				0.773*
Urban	5 (31.2)	68 (27.0)	1.23 [0.41-3.67]	
Rural	11 (68.8)	184 (73.0)	ref	
Vârsta				0.405*
≤ 44 ani	13 (81.2)	172 (68.2)	2.02 [0.56-7.27]	
> 45 ani	3 (18.8)	80 (31.7)	ref	
Migrant				0.339*
Da	5 (31.2)	51 (20.2)	1.79 [0.60-5.39]	
Nu	11 (68.8)	201 (79.8)	ref	
Localizare				**0.016***
Pulmonară	13 (81.2)	247 (98.0)	ref	
Extrapulmonară	3 (18.8)	5 (2.0)	11.4 [1.56-52.0]	
Tipul cazului				**0.007***
Caz nou	3 (18.8)	141 (56.0)	ref	
Retratament	13 (81.2)	111 (44.0)	5.5 [1.46-30.7]	
Statutul HIV				
Pozitiv	1 (6.2)	16 (6.3)	0.98 [0.12-7.92]	1.000*
Negativ/necunoscut	15 (93.8)	236 (93.7)	ref	

*Fisher exact test; ref – valoarea de referință; IÎ – interval de încredere; OR - odds ratio.

Anexa 13. Factori asociați mutației genetice *thyA R222G* la Acidul para-aminosalicilic

Denumire factori	Prezența mutației *thyA R222G*		OR [IÎ95%]	Valoare p
	Da n (%)	Nu n (%)		
Total	**37**	**231**		
Sex				**0.036***
Bărbați	23 (62.2)	182 (78.8)	ref	
Femei	14 (37.8)	49 (21.2)	2.26 [1.08-4.72]	
Mediu de reședință				0.695*
Urban	11 (29.7)	62 (26.8)	1.15 [0.54-2.47]	
Rural	26 (70.3)	169 (73.2)	ref	
Vârsta				0.849*
≤ 44 ani	25 (67.6)	160 (69.3)	0.92 [0.44-1.94]	
> 45 ani	12 (32.4)	71 (30.7)	ref	
Migrant				0.831*
Da	7 (18.9)	49 (21.2)	0.87 [0.36-2.09]	
Nu	30 (81.1)	182 (78.8)	ref	
Localizare				1.000*
Pulmonară	36 (97.3)	225 (97.4)	0.96 [0.11-8.20]	
Extrapulmonară	1 (2.7)	6 (2.6)	ref	
Tipul cazului				**0.043***
Caz nou	26 (70.3)	118 (51.1)	2.3 [1.1-5.31]	
Retratament	11 (29.7)	113 (48.9)	ref	
Statutul HIV				
Pozitiv	5 (13.5)	12 (5.2)	2.85 [0.94-8.63]	0.135*
Negativ/necunoscut	32 (86.5)	219 (94.8)	ref	

*Fisher exact test; ref – valoarea de referință; IÎ – interval de încredere; OR - odds ratio.

Anexa 14. Factori asociați mutațiilor genetice (5 gene) la Acidul para-aminosalicilic

Denumire factori	Prezența mutațiilor (5 gene)		OR [IÎ95%]	Valoare p
	Da n (%)	Nu n (%)		
Total	**24**	**244**		
Sex				**0.021***
Bărbați	23 (95.8)	182 (74.6)	7.83 [1.21-59.2]	
Femei	1 (4.2)	62 (25.4)	ref	
Mediu de reședință				0.632*
Urban	5 (20.8)	68 (27.9)	0.68 [0.25-1.90]	
Rural	19 (79.2)	176 (72.1)	ref	
Vârsta				0.252*
≤ 44 ani	14 (58.3)	171 (70.1)	0.60 [0.25-1.41]	
> 45 ani	10 (41.7)	73 (29.9)	ref	
Migrant				0.602*
Da	6 (25.0)	50 (20.5)	1.29 [0.49-3.43]	
Nu	18 (75.0)	194 (79.5)	ref	
Localizare				0.486*
Pulmonară	23 (95.8)	238 (97.5)	0.58 [0.67-5.03]	
Extrapulmonară	1 (4.2)	6 (2.5)	ref	
Tipul cazului				0.284*
Caz nou	10 (41.7)	134 (54.9)	0.59 [0.25-1.37]	
Retratament	14 (58.3)	110 (45.1)	ref	
Statutul HIV				
Pozitiv	1 (4.2)	16 (6.6)	0.62 [0.79-4.89]	1.000*
Negativ/necunoscut	23 (95.8)	228 (93.4)	ref	

*Fisher exact test; ref – valoarea de referință; IÎ – interval de încredere; OR - odds ratio.

