

ȘCOALA DOCTORALĂ ÎN DOMENIUL ȘTIINȚE MEDICALE

Cu titlu de manuscris

C.Z.U:616.24-002.5-07-08+615.2/.3.015.8

DUMITRU CHESOV

**OPTIMIZAREA DIAGNOSTICULUI ȘI EFICIENTIZAREA
TRATAMENTULUI TUBERCULOZEI**

321.07 - FTIZIOPNEUMOLOGIE

Rezumatul tezei de doctor habilitat în științe medicale

Chișinău 2023

Teza a fost elaborată în cadrul Disciplinei de pneumologie și alergologie, Departamentul Medicină Internă, Instituția Publică Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu” din Republica Moldova.

Componența Comisiei de susținere publică:

Matcovschi Sergiu doctor habilitat în științe medicale, profesor universitar, USMF „Nicolae Testemițanu” - președinte

Balan Greta doctor habilitat în științe medicale, conferențiar universitar, USMF „Nicolae Testemițanu” - secretar

Victor Botnaru dr. hab. șt. med., prof. univ., USMF „Nicolae Testemițanu” - membru din oficiu.

Christoph Lange dr. hab. șt. med., prof. univ., Centrul de cercetări din Borstel, Germania - membru din oficiu.

Lilia Todoriko dr. hab. șt. med., prof. univ., Universitatea de stat de medicină din Bucovina, Cernăuți, Ucraina – referent oficial

Constantin Iavorschi dr. hab. șt. med., prof. cercet., Institutul de Ftiziopneumologie „Chiril Draganiuc” - referent oficial.

Valeriu Djugostran dr. hab. șt. med., prof. cercet., Institutul de Ftiziopneumologie „Chiril Draganiuc” referent oficial.

Serghei Pisarenco dr. hab. șt. med., conf. cercet., Institutul de Ftiziopneumologie „Chiril Draganiuc” - referent oficial.

Susținerea tezei va avea loc la data de 6 noiembrie 2023, ora 14:00, în incinta USMF „Nicolae Testemițanu”, bd. Ștefan cel Mare și Sfânt, 165, biroul 205, în ședința Comisiei de susținere publică a tezei de postdoctorat, aprobată prin Decizia Senatului nr. 8/17 din 30.08.2023 din cadrul Instituției Publice Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”.

Teza de doctor habilitat și rezumatul pot fi consultate la biblioteca IP Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu” și pe pagina web a ANACEC (www.cnaa.md).

Rezumatul a fost expediat la data de 5 octombrie 2023

Secretar științific al comisiei de susținere publică

Balan Greta, dr. hab. șt. med., conf. univ.

Consultanți științifici

Botnaru Victor, dr. hab. șt. med., prof. univ.

Lange Christoph, dr. hab. șt. med., prof. univ.

Autor

Chesov Dumitru

©Chesov Dumitru, 2023

CUPRINS

Cuprins.....	3
Repere conceptuale ale tezei	4
Conținutul tezei	11
1. Diagnosticul și tratamentul tuberculozei la etapa actuală	11
2. Răspunsul citokinic specific în diferențierea statutelor clinice ale infecției cu <i>M. tuberculosis</i>	11
3. Optimizarea diagnosticului microscopic al infecției tuberculoase	15
4. Tehnici de diagnostic molecular-genetic și specimene alternative	18
4.1 Impactul implementării testării prin Xpert MTB/Rif asupra întârzierii terapeutice la bolnavii cu tuberculoză MDR.....	18
4.2 Rolul examinării specimenelor bronhoscopice pentru confirmarea microbiologică a tuberculozei.	20
5. Intervenții de eficientizare a tratamentului tuberculozei.....	22
5.1 Impactul asupra rezultatelor tratamentului a includerii bedaquilinei în schemele terapeutice la bolnavii cu tuberculoză MDR.....	22
5.2 Utilizarea izoniazidei în tratamentul bolnavilor cu tuberculoză multidrog rezistentă	25
6. Rezultatele tratamentului antituberculos - factori de prognostic și opțiuni de evaluare	26
6.1 Impactul funcției pulmonare asupra rezultatelor tratamentului la bolnavii cu tuberculoză.....	26
6.2 Evaluarea rezultatelor tratamentului tuberculozei multidrogrezistente	30
Concluzii generale și recomandări.....	34
Bibliografie selectivă.....	36
Lista publicațiilor.....	37
Adnotare.....	43
Аннотация.....	45
Summary.....	48

REPERE CONCEPTUALE ALE TEZEI

Actualitatea temei

Tuberculoza este boala infecțioasă care anual la nivel global cauzează un important număr de îmbolnăviri și cel mai mare număr de decese provocate de un singur agent infecțios [1]. Urmare al acestui impact major asupra sănătății publice, tuberculoza este în câmpul de vedere al celor mai recunoscute instituții internaționale care stabilesc politici și prioritizează intervenții ce au drept scop reducerea poverii și eventual eliminarea acestei boli [2]. În acest context în ultima decadă au fost înregistrate mai multe realizări importante atât la capitolul diagnosticului cât și tratamentului tuberculozei.

În domeniul diagnosticul tuberculozei au fost dezvoltate o serie de teste pe bază de amplificare a acizilor nucleici, care în studiile de laborator au demonstrat o înaltă acuratețe de identificare a *M. tuberculosis* combinată cu o durată scurtă de obținere a rezultatelor testării [3]. La fel, tehnologiile molecular-genetice au oferit posibilitatea aprecierii rapide a sensibilității la medicamentele antituberculoase de bază. Din grupul acestor teste o implementare deosebit de largă a obținut-o testul Xpert MTB/Rif. Caracteristicile tehnice ale acestuia (acuratețea, rapiditatea și simplitatea operațională) au inspirat entuziasm chiar din primele rapoarte de implementare. În același timp, eficiența și impactul real al utilizării tehnologiei Xpert MTB/Rif în practica clinică curentă ar putea fi redusă de o serie de factori condiționați de particularitățile sistemului medical (rată înaltă a coinfecției TB/HIV, incidență sporită a tulpinilor multidrog rezistente, sistem centralizat de acordare a asistenței medicale etc.) [4] și categoria de pacienți la care este aplicat (cu forme extrapulmonare de boală, imunocompromiși, copiii etc.) [5]. Astfel, determinarea impactului real al utilizării tehnologiei Xpert MTB/Rif pentru diagnosticul tuberculozei în cadrul diferitor sisteme de acordare a asistenței medicale a devenit una din prioritățile de cercetare. Evaluării impactului Xpert MTB/Rif asupra unor parametri ai managementului terapeutic al bolnavilor cu tuberculoză MDR și confirmării microbiologice a tuberculozei la bolnavii cu spută

paucibacilară, în condițiile practicii clinice din Republica Moldova, le sunt dedicate și două dintre obiectivele prezentei lucrări.

Odată cu implementarea în practică de noi metode diagnostice a crescut și volumul de lucru efectuat de către laboratoarele de diagnostic microbiologic al tuberculozei, atât urmare a efectuării directe a testărilor prin noile tehnologii cât și secundar testărilor efectuate în cadrul asigurării controlului calității în unitățile subordonate. În acest context și-au făcut apariția tehnologiile de efectuare și citire automatizată a metodelor clasice de diagnostic (microscopia și cultura). Aceste tehnologii au potențialul de a substitui sau cel puțin de a reduce implicarea personalului uman și drept urmare "eliberarea" lui pentru supravegherea/efectuarea testărilor mai complexe. În cazul unora dintre aceste sisteme automatizate, există o multitudine de date experimentale și din teren privind eficacitatea și cost eficiența lor [6]. În cazul altora acuratețea și fezabilitatea aplicării în contextul diferitor scenarii de aplicare în practică încă urmează a fi stabilite. Aprecierii performanțelor platformei de citire automatizată a frotiurilor microscopice în colorație fluorescentă (Fluorobot) este consacrat un alt obiectiv al prezentei lucrări [7].

De rând cu realizările importante, la capitolul diagnosticului tuberculozei, în ultima perioadă au fost înregistrate și unele dezamăgiri și speranțe neîmplinite, în special este cazul testelor de diagnostic al infecției tuberculoase latente (ITBL) [8]. Astfel, dezvoltarea pe parcursul a câtorva decenii a testelor IGRA (Interferon-Gamma Release Assay) a condus la concluzia despre specificitatea redusă a acestora în identificarea persoanelor cu ITBL cu risc sporit de progresie spre tuberculoză activă precum și în diferențierea persoanelor cu ITBL de cele cu tuberculoză activă [9]. Drept urmare, în prezent sunt desfășurate numeroase studii care urmăresc identificarea de noi biomarkeri (alternativi sau complementari INF- γ apreciat prin IGRA), care ar fi mai eficienți în diferențierea diferitor statute clinice ale infecției tuberculoase. Astfel, și unul dintre obiectivele prezentei lucrări a urmărit evaluarea potențialului rol al aprecierii profilului secretor de IL-2/INF- γ al limfocitelor T din sângele periferic în diferențierea statutelor clinice ale infecției cu *M. tuberculosis* [10].

Progresele de bază în ceea ce ține tratamentul tuberculozei sunt legate de identificarea și introducerea în practică clinică a noi medicamente și scheme terapeutice. Printre acestea cele mai sonore sunt bedaquilina și delamanidul, de rând cu schemele scurte de tratament pentru tuberculoza MDR. Deși delamanidul ar putea fi, cel puțin în parte, trecut pe lista așteptărilor neîmplinite, bedaquilina și-a demonstrat eficiența la toate etapele de testare clinică după care a fost inclusă în bateria de primă linie în tratamentul antituberculos [11, 12]. Cu toate acestea există conștientizarea clară a faptului că eficacitatea raportată în trialurile clinice ar putea să nu se regăsească în practică curentă în special în cazul tratamentului tuberculozei MDR (administrarea la bolnavi cu forme mai grave decât cei din studiu clinic, aderența mai joasă la tratamentul îndelungat, riscul mai mare al reacțiilor adverse din coadministrare cu medicația pentru comorbidități etc.). Astfel, evaluarea eficacității utilizării medicamentelor și a schemelor noi de tratament la aplicarea lor în practica clinică curentă, în special în cadrul managementului programatic al bolnavilor aplicat în cadrul programelor naționale de răspuns la tuberculoză, a constituit un interes practic major a cercetării în domeniu. În prezenta lucrare se regăsesc rezultatele evaluării eficacității includerii bedaquilinei în schemele de tratament antituberculos la bolnavii cu tuberculoză MDR în cadrul Programului național de răspuns la tuberculoză în Republica Moldova.

Monitorizarea și evaluarea rezultatelor tratamentului antituberculos reprezintă un tărâm al discuțiilor în plină desfășurare. Markerii utilizați în prezent (în mare parte microbiologici) pentru monitorizarea eficacității terapiei și stabilirii vindicării sunt indirecti și posedă o specificitate joasă [13]. Astfel, problematica cercetărilor în acest domeniu este orientată spre identificarea de biomarkeri mai specifici care ar permite stabilirea individualizată a evoluției favorabile a tratamentului și a vindecării. Rezultatele obținute în acest sens la ora actuală sunt promițătoare, dar încă departe de a fi aplicabile în practica curentă. Datorită acestui fapt există un interes viu pentru identificarea factorilor de risc pentru evoluția nefavorabilă a tratamentului și revizuirea principiilor de aplicare a criteriilor (microbiologice și clinice) utilizate în prezent pentru definirea rezultatelor

tratamentului antituberculos [14]. În acest context, ca parte a acestei lucrări, au fost incluse și două obiective dedicate aprecierii impactului funcției pulmonare asupra rezultatelor tratamentului antituberculos precum și evaluării fezabilității și impactului concluzionării despre rezultatele finale ale terapiei antituberculoase după monitorizarea timp de un an de la încheierea tratamentului.