Anexa 15

Certificat de inovator nr. 6011 din 27 martie 2023

"Izolarea ADN-ului genomic micobacterian prin tehnica CTAB pentru utilizarea în metoda de secvențiere integrală a genomului"

Zoom out

Republica Moldova
Ministerul Sănătăţii

CERTIFICAT DE INOVATOR

Nr. 6011

Pentru inovaţia cu titlul

IZOLAREA ADN-ULUI GENOMIC MICOBACTERIAN PRIN TEHNICA CTAB PENTRU UTILIZAREA ÎN METODA DE SECVENȚIERE INTEGRALĂ A GENOMULUI

Inovaţia a fost înregistrată pe data de
la Universitatea de Stat de Medicină şi Farmacie
"Nicolae Testemiţanu"

Se recunoaşte calitatea de autor(i)

NOROC Ecaterina, RUSU Doina,

CRUDU Valeriu, CIOBANU Nelly

Data eliberării 27 martie 2023

L.S.

(Semnătura autorizată)

Anexa 16

Act de implementare a inovației nr. 41 din 05 mai 2023

„Izolarea ADN-ului genomic micobacterian prin tehnica CTAB pentru utilizarea în metoda de secvențiere integrală a genomului”

INSTITUȚIA PUBLICĂ
UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
„NICOLAE TESTEMIȚANU" DIN REPUBLICA MOLDOVA

Pag. 8 / 8

APROB
Prorector pentru activitate de cercetare,
USMF „Nicolae Testemițanu" din RM
academician al AȘM,
prof. univ., dr. hab., șt. med.
_____ Sfarislav GROPPA
„05" mai _____2023

ACTUL nr. 41
DE IMPLEMENTARE A INOVAȚIEI
(în procesul științifico – practic)

1. **Denumirea ofertei pentru implementare**: Izolarea ADN-ului genomic micobacterian prin tehnica CTAB pentru utilizarea în metoda de secvențiere integrală a genomului.

2. **Autori:** Noroc Ecaterina, Rusu Doina, Crudu Valeriu, Clobanu Nelly.

3. **Numărul inovației:** ***Nr.6011 din 27 Martie 2023.***

4. **Unde și când a fost implementată:** în cadrul IMSP Institutul de Ftiziopneumologie „Chiril Draganiuc", Laboratorul Național de Referință, începând cu anul 2015 până în prezent.

5. **Eficacitatea implementării:** a fost posibilă identificarea genotipurilor tulpinilor de TB circulate pe teritoriu Republicii Moldova, a fost posibilă detectarea prezenței mutațiilor ce conferă rezistență la preparatele antituberculoase, și participarea în diferite proiecte de inovație și cercetare.

6. **Rezultatul implementării**: duce la îmbunătățiri semnificative ale diagnosticului, tratamentului și rezultatelor sănătății publice, făcându-l un instrument valoros în lupta împotriva TB prin îmbunătățirea diagnosticului de tuberculoză, inițierea unui tratament personalizat, detectarea precoce a rezistenței la medicamente, beneficii pentru sănătatea publică și economii de costuri.

Prezenta inovație este implementată conform descrierii în cerere.

Șef departament, Departamentul Cercetare, dr. hab. șt. med., conf. univ. _____ Raevschi Elena

Șef Laborator Național de Referință, Microbiologie și Morfologia Tuberculozei dr. șt. med., conf. univ. _____ Crudu Valeriu

Director, IMSP IFP „Chiril Draganiuc" dr. șt. med., conf. univ. _____ Rusu Doina

Coordonat:
_____ E. Grnza

8

Anexa 17

LISTA LUCRĂRI ŞTIINŢIFICE

1. Articole în reviste științifice

1.1. în revistele din bazele de date Web of Science și SCOPUS

1.1.1. CRUDU, V. et al. Nosocomial transmission of multidrug-resistant tuberculosis. In: *International Journal of Tuberculosis and Lung Disease*. 2015, no.19(12), pp.1520-1523. **IF 2,148**.

1.1.2. COLMAN, R. E. et al. Detection of Low-Level Mixed-Population Drug Resistance. *Mycobacterium tuberculosis* Using High Fidelity Amplicon Sequencing. In: *PLOS ONE.* 2015, no.10(5), pp. 1-18. **IF 3.234**.

1.1.3. MANSON, A.L. et al. Genomic analysis of globally diverse *Mycobacterium tuberculosis* strains provides insights into the emergence and spread of multidrug resistance. In: *Nature Genetics*. 2017, vol. 49(3), pp. 395-402. PMCID: PMC5402762 **IF 27,125**.

1.1.4. BROWN, T. S. et al. Evolution and emergence of multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* in Chisinau, Moldova. In: *Microbial Genomics*. 2021, no. 8(7), pp. 1-9. ISSN 2057-5858. **IF 4,70**.

1.1.5. FINCI, I. et al. Genotype to phenotype: variable resistance levels in clinical *Mycobacterium tuberculosis complex* strains caused by resistance mutations. In: *The Lancet Microbe*. 2022, vol. 3, issue 9, e672-e682. **IF 38,2**.

1.1.6. **NOROC, E.** et al. Limited nosocomial transmission of drug-resistant-tuberculosis, R. Moldova. In: *Emerging Infectious Diseases*. 2023, vol. 29, no. 5, pp.1046-1050. ISSN: 1080-6059. **IF 16,126**.

1.2. în reviste din Registrul Național al revistelor de profil, cu indicarea categoriei:

- ***categoria B***

1.2.1 CRUDU, V. ș.a. Versiunea nouă a metodei molecular-genetice pentru detecţia tuberculozei, precum şi a rezistenţei la rifampicină şi izoniazidă (Line probe assay genotype MTBDRplus VER2.0). În: *Buletinul Academiei de Ştiinţe a Moldovei. Ştiinţe Medicale*. Chișinău, 2012, nr. 4(36), pp. 40-44. ISSN 1857-0011.

1.2.2 CIOBANU, N. ș.a. Nivelul de rezistență fenotipică și paternul de mutații genice a *M. tuberculosis*. În: *Buletinul Academiei de Ştiinţe a Moldovei. Ştiinţe Medicale*. Chișinău, 2021, nr. 1(69), pp. 38-44. ISSN 1857-0011.

2. Teze în culegeri științifice

2.1. în lucrările conferinţelor științifice internaționale (peste hotare)

2.1.1 CRUDU, V. et al. Transmission of *mycobacterium tuberculosis* Ural 163-15 lineage causing multidrug-resistant tuberculosis among hospitalized patients. In:

European Respiratory Journal. 2022, vol. 46 (suppl 59), p. 2739. Print ISSN 0903-1936. Online ISSN 1399-3003. **IF 7.636**.

2.1.2 CIOBANU, N. et al. The TB eXiSt assay for improvement the accuracy of diagnosis of TB resistance cases. The 47th Union World Conference on Lung Health of the International Union Against Tuberculosis and Lung Disease (The Union). In: *The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease.* Liverpool, United Kingdom, 2016, vol. 20(11 suppl 1), p. 487. ISSN 1027-3719. **IF 2.468**.

2.1.3 MERKER, M. et al. The impact of mixed infections on the interpretation of molecular epidemiology studies of tuberculosis. In: *The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease*. 2016, vol. 20(suppl 3), p. 424. **IF 2.468**.

2.1.4 CIOBANU, N. et al. The correlation of genotypic resistance with phenotypic level of drug resistance for guiding treatment decisions. The 48th Union World Conference on Lung Health of the International Union Against Tuberculosis and Lung Disease (The Union), In: *The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease.* Guadalajara, Mexico, 2017, vol. 21(11 suppl 2), p. 385. ISSN 1027-3719. **IF 2.392**.