Cuvinte cheie: TB, MDR, diagnostic de laborator, *M. tuberculosis*, tratament antituberculos

Domeniul de studiu: Pneumoftiziologie

Scopul

Evaluarea intervențiilor clinice și de laborator cu potențial de optimizare a diagnosticului și de eficientizare a tratamentului bolnavilor de tuberculoză.

Obiectivele cercetării

1. Aprecierea eficacității determinării răspunsului celular specific prin interferon- γ și interleukina-2 în diferențierea statutelor clinice ale infecției prin *M. tuberculosis*.
2. Evaluarea acurateței diagnostice a citirii automatizate a frotiurilor de microscopie în colorație fluorescentă prin platforma Fluorobot în diagnosticul tuberculozei pulmonare la adulți.
3. Determinarea impactului implementării tehnicii Xpert MTB/Rif asupra managementului terapeutic la bolnavii cu tuberculoză pulmonară multidrog rezistentă în Republica Moldova.
4. Determinarea rolului evaluării specimenelor de aspirat bronșic în diagnosticul tuberculozei pulmonare la pacienții cu specimene paucibacilare ale sputei liber expectorate.
5. Aprecierea eficacității includerii bedaquilinei în schemele de tratament al tuberculozei multidrog rezistente în condițiile managementului programatic al bolnavilor de tuberculoză.
6. Evaluarea raționalității includerii izoniazidei în doze mari în schemele terapeutice utilizate la bolnavii cu tuberculoza multidrog rezistentă.

7. Aprecierea impactului funcției pulmonare la momentul diagnosticului asupra rezultatelor tratamentului la bolnavii cu tuberculoză pulmonară.
8. Evaluarea opțiunilor de apreciere a rezultatelor tratamentului la bolnavii de tuberculoză.

Noutatea și originalitatea

Noutatea cercetării este dată de evaluarea eficacității aplicării de noi biomarkeri (profilul citokinic IL-2/INF- γ al limfocitelor din sângele periferic), specimene alternative (aspirat bronșic) și soluții tehnologice originale (FluoroSpot, Fluorobot, Xpert MTB/Rif) în scopul diagnosticării infecției tuberculoase în practica clinică. La fel, noutatea studiului este asigurată și de aprecierea eficacității și/sau raționalității aplicării în condițiile clinice din cadrul sistemului de sănătate din Republica Moldova a unor medicamente noi precum bedaquilina sau a izoniazidei în doze mari, de rând cu identificarea de noi factori predictivi ai eficacității tratamentului antituberculos și aplicării unor abordări mai obiective, din punct de vedere clinic, în aprecierea rezultatelor tratamentului antituberculos.

Rezultatele obținute care au determinat soluționarea unei probleme științifice, aplicative de importanță majoră

- Fluorospot - ul reprezintă o metodă alternativă pentru diagnosticul infecției tuberculoase latente cu acuratețe diagnostică similară cu cea a tehnicilor EliSpot-IGRA.
- Aplicarea tehnologiilor pe bază de deep learning algorithm, precum Fluorobotul, permite citirea automatizată a frotiurilor microscopice în colorație fluorescentă cu o acuratețea comparabilă cu cea obținută la citirea manuală.
- Aplicarea la scară națională a tehnicii Xpert MTB/Rif în diagnosticul tuberculozei a permis reducerea întârzierii terapeutice de 6 ori la bolnavii cu tuberculoză pulmonară MDR.
- Utilizarea specimenelor de aspirat bronșic examinate prin teste molecular-genetice (Xpert MTB/Rif) la bolnavii cu tuberculoză pulmonară cu paucibacilaritate înaltă (microscopie și Xpert MTB/Rif negative în probele de spută liber expectorată) permite confirmarea microbiologică adițională la o pătrime dintre acești bolnavi.

- Bedaquilina utilizată în schemele de tratament la bolnavii cu tuberculoză MDR, inclusiv la cei cu eșec al tratamentelor anterioare, în condițiile oferirii îngrijirilor medicale în mod programatic¹, asigură o rată înaltă de vindecare și reducere a mortalității.
- Rezistența față de izoniazidă la bolnavii cu tuberculoză MDR în Republica Moldova este în majoritatea covârșitoare a cazurilor determinată de mutații în gena katG (asociate cu niveluri înalte ale concentrațiilor minime inhibitorii față de acest medicament), fapt care exclude administrarea empirică a dozelor mari de izoniazidă (15-20 mg/kg) în schemele de tratament la acești bolnavi.
- Pattern-ul restrictiv al funcției pulmonare la bolnavii cu tuberculoză pulmonară, apreciat la inițierea tratamentului antituberculos, este un factor predictiv negativ, potențial modificabil al rezultatelor tratamentului la acești bolnavi.
- Aprecierea rezultatelor tratamentului antituberculos după o perioadă de supraveghere post-terapie reprezintă o abordare mai rațională, din punct de vedere clinic, de evaluare a tratamentului antituberculos, fezabilă în condițiile de îngrijire programatică a bolnavilor de tuberculoză.

Semnificația teoretică

Cercetarea oferă argumentarea teoretică necesară luării deciziilor de optimizare a algoritmilor diagnostice curente de confirmare a infecției tuberculoase prin includerea potențială în acestea a testelor serologice de apreciere a INF- γ și IL-2 secretate de limfocitele T, citirii automatizate a frotiurilor de microscopie în colorație fluorescentă și testării prin teste molecular-genetice a specimenelor de aspirat bronșic la bolnavii cu spută paucibacilară. Argumentarea intervențiilor menționate poate fi efectuată din perspectiva sensibilității, specificității, raportului de probabilitate pozitivă și cel de probabilitate negativă demonstrate în prezenta lucrare. La fel, a fost

¹ mod programatic – model de oferire a asistenței medicale bolnavilor de tuberculoză în cadrul unui Program național de răspuns (control) la tuberculoză, care de regulă presupune un management centralizat al resurselor diagnostice și de tratament, acest model de regulă este aplicat în țările cu incidență înaltă a tuberculozei cu venituri medii și joase.

argumentat impactul implementării la nivel național a tehnicii Xpert MTB/Rif prin aprecierea efectului global asupra reducerii întârzierii terapeutice la bolnavii cu tuberculoză pulmonară MDR. În cardul evaluării intervențiilor de eficientizare a tratamentului antituberculos a fost argumentată eficacitatea includerii în schemele de tratament în condiții programatice la bolnavii cu tuberculoză MDR a bedaquilinei prin demonstrarea unei rate de vindecare mai mare și a mortalității mai reduse la utilizarea acestui medicament precum și ineficacitatea includerii empirice (fără aprecierea determinatei genetice) a izoniazidei în doze mari în schemele de tratament la bolnavii cu tuberculoză MDR. În aceeași ordine de idei, a fost argumentată raționalitatea și fezabilitatea supravegherii postterapeutice în evaluarea rezultatelor tratamentului antituberculos.

Valoarea aplicativă

Aplicarea intervențiilor evaluate în cadrul lucrării permite reducerea întârzierii diagnostice la bolnavii cu tuberculoză pulmonară MDR, creșterea semnificativă a confirmării microbiologice a tuberculozei pulmonare la bolnavii cu spută paucibacilară, precum și optimizarea citirii frotiurilor de microscopie în colorație fluorescentă. Utilizarea soluțiilor terapeutice evaluate contribuie la creșterea vindecării și reducerea ratei de mortalitate la bolnavii cu tuberculoză MDR, precum și evitarea tratamentelor neargumentate cu doze mari de izoniazidă cu potențial efect hepatotoxic la acești bolnavi. Utilizarea aprecierii eficacității tratamentului după supravegherea post-tratament oferă o evaluare mai obiectivă din punct de vedere clinic al eficacității terapeutice.

Implementarea rezultatelor

Rezultatele tezei au fost implementate în secțiile Institutului de fiziopneumologie "Chiril Draganiuc", respectiv fiind obținute trei acte de implementare în procesul științifico-practic și 3 certificate de inovator.

Rezultatele tezei au fost reflectate în 51 de publicații științifice inclusiv 1- monografie în monoautor editată în țară, 1 - capitol în monografie internațională, 1 - contribuție în carte de specialitate, 21 - de articole în reviste indexate în baza de date Web of Science, 1 - articol în baze de date

acceptate de către ANACEC, 5 - articole în reviste din registrul național al revistelor de profil, 14 - teze, 7 - editoriale și comentarii. La fel, rezultatele tezei au fost prezentate la 19 foruri și evenimente științifice.

CONȚINUTUL TEZEI

1. DIAGNOSTICUL ȘI TRATAMENTUL TUBERCULOZEI LA ETAPA ACTUALĂ

Capitolul rezumă datele literaturii privitor la diagnosticul și tratamentul tuberculozei. Acestea sunt precedate de descrierea evoluției indicatorilor epidemiologici ai tuberculozei la nivel local și internațional, cu evidențierea provocărilor majore ce împiedică eliminarea tuberculozei la etapa actuală. La compartimentul opțiunilor diagnostice în special sunt descrise și caracterizate varietatea metodelor molecular-genetice de confirmare a infecției cu *M. tuberculosis*, de rând cu testele clasice precum microscopia și cultura. În mod comparativ sunt analizate acuratețea diagnostică a acestor teste precum și avantajele aplicării lor în practica clinică. Sunt revizuite ultimele date privitor la regimurile de tratament și medicamentele noi introduse în practica clinică pe parcursul ultimului deceniu, ultima parte a capitolului fiind dedicată dezavantajelor actualelor abordări în evaluarea rezultatelor tratamentului antituberculos și potențialelor oportunități de ameliorare a acestora.

2. RĂSPUNSUL CITOKINIC SPECIFIC ÎN DIFERENȚIEREA STATUTELOR CLINICE ALE INFECȚIEI CU *M. TUBERCULOSIS*

Capitolul descrie rezultatele determinării acurateței diagnostice a aprecierii profilului secretor IL-2/INF- γ al limfocitelor T din sângele periferic apreciat prin platforma Fluorospot în diferențierea ITBL de tuberculoza activă (confirmată prin cultură sau test molecular-genetic) și tuberculoza vindecată, în calitate de grup de control fiind utilizați persoanele sănătoase la care a fost exclusă ITBL (rezultat IGRA-Elispot negativ). În acest scop au fost înrolați 73 de persoane dintre care 4 bolnavi, inițial diagnosticați cu tuberculoză, au fost excluși datorită stabilirii ulterioare a unui diagnostic alternativ. Dintre cele 69 de persoane incluse în analiza finală 25 au corespuns criteriilor de includere în cohorta ITBL, 18 - cohorta

bolnavilor cu tuberculoză activă, 10 - cohorta cu tuberculoză vindecată, 16 - cohorta persoanelor sănătoase.

Aprecierea prin FluoroSpot a răspunsului IL-2 și INF- γ indus de ESAT-6

Determinarea prin sistemul FluoroSpot a citokinelor induse prin stimularea cu ESAT-6 a evidențiat un număr mai mare de CMSP secretoare de IL-2 la bolnavii de tuberculoză și persoanele cu ITBL de cât cel la persoanele sănătoase, respectiv mediana 9,5 celule formatoare de puncte (CFP)/200.000 celule mononucleare din sângele periferic (CMSP) versus 2 CFP/200.000 CMSP, $p=0,001$ și 4 CFP/200.000 CMSP versus 2 CFP/200.000 CMSP, $p=0,02$.

Numărul CMSP secretoare de INF- γ a fost semnificativ diferit la bolnavii de tuberculoză și la persoanele cu ITBL comparativ cu sănătoșii, respectiv mediana 18,5 CFP/ 200.000 CMSP versus 1 CFP/ 200.000 CMSP, $p<0,0001$ și 6 CFP/ 200.000 CMSP versus 1 CFP/ 200.000 CMSP, $p=0,0003$.

Unicul subset de CMSP pentru care au fost evidențiate diferențe semnificative dintre bolnavii de tuberculoză și persoanele cu ITBL la stimularea cu ESAT-6 au fost cele cu profil secretor de tip IL-2⁻IFN- γ ⁺, mediana 13 CFP/ 200.000 CMSP versus 5 CFP/ 200.000 CMSP, $p=0,0136$, (**Figura 2.1 B**). La fel, numărul CMSP IL-2⁻IFN- γ ⁺ este mai mare la bolnavii de tuberculoză comparativ cu cel la persoanele cu anamneză de tuberculoză vindecată, dar fără semnificație statistică, mediana 13 CFP/ 200.000 CMSP versus 6 CFP/ 200.000 CMSP, $p=0,095$.

În cazul CMSP secretorii de ambele citokine IL-2⁺IFN- γ ⁺ diferențe semnificative au fost evidențiate doar între persoanele cu anamneză de tuberculoză vindecată și cele sănătoase (mediana 2,5 CFP/200.000 CMSP versus 0 CFP/200.000 CMSP, $p=0,007$, **Figura 2.1 C**).

În contextul diferențelor în profilul de secreție a IL-2 și IFN- γ între grupurile analizate, trebuie menționat faptul că suprapunerile observate în expresia tuturor celor 5 pattern-uri citokinice în cohortele analizate, nu ar permite diferențierea statului clinico-imunologic al infecției tuberculoase în cazul pacientului individual în practica clinică.

Compararea ratei fiecărui tip de CMSP cu un anumit profil de secreție al citokinelor analizate (IL-2⁺IFN- γ ⁻, IL-2⁻IFN- γ ⁺ și IL-2⁺IFN- γ ⁺)

nu a evidențiat diferențe semnificative între bolnavii de tuberculoză și persoanele cu ITBL sau cele cu anamneză de tuberculoză vindecată.

Aprecierea prin FluoroSpot a răspunsului IL-2 și INF- γ indus de CFP-10

În cazul aprecierii răspunsului citokinic indus de stimularea cu CFP-10 s-au observat diferențe semnificative în numărul de CMSP cu profil secretor IL-2⁻ IFN- γ ⁺ între persoanele cu anamneză de tuberculoză vindecată în comparație cu cel la bolnavii de tuberculoză, (mediana 3 CFP/200.000 CMSP versus 15,5 CFP/200.000 CMSP, p=0,007) și cel la persoanele sănătoase (mediana 3 CFP/ 200.000 CMSP versus 0 CFP/ 200.000 CMSP, p=0,01, **Figura 2.1 B**).

Numărul total de celule secretorii de INF- γ ⁺ precum și a celor IL-2⁺ IFN- γ ⁺ și IL-2⁻ IFN- γ ⁺ la persoanele cu ITBL sau cele sănătoase a fost mai mic decât la bolnavii de tuberculoză.

La fel, numărul total de CMSP secretoare de IL-2⁺, de rând cu cel al celor cu profil citokinic IL-2⁺ IFN- γ ⁻ la persoanele sănătoase a fost mai mic comparativ cu cel la bolnavii de tuberculoză.

Compararea ratelor CMSP cu diverse profiluri citokinice arată o dominare a CMSP IL-2⁻ IFN- γ ⁺ în tuberculoza activă, versus o distribuție aproximativ egală a IL-2⁺ IFN- γ ⁻, IL-2⁺ IFN- γ ⁺ și IL-2⁻ IFN- γ ⁺ la persoanele cu anamneză de tuberculoză, și rata crescută a CMSP IL-2⁺ IFN- γ ⁻ la persoanele cu ITBL.

Acuratețea diagnostică totală a testelor IGRA-EliSpot și FluoroSpot

Compararea curbelor ROC ale testelor IGRA-EliSpot și FluoroSpot au evidențiat că răspunsul total INF- γ ⁺ discriminează cel mai efectiv dintre staturile clinice ale infecției cu *M. tuberculosis* - ITBL, tuberculoză activă, tuberculoză vindecată și sănătoși (**Figura 2.2**). Rezultate similare au fost observate pentru FluoroSpot la o valoare prag mai mare de 5 CFP/ 200.000 CMSP secretoare de INF- γ ⁺ la stimularea cu ESAT-6 (AUC 0,751, 95%ÎÎ 0,632-0,847, sensibilitatea 59%, specificitatea 89%) și la valoarea prag de peste 6 SFC/ 200.000 PBMC cu profil citokinic IL-2⁻ IFN- γ ⁺ la stimularea cu ESAT-6 (AUC 0,77, 95%ÎÎ 0,653-0,862, sensibilitatea 72%, specificitatea 76%). La o valoare mai mare de 12 CFP/ 200.000, care

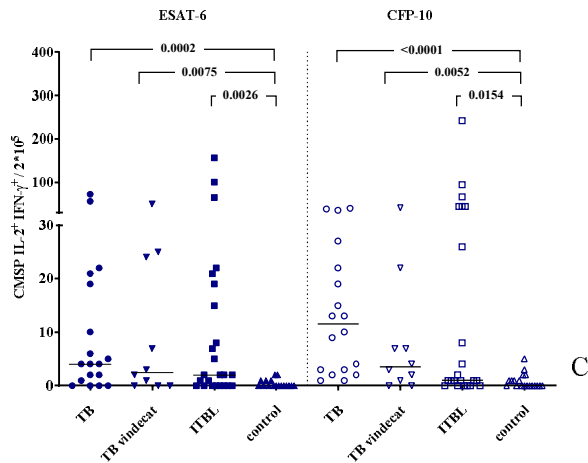
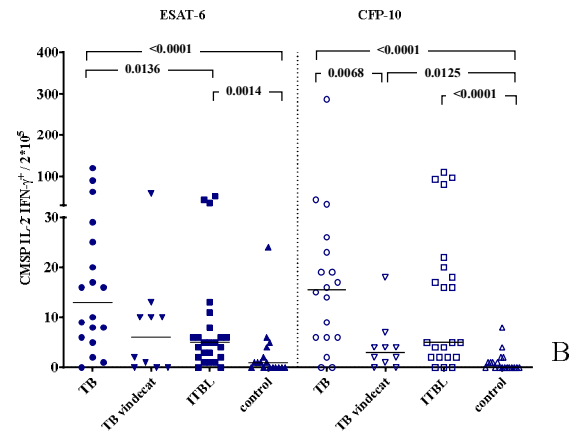
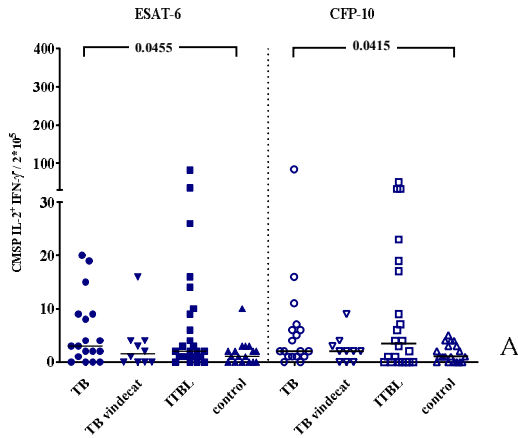


Figura 2.1 Rezultatul testării prin Fluorospot în grupurile analizate obținute la stimularea cu ESAT-6 și CFP-10 (este prezentat numărul de celule mononucleare din sângele periferic (CMSP) secretoare de IL-2⁺INF- γ ⁺(A), IL-2⁺INF- γ ⁺(B), IL-2⁺INF- γ ⁺ (C), exprimate prin numărul celulelor formatoare de puncte (CFP) a fiecărui participant în studiu din grupurile analizate și mediana numărului CFP per grup (linia orizontală). Valorile p > 0,05 nu sunt indicate. ITBL - infecția tuberculoasă latentă).

se prezintă drept optimă pentru CMSP secretoare de IL-2⁺ indusă de CFP-10, sensibilitatea și specificitatea au constituit 82% și 67% (AUC 0,724, 95%ÎÎ 0,603-0,825).

Astfel, nici aprecierea numărului celulelor secretoare IL-2⁺ și nici a celor secretoare de INF- γ ⁺ nu permite diferențierea cu o acuratețe suficientă dintre bolnavii de tuberculoză activă, persoanele cu ITBL, cele cu anamnesic de tuberculoză vindecată și persoanele sănătoase.

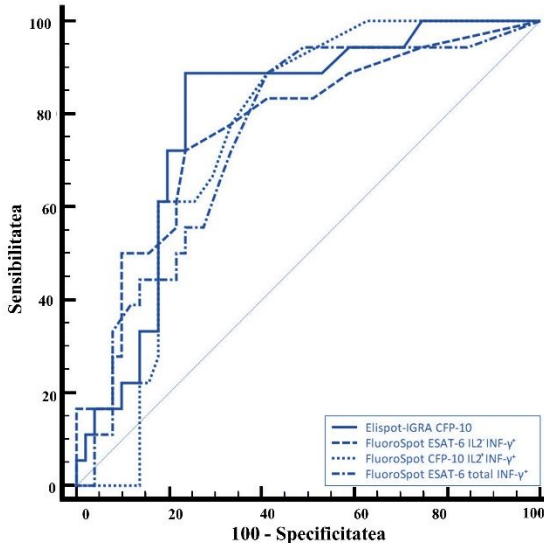


Figura 2.2 Analiza ROC a performanțelor diagnostice ale aprecierii fenotipului secretor IL-2 INF- γ al limfocitelor T din sângele periferic în diferențierea bolnavilor cu tuberculoză activă de cei cu infecție tuberculoasă latentă și cei cu tuberculoză vindecată.

3. OPTIMIZAREA DIAGNOSTICULUI MICROSCOPIC AL INFECȚIEI TUBERCULOASE

În capitol sunt prezentate rezultatele studiului de apreciere a acurateții diagnostice de identificare a bacililor *M. tuberculosis* prin citirea automatizată a frotiurilor microscopice în colorație fluorescentă cu ajutorul platformei Fluorobot efectuate în scop de diagnostic al tuberculozei pulmonare. Citirea automatizată a microscopiei a fost comparată cu cea manuală efectuată către personalul de laborator, ca metodă de referință fiind

considerată cultura la *M. tuberculosis*. Acuratețea diagnostică a fost apreciată prin determinarea sensibilității, specificității, valorii predictive negative (VPN), valorii predictive pozitive (VPP), raportului de probabilitate a testului pozitiv (LR+) și raportului de probabilitate a testului negativ (LR-). Pentru cuantificarea acurateței generale a fost efectuată analiza ROC.