2.1.5 CRUDU, V. et al. Discrepancy across phenotypic and genotypic results of drug susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis*. In: *European Respiratory Journal*. 2018, vol. 52 (suppl 62), p.3675. Print ISSN 0903-1936. Online ISSN 1399-3003. **IF 12.244**.

2.1.6 **NOROC, E.** et al. Uncertainty of hospital or community MDR-TB reinfection in patients on TB treatment in high MDR-TB burden setting. In: *The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease.* 2022, vol. 26 (suppl 2), p.147. ISSN 997-1098. **IF 4.0**.

2.1.7 CRUDU, V. et al. Diagnostic accuracy of molecular assays for drug susceptibility testing of *M. tuberculosis* using raw sputum and isolates strains. In: *European Respiratory Journal*. 2022, vol. 60(66), p. 2618. Print ISSN 0903-1936. Online ISSN 1399-3003. **IF 24,3**.

3. Brevete de invenție și alte obiecte de proprietate intelectuală (OPI)

3.1. **NOROC, E.** ș.a. *Izolarea ADN-ului genomic micobacterian prin tehnica CTAB pentru utilizarea în metoda de secvențiere integrală a genomului*. Certificat de inovator, Nr. 6011 din 27.03.2023.

3.2. **NOROC, E.** ș.a. *Izolarea ADN-ului genomic micobacterian prin tehnica CTAB pentru utilizarea în metoda de secvențiere integrală a genomului*. Act de implementare, Nr. 41 din 05.05.2023.

DECLARAŢIA PRIVIND ASUMAREA RĂSPUNDERII

Subsemnata, Noroc Ecaterina, declar pe răspundere personală că materialele prezentate în teza de doctorat sunt rezultatul propriilor cercetări şi realizări științifice. Conştientizez că, în caz contrar, urmează să suport consecinţele în conformitate cu legislaţia în vigoare.

Noroc Ecaterina

Semnătura

Data

CURRICULUM VITAE

Nume şi prenume	Noroc Ecaterina
Cetăţenie	Republica Moldova, România
Studii	2013 - 2024 – Studii de doctorat, IP USMF „N. Testemițanu” și Centrul de Cercetări Borstel, Germania. 2010 – 2011 – Studii prin rezidențiat în Microbiologie, IP Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „N. Testemițanu”. 2004 – 2010 – Studii de licență în Sănătate Publică, IP Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „N. Testemițanu”
Activitatea profesională	2021 – prezent: Șefa Laboratorului de Analize Medicale, IMSP Spitalul Dermatologie și Maladii Comunicabile; 2021 – 2022: Mentor al Programului Global de Leadership al Laboratorului din Moldova; 2018 – prezent: Membru al grupului de bază al Inițiativei Laboratoarelor Europene (ELI) privind tuberculoza, HIV și hepatită, OMS Europa; 2017 – prezent: Coordonator național privind diagnosticul de laborator al infecției cu HIV și ITS; 2011 – 2023: Cercetător științific, Laborator Național de Referință în Microbiologia și Morfologia Tuberculozei, IMSP Institutul de Ftiziopneumologie „C. Draganiuc” ; 2011-2014: Asistent universitar la Catedra Microbiologie, Virusologie și Imunologie, IP USMF „N. Testemițanu”.
Stagii	1. Curs: *Cerințele standardului SM EN ISO 15189:2023 Laboratoare medicale. Cerințe pentru calitate și competență, prezentând modificări față de versiunea anterioară a standardului*. MOLDAC, Chișinău, Moldova, 2023; 2. Curs: *Curs de tranziție la ISO 15189:2022, inclusiv evaluarea riscurilor și cerințele pentru testarea la punctul de îngrijire.* DATOS, Olanda, 2023; 3. Curs: *Regulamentul (UE) 2017/46 privind dispozitivele medicale pentru diagnostic in vitro*. MOLDAC, Chișinău, Moldova, 2023; 4. Curs: *SM EN ISO 15189:2014 "Laboratoare medicale. Cerințe de calitate și competență" „Instruirea auditorilor interni prin SM EN ISO 19011:2018, Ghid pentru managementul auditului sisteme”, pentru auditarea Sistemului de Management implementat conform SM EN ISO 15189:2014*. MOLDAC, Chișinău, Moldova, 2020;