În cadrul studiului au fost colectate 588 specimene biologice de la nivelul căilor respiratorii inferioare. Dintre acestea 136 au fost specimene altele decât sputa, motiv din care nu au fost incluse în studiu, iar în cazul la altele 30 au fost obținute culturi contaminate fapt care a determinat excluderea și acestora. Astfel, în analiza finală au fost incluse 422 de probe de spută. Cultura la *M. tuberculosis* a fost pozitivă în 80 (18,9%) dintre probele analizate.

La examinarea microscopică manuală au fost gradate ca pozitive 56 dintre 80 de probe cu cultură pozitivă, ceea ce corespunde unei sensibilități de 70,0% (95%ÎÎ, 58,7% - 79,7%). În cazul probelor de spută cu cultură negativă 335 din 342 de probe au fost apreciate cu rezultat negativ al microscopiei, ceea ce corespunde unei specificități de 97,9% (95%ÎÎ, 95,8% - 99,2%).

Fluorobotul a apreciat ca pozitive rezultatele microscopiei a 56 dintre cele 80 de probe cu cultură pozitivă ceea ce corespunde sensibilității de 70,0% (95%ÎÎ, 58,7% - 79,7%). Dintre 342 de probe cu cultură negativă rezultat microscopic negativ, la examinarea prin Fluorobot, a fost înregistrat în cazul a 280 de probe, ceea ce corespunde unei specificități de 81,8%, (95%ÎÎ, 77,4% - 85,8%).

Raportul de probabilitate pentru un test pozitiv și raportul de probabilitate pentru un test negativ în cazul citirii manuale a constituit respectiv, 34,2 (95%ÎÎ, 16,2-72,2) și 0,4 (95%ÎÎ 0,2-0,4), iar valorile acestor indicatori pentru examinarea prin Fluorobot - 3,9 (3,0-5,0) și 0,4 (0,3-0,5), respectiv. Astfel, un rezultat pozitiv prin Fluorobot are o probabilitate de 8,5 ori mai mică de a confirma diagnosticul de tuberculoză decât în cazul examinării manuale a frotiurilor de spută în colorație fluorescentă.

În contextul demonstrării specificității mai reduse la examinarea prin Fluorobot a fost comparată gradarea fiecărui frotiu prin ambele metode

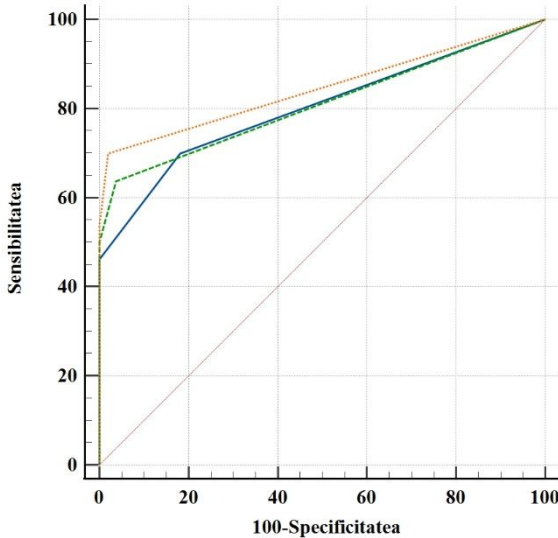


Figura 3.3 Acuratețea diagnostică a examinării prin Fluorobot a frotiurilor de spută în colorație fluorescentă cu auramină comparativ cu examinarea manuală de către specialiștii de laborator, cultura pe medii de cultură solidă considerată metodă de referință, linia oranj - examinarea manuală, linia verde - examinarea prin Fluorobot complementată cu examinarea manuală a frotiurilor incerte, linia albastră examinare doar prin Fluorobot.

și au fost identificate 66 de frotiuri apreciate ca +/- de către Fluorobot, dar negative la citirea manuală. Astfel, pentru a reduce rata rezultatelor fals pozitive și a crește specificitatea examinării prin Fluorobot a fost evaluată reexaminare unor frotiuri prin examinare manuală. Pentru a determina numărul minim de frotiuri reevaluarea cărora ar putea determina o creștere optimală a specificității examinării prin Fluorobot, au fost examinate câteva opțiuni în dependență de numărul de bacili identificați în frotiu. Un rezultat acceptabil, din perspectiva numărului de frotiuri reexamine versus valoarea adăugată la specificitate a fost obținut în cazul reexaminării frotiurilor cu 2-4 bacili în câmpul vizual de interes. Acest subgrup a constituit 63 (14,9%) de frotiuri din totalul frotiurilor analizate, reexaminarea cărora a determinat ca rezultatul microscopiei să fie pozitiv în 51/80 dintre probele de spută cu

cultură pozitivă (sensibilitatea 63,8%, 95%ÎÎ, 52,2 – 74,2), iar rezultatul negativ al microscopiei a fost determinat în 329 dintre 342 de probe de spută cu cultură negativă (specificitatea 96,2%, 95%ÎÎ, 93,6 – 98,0). Respectiv valorile corespunzătoare ale LR+ și LR- au constituit respectiv, 16,8 (9,6-29,3) și 0,38 (0,28-0,50). O acuratețe diagnostică și mai înaltă poate fi obținută prin reexaminarea unui număr mai mare de frotiuri.

Valoarea AUC pentru examinarea prin Fluorobot a constituit 0,80 (95%ÎÎ 0,76 - 0,84), pentru examinarea prin Fluorobot și reexaminarea a unui set complementar de frotiuri (cu 2 - 4 bacili) - 0,81 (95%ÎÎ, 0,77-0,85), iar pentru examinarea manuală - 0,84 (95%ÎÎ 0,81 - 0,88) (**Figura 3.1**). Diferențele dintre valorile AUC înregistrate sunt minimale și statistic ne semnificative, respectiv $AUC_{\text{manuală}} \text{ versus } AUC_{\text{Fluorobot}} = 0,044, p=0,07$, iar $AUC_{\text{manuală}} \text{ versus } AUC_{\text{Fluorobot parțial reexaminat}} = 0,036, p = 0,06$.

4. TEHNICI DE DIAGNOSTIC MOLECULAR-GENETIC ȘI SPECIMENE ALTERNATIVE

4.1 Impactul implementării testării prin Xpert MTB/Rif asupra întârzierii terapeutice la bolnavii cu tuberculoză MDR

În capitol sunt descrise rezultatele analizei de pre-/post implementare (2011-2015) a impactului aplicării la nivel național a testului Xpert MTB/Rif (Xpert) în Republica Moldova. Studiul a fost realizat pe un eșantion integral constituit din cohorta națională de bolnavi care au inițiat tratament pentru tuberculoza MDR în Republica Moldova în perioada de referință, în care a fost analizată dinamica timpului de inițiere a tratamentului MDR (întârzierea terapeutică) și corelarea lui cu numărul testărilor prin Xpert MTB/Rif. Datele primare au fost colectate din SIME-TB (Sistemul național electronic de monitorizare și evaluare a tuberculozei) și registrele laboratorului național în microbiologia tuberculozei (LNR).

În perioada 2011-2015 au fost efectuate 74474 de teste Xpert MTB/RIF, respectiv: anul 2012 - 8273 teste, anul 2013 - 16461, anul 2014 - 23320, anul 2015 - 262420 teste. Numărul testelor efectuate per unitate de timp a fost în continuă creștere atât datorită punerii în funcțiune a noi mașini Xpert cât și grație creșterii numărului de teste efectuate per fiecare unitate de

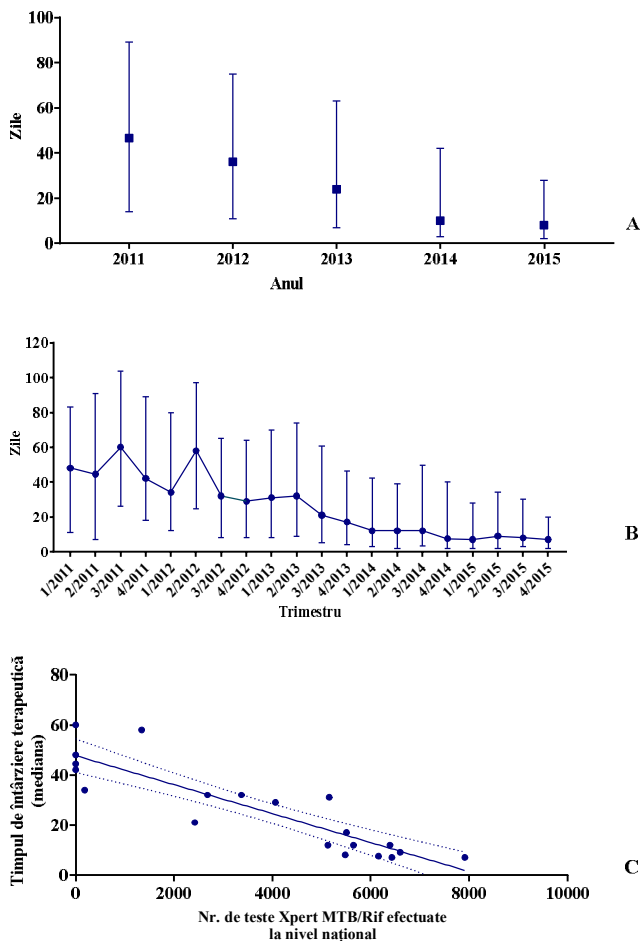


Figura 4.1 Dinamica timpului de întârziere terapeutică la bolnavii cu tuberculoză MDR în Republica Moldova în raport cu implementarea testării la nivel național prin Xpert MTB/RIF A) dinamica anuală, B) dinamica lunară, C) analiza corelațională dintre timpul de întârziere terapeutică și numărul de teste Xpert MTB/Rif efectuate.

diagnostic. Trebuie remarcat diminuarea în timp a numărului de teste invalide. La fel, numărul testelor efectuate per caz diagnosticat de MDR a crescut progresiv de la 15,1 teste/caz TB MDR (confirmate prin Xpert

MTB/Rif) în 2012 până la 27,3 teste/caz TB MDR (confirmate prin Xpert MTB/Rif) în 2015 ($p=0,0001$).

În perioada examinată în SIME TB au fost înregistrate 5507 cazuri de tuberculoză MDR. În analiza efectuată nu au fost incluse cazurile cu date incomplete privitor la data stabilirii diagnosticului de tuberculoză sau data inițierii tratamentului pentru tuberculoza MDR. Astfel, pentru calculul final au fost considerate 4353 de cazuri, respectiv 730 din 1111 cazuri de pacienți cu tuberculoză MDR diagnosticați în anul 2011, 813 din 1121 - în anul 2012, 920 din 1162 - în anul 2013, 906 din 1047 - în anul 2014, 984 din 1066 - în anul 2015. Compararea timpului de întârziere terapeutică în perioada evaluată a evidențiat o reducere progresivă a acestuia o dată cu implementarea tehnicii Xpert MTB/Rif (**Figura 4.1 A, B**). Astfel, în 2011 mediana timpului de întârziere terapeutică a constituit 46,5 zile (intervalul între cuartile (IIQ) 14-89,25), 2012 -36 zile (IIQ 11-75), 2013- 24 zile (IIQ 7-63), 2014 - 10 (IIQ 3-42), 2015 - 8 zile (IIQ 2-28). La fel, corelarea dintre numărul de teste Xpert MTB/Rif efectuate și timpul de întârziere terapeutică a demonstrat o asocierea puternică inversă dintre acestea ($r = -0,88$ 95%ÎÎ - 0,95 - -0,73; $r^2 = 0,79$, $p < 0,0001$; **Figura 4.1 C**).

4.2 Rolul examinării specimenelor bronhoscopice pentru confirmarea microbiologică a tuberculozei.

Sunt prezentate rezultatele aprecierii acurateții diagnostice a testului Xpert MTB/Rif la testarea specimenelor de aspirat bronșic la bolnavii cu spută paucibacilară (microscopia la BAAR și Xpert MTB/Rif negative), la fel, fiind apreciată valoarea adăugată a examinării specimenelor de aspirat bronșic pentru confirmarea microbiologică a tuberculozei pulmonare. Acuratețea diagnostică a fost apreciată din perspectiva sensibilității, specificității, VPP, VPN, LR+, LR-, ca standard de referință fiind considerat cultura la *M. tuberculosis*.

În perioada de studiu au fost identificate 705 de pacienți cu probe pereche (spută și aspirat bronșic) examinate în cadrul Laboratorului național de referință în micobacteriologie (LNR) provenite din secțiile clinice ale Institutului de Ftiziopneumologie "Chiril Draganiuc".

La bolnavii analizați rezultatul pozitiv al culturii a fost înregistrat în 5,5% (39/705) cazuri, inclusiv în 23 cazuri cultura a fost pozitivă doar din aspiratul bronșic, 9 cazuri - din aspiratul bronșic și spută și în alte 3 cazuri doar din specișenele de spută. Examenul prin microscopie la BAAR a fost pozitiv în aspiratul bronșic în 13 (1,8%) dintre cazurile analizate, iar examenul prin Xpert MTB/Rif (la fel din aspiratul bronșic) - 30 (4,2%) cazuri. Considerând cultura ca standard de referință au fost obținute următoarele valori ale sensibilității și specificității în aspiratul bronșic pentru Xpert MTB/Rif: 46,1% (95%Î 31,6% - 61,4%) și 98,2% (95%Î 96,9% - 99,0%) precum și pentru microscopia la BAAR 20,5% (95%Î 10,8% - 3,5%) și 99,2% (95%Î 98,5% - 99,7%). La fel, rapoartele de probabilitate pentru un test pozitiv și respectiv negativ au constituit pentru Xpert MTB/Rif 14,8 (95%Î 8,6 - 25,5) și 0,56 (95%Î 0,42 - 0,74), iar pentru microscopia BAAR 27,3 (95%Î 9,4-79,6) și 0,8 (95%Î 0,68 - 0,94), respectiv.

Valoarea adăugată a examinării aspiratului bronșic în diagnosticul tuberculozei pulmonare

Diagnosticul de tuberculoză a fost stabilit la 91 dintre pacienții incluși în studiu, ulterior la 11 dintre aceștia tuberculoza a fost infirmată (după inițierea tratamentului). Astfel, la bolnavii cu diagnostic definitiv de tuberculoză (n=80), cultura a fost pozitivă în 30 dintre cazuri, inclusiv 3 (3,7%) cazuri doar din spută, 8 (10%) - din spută și aspirat bronșic, 19 (23,7%) - doar din aspiratul bronșic (**Figura 4.2**). La fel, Xpert MTB/Rif a fost pozitiv în 19/80 cazuri (23,7%), iar microscopia în 8 cazuri (toate Xpert MTB/Rif pozitive). Astfel, examinarea specișenelor de aspirat bronșic a permis confirmarea microbiologică suplimentară la o pătrime dintre bolnavii cu tuberculoză pulmonară cu paucibacilaritate avansată (microscopia BAAR și Xpert MTB/Rif negative) a probelor de spută liber expectorate.

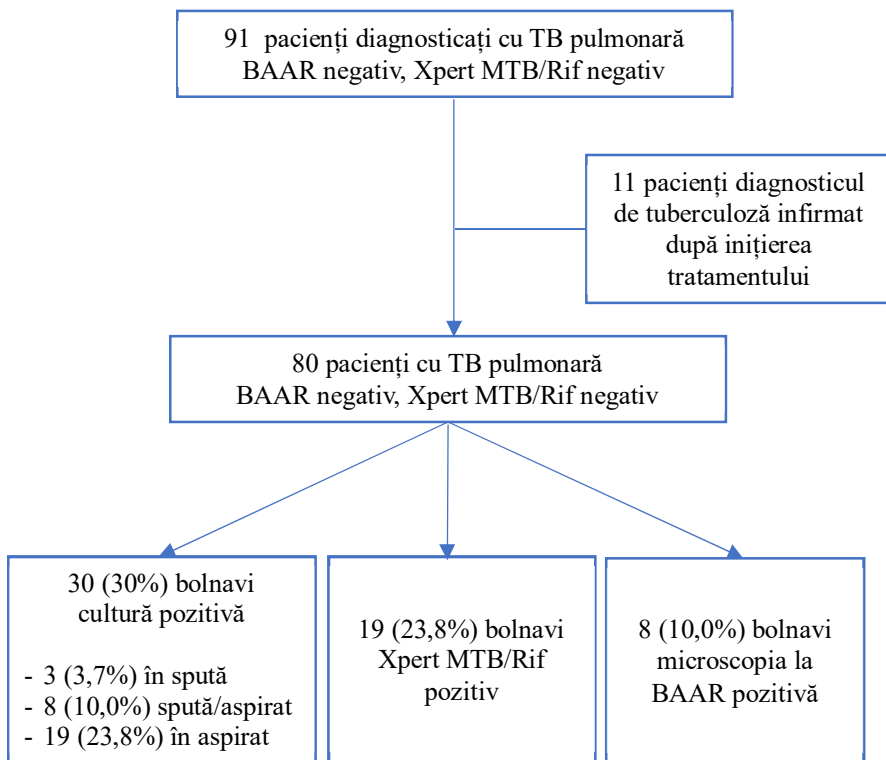


Figura 4.2 Rata confirmării microbiologice a tuberculozei pulmonare prin evaluarea aspiratului bronșic la bolnavii cu microscopie și Xpert MTB/Rif negative în spută.

5. INTERVENȚII DE EFICIENTIZARE A TRATAMENTULUI TUBERCULOZEI

5.1 Impactul asupra rezultatelor tratamentului a includerii bedaquilinei în schemele terapeutice la bolnavii cu tuberculoză MDR

Sunt descrise rezultatele studiului retrospectiv de tip caz-control de apreciere a rezultatelor tratamentului la bolnavii cu tuberculoză MDR, schema de tratament a cărora a inclus bedaquilina (cohorta bedaquilină) versus cei fără de bedaquilină (cohorta non-bedaquilină), care au inițiat tratamentul în Republica Moldova în perioada 2016-2018. Potrivirea

cohortelor după parametrii clinico-demografici și de tratament a fost efectuată în baza scorului de propensiune. Cohortele au fost comparate după timpul și rata de conversie a culturii și rezultatele finale ale tratamentului la încheierea acestuia (conform OMS) și peste un an postterapie (după TBNET).

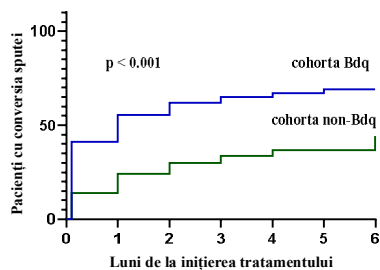
În perioada de referință au fost identificați 2069 de bolnavi cu tuberculoză MDR. Dintre aceștia 115 au fost repartizați în cohorta bedaquilină și 1954 în cohorta non-bedaquilină. După potrivirea în baza scorului de propensiune în fiecare dintre cohorte au fost incluși câte 114 bolnavi. În rezultatul potrivirii între cohortele analizate nu existau diferențe semnificative în ceea ce privește vârsta, genul, mediul de trai, microscopia BAAR pozitivă la inițierea tratamentului, prezența leziunilor cavitare, rezistența la fluorochinolone, anamneza de tuberculoză și medicamentele administrate cu excepția bedaquilinei.

Rata de conversie a sputei la 6 luni de la inițierea tratamentului MDR în cohorta bedaquilină a fost semnificativ mai mare comparativ cu cohorta non-bedaquilină (66,7% versus 40,3%, $p < 0,001$, **Figura 5.1 A**). La fel, conversia sputei în cohorta bedaquilină a fost atinsă semnificativ mai rapid comparativ cu cohorta non-bedaquilină (până la o lună [0-1] versus 1 [0-3] lună, $p < 0,001$, **Figura 5.1 B**).

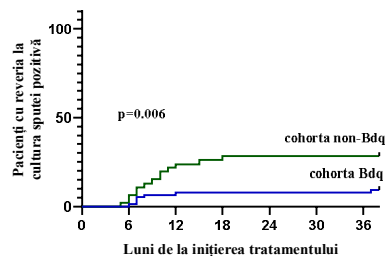
La aprecierea rezultatelor tratamentului în baza criteriilor OMS în cohorta bedaquilină a fost găsită o rată mai mare a tratamentului de succes și o rată mai redusă a mortalității comparativ cu cohorta non-bedaquilină (55,3% versus 24,6%, $p < 0,001$ și respectiv 8,8% versus 20,2%, $p < 0,001$, **Figura 5.1 C**).

Aprecierea rezultatelor finale ale tratamentului în cohortele studiate în baza criteriilor TBNET a fost posibilă în 92/114 (80,7%) dintre bolnavi în cohorta bedaquilină și 107/114 (88,6%) bolnavi în cohorta non-bedaquilină. Astfel, bolnavii din cohorta bedaquilină, la fel, au avut o rată mai mare de vindecare și rată mai mică de deces, respectiv 43,5% versus 19,6% ($p=0,004$) și 10,9% versus 25,2% ($p=0,01$, **Figura 5.1 D**).

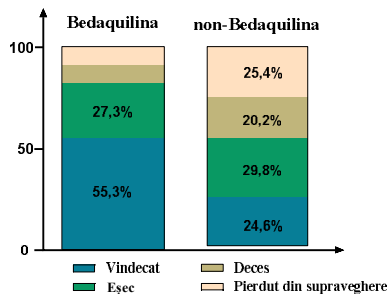
A. Conversia culturii sputei



B. Reversia culturii sputei



C. Rezultatele tratamentului după OMS



D. Rezultatele tratamentului după TBNET

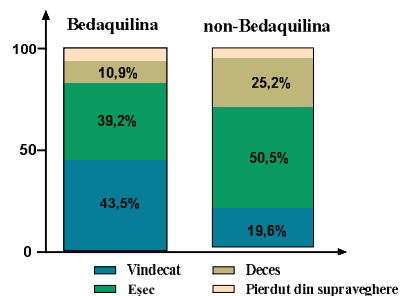


Figura 5.1 Rezultatele tratamentului la bolnavii cu tuberculoză MDR cu și fără bedaquilină în schema de tratament

5.2 Utilizarea izoniazidei în tratamentul bolnavilor cu tuberculoză multidrog rezistentă

A fost efectuată o analiza descriptivă a frecvenței mutațiilor asociate cu rezistența la izoniazidă, care au fost determinate cu ajutorul unei variante comerciale ale testelor de hibridizare a produselor de amplificare a acizilor nucleici (Line Probe Assay - LPA, Genotype MTBDR plus ver.1), precum și prin secvențierea de nouă generație (Next Generation Sequencing -NGS).