5. Curs: *Auditor al sistemului de management al calității pentru laboratoare conform ISO 19011: 2018 ISO / IEC 17025: 2018 și ISO 15189: 2013*. TUVKarpat, București, România, 2020;
6. Curs: *Sisteme de management al calității de laborator ISO 15189:2012 și documente CLSI GP26-A3*. Amsterdam, Olanda, 2017;
7. Curs: *Tehnologia GeneXpert (TB și HIV)*. Toulouse, Franța, 2017,
8. Curs: *Certificat de audit intern al laboratoarelor medicale ISO 15189:2012*. Brașov, România, 2017;
9. Curs: Certificare IATA: *Instruire pentru responsabilităţile expeditorilor/agenţilor de marfă pentru transportul de mărfuri periculoase pe calea aerului*, 2014;
10. Curs: *Bune practici clinice de laborator în domeniul diagnostiului TB*. Borstel, Germania, 2019, 2018, 2017, 2016, 2015, 2014, 2013, 2012, 2011;
11. Curs: Bunele practici de laborator în domeniul biologiei moleculare. California, SUA, 2011.

Participări în proiecte ştiinţifice naţionale şi internaţionale

1. COVID-19 RM Financed by Foundation for innovative new diagnostics (FIND). Sub-grantee/contractor: Dermatology and Communicable Diseases Hospital, Chisinau, Moldova, Principal Investigator: Ecaterina Noroc; Duration – 2021-2023;
2. HIV Recency in Moldova, Financed by UNAIDS Moldova, Investigator: Ecaterina Noroc; Duration – 2020-2021;
3. Evaluation of the implementation of HIV and syphilis testing and HIV treatment policies, strengthen the HIV testing quality management system in the Republic of Moldova, Financed by WHO Moldova, Investigator: Ecaterina Noroc; Duration – 2019;
4. Multicenter trial to assess the performance of centralized assay solutions for detection of MTB and resistance to Rifampin and Isoniazid. Clinical trial protocol. Financed by Foundation for innovative new diagnostics (FIND). Sub-grantee/contractor: Phthisiopneumology Institute, Chisinau, Moldova. Principal Investigator: Ecaterina Noroc; Duration – 2018-2020;
5. TB Reference Materials. Treatment Monitoring Collection. Project numbers: P07013-03. Financed by Foundation for innovative new diagnostics (FIND). Sub-grantee/contractor: Phthisiopneumology Institute, Chisinau, Moldova. Principal Investigator: Ecaterina Noroc; Duration – 2015-2018;
6. Hain Genotype MTBDRsl 2.0 Evaluation Study. Financed by Foundation for innovative new diagnostics (FIND). Sub-grantee/contractor: Phthisiopneumology Institute, Chisinau, Moldova. Principal Investigator: Ecaterina Noroc; Duration – 2015-2016;
7. TB Drug Resistant Reference Materials. Collection, Storage & Distribution, Project number PO-7265-2/1. Financed by Foundation for

innovative new diagnostics (FIND). Sub-grantee/contractor: Phthisiopneumology Institute, Chisinau, Moldova. Principal Investigator: Ecaterina Noroc; Duration – 2014-2016;

8. Moldova TB Portal. Project No: OISE 9531011. Financed by: U.S. Civilian Research & Development Foundation (CRDF Global). Sub-grantee/contractor: Phthisiopneumology Institute, Chisinau, Moldova. Principal Investigator: Valeriu Crudu; Duration – 2015-2016;
9. Nano-encapsulation of anti-TB drugs for targeted delivery. Project No: 5800. Financed by: Science and Technology Center in Ukraine (STCU). Sub-grantee/contractor: Phthisiopneumology Institute, Chisinau, Moldova. Principal Investigator: Valeriu Crudu; Duration – 2012-2014.;
10. Study of phenomenon of nosocomial transmission Multidrug-Resistant Tuberculosis by analyzing genotypic of diversity of DNA of *M.tuberculosis* strains. Project No: T10/AG/01_IFP. Financed by: Global Fund to Fight AIDS, Tuberculosis and Malaria. Sub-grantee/ contractor: Phthisiopneumology Institute, Chisinau, Moldova. Principal Investigator: Valeriu Crudu; Duration – 2012;
11. Genotyping of MDR/XDR strains in Moldova. Financed by: EC contribution FP7-HEALTH-2007-B. Sub-grantee/contractor: Research Center Borstel, Germany. PI: Prof. Dr. Stefan Nieman. Duration – 2011-2013;
12. First Evaluation of an Improved Assay for Molecular Genetic Detection of Tuberculosis as Well as Rifampin and Isoniazid Resistances. Financed by: Hain Lifescience GmbH, Germany. Sub-grantee/contractor: Phthisiopneumology Institute, Chisinau, Moldova. PI: Valeriu Crudu; Duration – 2010-2011.