Rezultatele aprecierii prin PCR cu hibridizare liniară

În cadrul studiului au fost analizate rezultatele 3625 rezultate singulare (un pacient un rezultat) pozitive a testelor LPA. În cazul a 2012 tulpini analizate au fost identificate mutații asociate cu rezistență atât față de izoniazidă cât și rifampicină (tulpini MDR). În 1980/2012 (98,4%) dintre tulpini a fost prezentă mutația în gena katG în poziția 315, asociată cu un nivel înalt de rezistență față de izoniazidă. Doar în 17/2012 (0,8%) dintre tulpinile analizate mutațiile rezistente au fost localizate în promotorul genei inhA (fără mutație concomitentă în katG). În 15/2012 (0,7%) dintre tulpini localizarea mutației nu a putut fi stabilită prin intermediul LPA (**Tabelul 5.1**).

Tabelul 5.1 Rezistența genotipică față de izoniazidă a tulpinilor *M. tuberculosis* cu pattern MDR în Republica Moldova apreciată prin PCR prin hibridizare liniară

Rezultatele LPA	n	%	95%ÎÎ
Rezistența la izoniazidă în tulpinile MDR (n=2012)			
katG315T fără mutații cunoscute în inhA	766	38,1	35,9-40,2
inhA8C sau 8A sau 15T sau 16G fără mutații cunoscute în katG	17	0,8	0,5-1,3
katG315T+ inhA8C sau 8A sau 15T sau 16G	1214	60,3	58,2-62,4
MDR fără mutații cunoscute în katG sau inhA	15	0,7	0,4-1,2

Rezultatele aprecierii prin secvențiere de noua generație a genomului micobacterian

La examinarea prin secvențiere spectrul mutațiilor asociate cu rezistența la izoniazidă, la fel, în majoritatea covârșitoare a cazurilor (99,7%) a fost determinată de mutații în gena katG (izolat sau în asociere cu mutații în inhA), rezistența față de izoniazidă determinată exclusiv de mutații în gena inhA a fost prezentă doar la o tulpină dintre cele analizate (**Tabelul 5.2.**). De menționat că în acest caz mutația clasică din promotorul genei inhA (15C-T) a fost însoțită și de mutația în regiunea codificatoare a genei inhA (I194T).

Tabelul 5.2 Rezistența genotipică față de izoniazidă a tulpinilor *M. tuberculosis* cu pattern MDR în Republica Moldova apreciată prin secvențierea de nouă generație

Rezultatele secvențierii	n	%	95%Î
Rezistența la izoniazidă în tulpinile MDR (n=288)			
katG315T fără mutații cunoscute în inhA	122	42,4	36,7-48,1
inhA8C sau 8A sau 15T sau 16G fără mutații cunoscute în katG	1	0,3	0,01-1,9
katG315T+ inhA 15T sau 17T	165	57,3	51,5-62,8

6. REZULTATELE TRATAMENTULUI ANTITUBERCULOS - FACTORI DE PROGNOSTIC ȘI OPTIUNI DE EVALUARE

6.1 Impactul funcției pulmonare asupra rezultatelor tratamentului la bolnavii cu tuberculoză

Capitolul descrie analiza comparativă a rezultatelor tratamentului la pacienții cu tuberculoză cu funcție pulmonară normală versus cei cu funcția pulmonară alterată (stratificată în trei pattern-uri, obstructiv, restrictiv și mixt) apreciată la momentul stabilirii diagnosticului (inițierii terapiei). Cohorta de studiu a fost colectată în baza Dispensarului antituberculos nr.1 din orașul Harkiv, fiind înrolați toți bolnavii cu tuberculoză pulmonară cu confirmare prin cultură. Asocierea independentă dintre disfuncția pulmonară

și rezultatele tratamentului antituberculos au fost evaluate în cadrul unui model de regresie logistică multiplă.

În anul de referință pentru prezentul studiu (2016) în Dispensarul antituberculos nr.1 din Harkiv au fost internați 516 pacienți cu tuberculoză pulmonară. La 18,9% (106/561) dintre aceștia diagnosticul nu a fost confirmat prin cultură, motiv pentru care nu au fost incluși în analiza finală. La fel, 62 de bolnavi au fost excluși din studiu pe motivul lipsei rezultatelor spirometriei, iar alții 115 datorită lipsei informației privitor la conversia sputei la termenul de 6 luni. Astfel, în analiza finală au fost incluși 278 de bolnavi.

Rata tratamentului de succes a fost mai înaltă la bolnavii cu spirometrie normală decât la cei cu disfuncție de tip restrictiv (87,8% versus 68,8%, $p = 0,003$) sau mixt (87,8% versus 62,5%, $p = 0,04$). În același timp, rata tratamentului de succes la bolnavii cu spirometrie normală nu a fost semnificativ diferită de cea la bolnavii cu modificări obstructive (87,8% versus 83,3%, $p = 0,07$) (**Figura 6.1**). De remarcat numărul mic de bolnavi cu disfuncție de tip obstructiv ($n=12$) identificați în cohorta de studiu. La fel, nu au fost observate diferențe statistic semnificative în rata tratamentului de succes între grupurile de bolnavi cu diferite tipuri de modificări ale funcției pulmonare.

Rata cazurilor cu eșec al tratamentului antituberculos la bolnavii cu spirometrie normală a fost semnificativ mai joasă decât în oricare dintre cele trei grupuri cu disfuncție pulmonară respectiv, pattern restrictiv - 5,4% versus 17,0%, $p = 0,01$, pattern obstructiv - 5,4% versus 16,7%, $p = 0,02$, și pattern mixt - 5,4% versus 31,3%, $p=0,008$.

Rata mortalității la pacienții cu spirometrie normală nu a fost semnificativ diferită de pacienții cu modificări restrictive (1,4% versus 8,5%, $p = 0,07$), de tip mixt (1,4% versus 6,3%, $p=0,6$) sau obstructiv (1,4% versus 0%, $p = 0,07$). La fel, nu au fost observate diferențe statistic semnificative între grupurile de bolnavi cu diferite tipuri de disfuncție pulmonară (restrictiv versus obstructiv, $p = 0,6$; mixt versus obstructiv, $p = 0,04$; restrictiv versus mixt, $p = 0,7$).

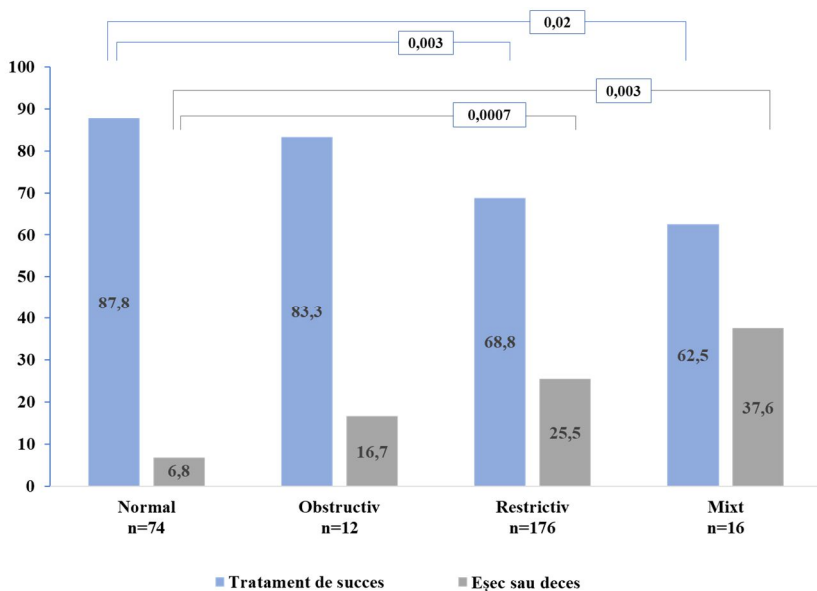


Figura 6.1 Rezultatul tratamentului în dependență de pattern-ul funcției pulmonare (valorile p ne indicate sunt mai mari de 0,05)

Rata rezultatului negativ ale tratamentului antituberculos (eșec și deces) a fost mai mare la bolnavii cu disfuncție pulmonară restrictivă sau mixtă comparativ cu cei cu spirometrie normală (25,6% versus 6,8%, $p = 0,0007$ și respectiv 37,5% versus 6,8%, $p = 0,003$). În același timp, diferențele în ratele rezultatului negativ al tratamentului antituberculos la bolnavii cu disfuncție obstructivă comparativ cu cei cu spirometrie normală nu sunt nesemnificative (16,7% versus 6,8%, $p = 0,5$) (**Figura 6.1**).

La stratificarea bolnavilor după gradul de severitate a declinului CVF (considerată drept marker al severității restricției) bolnavii cu CVF între 59% - 40% au avut o rată mai mică a tratamentului de succes decât cei cu un CVF între 79% - 60% sau cei cu un CVF $\geq 80\%$, respectiv, 41,2% versus 80,0%, $p = 0,0001$ și 41,2% versus 87,2%, $p = 0,2$ (**Figura 6.2**). Rata rezultatelor negative ale tratamentului (eșec și deces) a fost mai mică la bolnavii cu CVF $\geq 80\%$ și la cei cu CVF între 79% - 60% în comparație cu bolnavii cu CVF 59% - 40%, (respectiv, 8,1% versus 40,0%, $p = 0,0003$ și

16,5% versus 40,0%, $p = 0,008$) și cei cu CVF < 40% (respectiv, 8,1% versus 47,1%, $p = 0,0001$ și 16,5% versus 47,1%, $p = 0,0009$) (**Figura 6.2**).

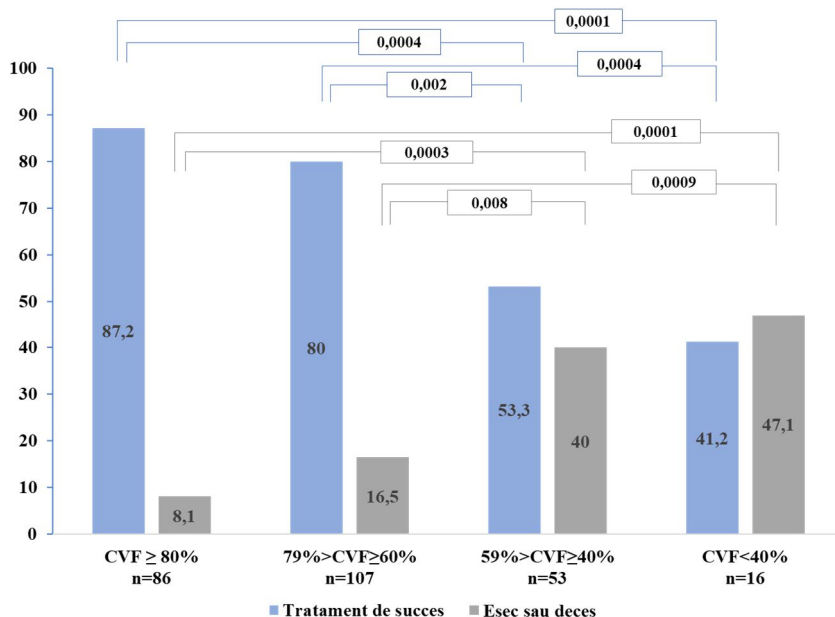


Figura 6.2 Rezultatele tratamentului stratificat după severitatea restricției (valorile p , care nu sunt indicate, sunt mai mari de 0,05)

Asocierea dintre tipul disfuncției pulmonare și rezultatele tratamentului antituberculos

Pe lângă diferențele în parametrii funcției pulmonare pacienții care au înregistrat tratament de succes s-au diferențiat de cei cu rezultat negativ al tratamentului și din perspectiva a astfel de variabile precum: vârsta, IMC, statutul pozitiv al microscopiei sputei, pattern-ul de multidrog rezistență și istoricul de tuberculoză. Pentru a testa asocierea independentă dintre acești factori și rezultatele tratamentului antituberculos a fost generat un model de regresie logistică multiplă, care a pus în evidență asocierea dintre disfuncția pulmonară de tip restrictiv (OR 4,19, 95%ÎÎ 1,60–13,28, $p = 0,007$), și cea de tip mixt (OR 5,46, 95%ÎÎ 1,28–24,44, $p = 0,02$) cu rezultatul negativ al tratamentului antituberculos (**Figura 6.3**). La fel, a fost confirmată asocierea

rezultatului negativ al tratamentului cu astfel de factori precum paternul MDR a tulpinii de *M. tuberculosis* (2,56, 95%ÎÎ 1,26–5,28, p=0,01) și recidiva bolii (2,54, 95%ÎÎ 1,12–5,70, p=0,02).

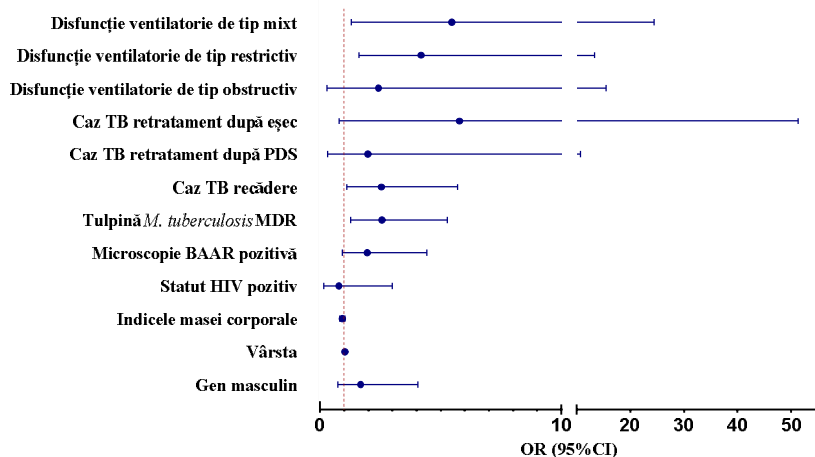


Figura 6.3 Asocierea dintre parametrii clinici și ai funcției pulmonare cu rezultatul negativ al tratamentului la bolnavii cu tuberculoză pulmonară (rezultatele analizei prin regresie logistică multiplă).

6.2 Evaluarea rezultatelor tratamentului tuberculozei multidrogrezistente

În acest compartiment al tezei au fost analizate două cohorte de bolnavi cu tuberculoză, prima cohortă integrală a pacienților cu tuberculoză MDR, care au inițiat tratamentul antituberculos pe parcursul la doi ani consecutivi (2013-2014) în cadrul Programului național de răspuns la tuberculoză din Republica Moldova (identificați în baza registrului național de notificare a cazurilor de tuberculoză SIME-TB) și cea de a doua constituită din toți bolnavii care au inițiat tratamentul pentru tuberculoza MDR în cadrul Dispensarului antituberculos din orașul Harkiv pe parcursul anului 2014. În cohortele enumerate, retrospectiv, au fost descrise rezultatele tratamentului aplicând două seturi de definiții, cel utilizat în mod curent (în corespondere cu recomandările OMS) și cel care presupune supravegherea

pot-terapeutică (definiții simplificate după TBNET), fiind evaluate potențiale avantaje ale ultimei abordări la aplicarea în cadrul sistemelor de îngrijiri medicale oferite bolnavilor de tuberculoză din Europa de Est.

Rezultatele tratamentului în cohorta din Republica Moldova

În perioada 2013-2014 în Republica Moldova au fost înregistrați 2012 bolnavi care au inițiat tratamentul pentru tuberculoza MDR. Dintre aceștia în studiu au fost incluși 1864 fiind excluse cazurile cu date lipsă privind statutul sputoculturii la termenul de 6 luni de tratament (n=78), cazurile pediatrice (n=19) și cele extrapulmonare (n=17).

Compararea rezultatelor tratamentului evaluate prin cele două seturi de definiții au pus în evidență o rată dublă a cazurilor de eșec la aplicarea supravegherii post-tratament în comparație cu evaluarea la finele tratamentului (evaluarea curentă) (respectiv 23,2% versus 11,7%). Această creștere are loc pe seama la 97 de cazuri care în evaluarea curentă au fost considerate ca vindecate (11,8% dintre toate cazurile calificate ca vindecate în evaluarea curentă) și 107 cazuri considerate inițial ca pierdute din supraveghere (19,5% dintre toate cazurile pierdute din supraveghere în baza evaluării curente). Recalificarea celor 97 de cazuri din vindecate în eșec a fost efectuată în baza lipsei conversiei sputoculturii la termenul de 6 luni de la debutul terapiei (n=24, 2,9% dintre toate cazuri calificate inițial ca vindecate) sau reversiei la sputocultură pozitivă după 6 luni de tratament (n=73, 8,8% dintre toate cazurile vindecate la evaluarea curentă). Cazurile de pierdere din supraveghere au fost recalificate în eșecuri datorită, statutului pozitiv al sputoculturii la termenul de 6 luni de la inițierea tratamentului (n=64, 18,6% dintre toate cazurile de pierdere din supraveghere conform evaluării curente) sau datorită rezultatului pozitiv al sputoculturii la reevaluarea pe parcursul primului an de la întreruperea tratamentului (n=43, 12,5% dintre toate cazurile pierdute din supraveghere la evaluarea curentă).

În cazul ratei de vindecare aceasta a fost similară la aplicarea celor două seturi de criterii de apreciere a rezultatelor tratamentului (43,9% versus 44,2%, **Figura 6.4**).

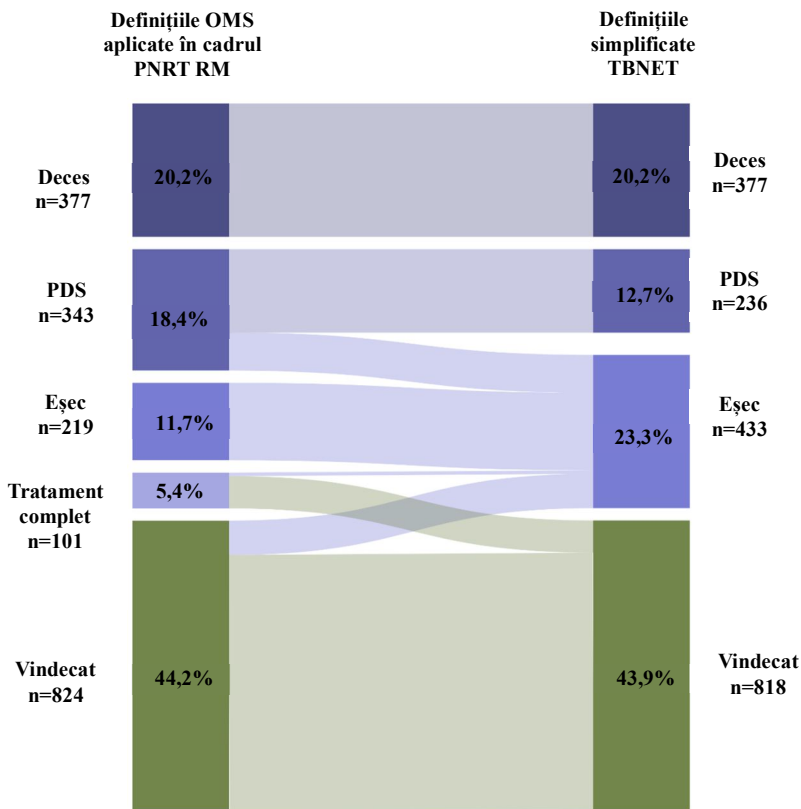


Figura 6.4 Rezultatele tratamentului tuberculozei MDR în cohorta din Republica Moldova apreciate după definițiile OMS (aplicate în mode curent) și definițiile simplificate TBNET (cu supraveghere post-terapie)

Rezultatele tratamentului în cohorta din Harikiv

Această cohortă a inclus 169 de cazuri de tuberculoză. Majoritatea bolnavilor incluși în cohortă (n=104, 61,5%) erau cazuri noi de boală. Ca și în cohorta moldovenească, aplicarea criteriilor de TBNET a dus la o redistribuire importantă a pacienților conform rezultatului tratamentului, trendul acestor modificări fiind similar cu cel din cohorta moldovenească (Figura 6.5).

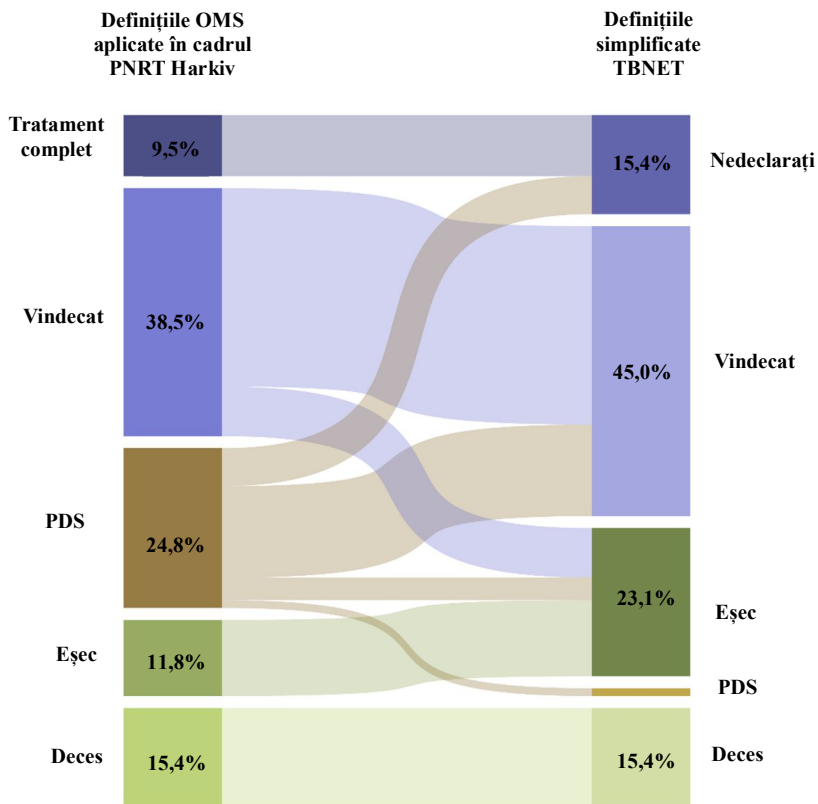


Figura 6.5 Rezultatele tratamentului tuberculozei MDR în cohorta 2014 în Dispensarul antituberculos nr.1 din Harkiv, Ucraina apreciate după definițiile OMS (aplicate în mod curent) și definițiile simplificate TBNET (cu supraveghere post-terapie)

Astfel, 24/42 (57,1%) dintre pacienții apreciați ca pierduți din supraveghere conform criteriilor curente de evaluare a tratamentului au fost calificați ca vindecați la aplicarea criteriile de evaluare simplificată după TBNET. Dintre bolnavii pierduți din supraveghere 6 au fost recalificați ca eșec, 6 nedeclarați și 2 au rămas în aceeași categorie (pierduți din supraveghere). La fel, toți bolnavii care au fost apreciați ca tratament încheiat

conform criteriilor curente de evaluare, nu s-au calificat pentru criteriile de vindecare conform definițiilor simplificate și au fost considerați nedeclarați. În același timp, 17 (26,1%) dintre cei 65 de pacienți calificați vindecați conform criteriilor curente de evaluare au fost considerați ca și eșecuri conform criteriilor simplificate.