Participări la manifestări ştiinţifice

1. Conferință științifică națională cu participare internațională „*Noi abordări în controlul bolilor respiratorii. Integrarea serviciilor*”. 20 – 21 Decembrie 2023. Chișinău, Republica Moldova;
2. Al 33-lea Congres European de Micobacteriologie Clinică și Boli Infecțioase. Aprilie 2023. Copenhaga, Danemarca;
3. Conferința științifico-practică consacrată Zilei Mondiale de combatere a tuberculozei cu genericul „DA! Putem învinge tuberculoza” 24 martie 2023;
4. The Union, World Conference on Lung Health 2022. Combating pandemics: Today and Tomorrow, 8-11 Nov 2022;
5. A 40-a Societate Europeană de Micobacteriologie. Iunie 2019. Valencia, Spania;
6. Atelier interregional privind inovarea în diagnosticare și furnizare de servicii pentru programele de tuberculoză, HIV și malaria. Aprilie 2019. Lima, Peru;

7. A 39-a Societate Europeană de Micobacteriologie. Iunie 2018. Dresda, Germania;
8. A 36-a Societate Europeană de Micobacteriologie. Iunie 2015. Riga, Letonia;
9. Al 25-lea Congres European de Micobacteriologie Clinică și Boli Infecțioase. Aprilie 2015. Copenhaga, Danemarca;
10. Conferința Internațională de Micobacteriologie și Epidemiologie. Noiembrie 2014. București, România;
11. Actualizare în diagnosticul și tratamentul TB. Decembrie 2013. Chișinău. Republica Moldova;
12. A 34-a Societate Europeană de Micobacteriologie. Iunie 2013.

Premii, menţiuni, distincţii, titluri onorifice

1. Cea mai de succes activitate în domeniul Sănătăţii Publice. Ministerul Sănătății, Muncii și Protecției Sociale, Republica Moldova. Aprilie 2019;
2. Diploma de onoare pentru cel mai bun cetățean al satului Niscani, Călărași, Republica Moldova. Octombrie 2018;
3. Diploma de onoare pentru cel mai bun doctor al anului 2015 oferita de Ministerul Sanatatii, Muncii si Protectiei Sociale, Republica Moldova. Iunie 2015;
4. Locul 3 la cel de-al IV-lea Congres Internațional de Medicină pentru studenți și tineri medici MedEspera2012, Chișinău, Republica Moldova, 2012.

Apartenenţă la societăţi/asociaţii ştiinţifice naţionale și internaţionale

Membru: Societatea Europeană de Microbiologie Clinică și Maladii Infecțioase (ESCMID);
Membru: Societatea Europeană de Micobateriologie (ESM);
Membru fondator: Societatea de Micobacteriologie Clinică (SMC);
Membru fondator: Institutul de Microbiologie Clinică și Maladii Infecțioase (IMCMI).

Lucrări științifice publicate

Au fost publicate 15 lucrări științifice, inclusiv 6 articole în revistele din bazele de date Web of Science și SCOPUS, 2 articole în reviste din Registrul Național al revistelor de profil, categoria B, 7 teze în lucrările conferinţelor științifice internaţionale (peste hotare), 3 participări cu comunicare națională și internațională, 1 participare cu poster la foruri științifice internaționale. Un certificate de inovație și 1 act de implentare.

Date de contact de serviciu

Adresă : mun. Chișinău, or. Codru, str. Costiujeni 5/1
Tel: 022 794-127
E-mail: ecaterina.noroc@ms.md