CONCLUZII GENERALE ȘI RECOMANDĂRI

Concluzii

1. Nivelul limfocitelor T cu profil citokinic IL-2/IFN- γ ⁺ este crescut la bolnavii cu tuberculoză activă comparativ cu persoanele cu ITBL sau la cele cu tuberculoză vindecată, parametru care poate fi ușor determinat prin FluoroSpot, deși aplicarea în practica clinică a acestui biomarker nu oferă acuratețea necesară.
2. Citirea automatizată a frotiurilor microscopice în colorație fluorescentă cu auramină cu ajutorul dispozitivului Fluorobot posedă sensibilitate și specificitate comparabile cu cele obținute la citirea manuală de către un microscopist experimentat și poate fi cu succes aplicată pentru optimizarea lucrului personalului de laborator, în special în laboratoarele specializate cu volum mare a probelor analizate.
3. Implementarea Xpert MTB/Rif la nivel național în Republica Moldova a contribuit la reducerea semnificativă a întârzierii terapeutice la bolnavii adulți cu tuberculoză pulmonară multidrog rezistentă, aceasta devenind de 6 ori mai mică comparativ cu perioada de până la implementare.
4. Utilizarea specimenelor de aspirat bronșic la bolnavii cu tuberculoză pulmonară cu spută paucibacilară (BAAR și Xpert MTB/Rif negativă) permite adițional confirmarea microbiologică a diagnosticului la o pătrime dintre acești bolnavi.
5. Includerea bedaquilinei în schemele de tratament administrate în condițiile managementului programatic al bolnavilor cu tuberculoză MDR, inclusiv la cei cu eșec al tratamentului precedent, se asociază cu o rată mai mare și mai rapidă de conversie a sputei, o rată mai înaltă a tratamentului de succes și mortalitate mai redusă.

6. Rezistența la izoniazidă a tulpinilor multidrog rezistente de *M. tuberculosis* circulante în Republica Moldova este determinată de mutații în gena katG, izolat sau în combinație cu mutații în promotorul inhA, asociate cu un nivel înalt de rezistență față de acest medicament, fapt care periclitează administrarea empirică a izoniazidei în doze mari ca parte a schemelor de tratament în tuberculoza multidrogrezistentă.
7. Disfuncția pulmonară de tip restrictiv stabilită la momentul diagnosticului bolii la pacienții adulți cu tuberculoză pulmonară este un factor de risc independent asociat cu rezultatele negative (eșec sau deces) ale tratamentului antituberculos, cu un impact comparabil cu cel al rezistenței multiple la medicamente.
8. Supravegherea postterapeutică, inclusiv în condițiile managementului programatic al bolnavilor de tuberculoză multidrogrezistentă, permite o evaluare mai obiectivă din punct de vedere clinic a rezultatelor tratamentului antituberculos.

Recomandări

1. Aprecierea limfocitelor T în sângele periferic secretoare de IL-2/INF- γ ⁺ nu este recomandată pentru utilizarea în practica clinică pentru diagnosticul tuberculozei active sau diferențierea infecției tuberculoase latente de tuberculoza activă.
2. Pentru examinarea microscopică a frotiurilor de spută, colectate în scop diagnostic de la persoanele suspecte de tuberculoză pulmonară, în laboratoarele cu volum sporit de probe examinate (laboratoarele de referință regionale sau cel național) este recomandată utilizarea citirii automatizate a acestor frotiuri prin intermediul dispozitivelor robotizate de tip Fluorobot.
3. La bolnavii suspecti de tuberculoză pulmonară cu spută paucibacilară (BAAR și Xpert MTB/Rif negativă) pentru confirmarea microbiologică a tuberculozei pulmonare este recomandată examinarea microbiologică prin (Xpert MTB/Rif și cultură) a probelor de aspirat bronșic.
4. Pentru asigurarea inițierii în timp util a tratamentului antituberculos la bolnavii cu tuberculoză multidrogrezistentă, se recomandă asigurarea durabilă cu consumabile pentru testările moleculare-genetice de

diagnosticare rapidă a tuberculozei rezistente la rifampicină și celei multidrogrezistente.

5. Includerea în schemele individualizate de tratament a tuberculozei multidrog rezistente a bedaquilinei, de rând cu asigurarea aderenței la tratament a bolnavilor respectivi este recomandată la toți bolnavii fără rezistență demonstrată față de acest medicament.
6. Testarea, prealabil includerii în schemele de tratament a izoniazidei în doze mari, a mutațiilor genotipice asociate rezistenței față de acest medicament, este recomandată la toți bolnavii cu tuberculoză multidrogrezistentă care potențial urmează să primească izoniazida în doze terapeutice crescute.
7. Aprecierea funcției pulmonare prin spirometrie la bolnavii cu tuberculoză pulmonară, cu respectarea măsurilor de control al infecției, este recomandată în scopul identificării pacienților cu risc sporit de eșec al tratamentului, care potențial ar putea beneficia de intervenții de reabilitare respiratorie.
8. Monitorizarea postterapeutică pentru stabilirea rezultatelor finale ale tratamentului este recomandată la bolnavii cu tuberculoză tratați în cadrul programului național de răspuns la tuberculoză.

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

1. World Health Organization. Global tuberculosis report. În *Glob Tuberc Rep*, <https://www.who.int/teams/global-tuberculosis-programme/tb-reports/global-tuberculosis-report-2021> (2021, accessed 1 March 2022).
2. Uplekar M. et al. WHO's new End TB Strategy. În *Lancet* 2015, nr. 385, pp. 1799–1801. ISSN01406736.
3. Lange C. et al. Management of drug-resistant tuberculosis. În *Lancet* 2019, nr. 394, pp. 953–966.
4. Qin Z.Z. et al. How is Xpert MTB/RIF being implemented in 22 high tuberculosis burden countries? În *Eur Respir J* 2015, nr. 45, pp. 549–54. ISSN1399-3003.
5. Lisboa M. et al. Time delay and associated mortality from negative smear to positive Xpert MTB/RIF test among TB/HIV patients: A retrospective study 11 Medical and Health Sciences 1103 Clinical Sciences 11 Medical and Health Sciences 1117 Public Health and

- Health Services. În *BMC Infect Dis* 2019, nr. 19, pp. 18. ISSN14712334.
6. Catanzaro A. et al. Performance Comparison of Three Rapid Tests for the Diagnosis of Drug-Resistant Tuberculosis. În *PLoS One* 2015, nr. 10, pp. e0136861. ISSN1932-6203.
 7. Law Y.N. et al. Low cost automated whole smear microscopy screening system for detection of acid fast bacilli. În *PLoS One* 2018, nr. 13, pp. e0190988. ISSN1932-6203.
 8. Sudbury E.L. et al. Mycobacterium tuberculosis-specific cytokine biomarkers to differentiate active TB and LTBI: A systematic review. În *J Infect* 2020, nr. 81, pp. 873–881. ISSN1532-2742.
 9. Lange C. et al. Perspective for Precision Medicine for Tuberculosis. În *Front Immunol*, nr. 11. Epub ahead of print 2020. DOI: 10.3389/fimmu.2020.566608. ISSN16643224.
 10. Millington K.A. et al. Dynamic relationship between IFN-gamma and IL-2 profile of Mycobacterium tuberculosis-specific T cells and antigen load. În *J Immunol* 2007, nr. 178, pp. 5217–5226. ISSN0022-1767.
 11. World Health Organization. WHO consolidated guidelines on tuberculosis. Module 4, Treatment: drug-resistant tuberculosis treatment. pp. 98.
 12. Ahmad N. et al. Treatment correlates of successful outcomes in pulmonary multidrug-resistant tuberculosis: an individual patient data meta-analysis. În *Lancet* 2018, nr. 392, pp. 821–834. ISSN1474547X.
 13. Günther G. et al. Defining Outcomes of Tuberculosis (Treatment): From the Past to the Future. În *Respiration* 2021, nr. 100, pp. 843–852. ISSN0025-7931.
 14. Lange C. et al. Time to revise WHO-recommended definitions of MDR-TB treatment outcomes. În *Lancet Respir Med* 2018, nr. 6, pp. 246–248. ISSN2213-2619.

LISTA PUBLICAȚIILOR

1. Cărți de specialitate

1.1. Cărți de specialitate monoautor

1.1.1. CHESOV, D. *Tuberculoza diagnostic și tratament în era multidrog rezistenței*. Chișinău: Tip. „Print-Caro”. 2022. 224 p. ISBN 978-9975-82-302-9.

1.1.2. BOTNARU, V. et al. *Tuberculoza în cazuri clinice comentate*. Chișinău: Tip. „Balacron”. 2018 308 p. ISBN 978-9975-3255-4-7.

1.2. Cărți de specialitate colective

1.2.1. CHESOV, D., BOTNARU, V., Imaging for diagnosis and management of tuberculosis. In: *Tuberculosis (ERS Monograph)*. Sheffield: Editura „European Respiratory Society”. 2018. pp. 116–136. ISBN 978-1-84984-100-9.

2. Articol în reviste științifice

2.1. în reviste din bazele de date Web of Science și SCOPUS

2.1.1. MAIER, C., et al. Long-term treatment outcomes in patients with multidrug-resistant tuberculosis. In: *Lancet Infect Dis*. 2023, no. 23(4), pp. e122-e137. ISSN 1473-3099 (IF 46,75)

2.1.2. DOMÍNGUEZ, J., et al. Clinical implications of molecular drug resistance testing for Mycobacterium tuberculosis: a 2023 TBnet/RESIST-TB consensus statement In: *Int J Tuberc Lung Dis*. 2016, no. 20(1), pp. 24-42. ISSN 1027-3719. (IF 3,4).

2.1.3. CHESOV, E., et al. Emergence of bedaquiline resistance in a high tuberculosis burden country. In: *Eur Respir J*. 2022, no. 59, pp. 2100621. ISSN 0903-1936. (IF 33,8)

2.1.4. CHESOV, D., et al. Impact of bedaquiline on treatment outcomes of multidrug-resistant tuberculosis in a high-burden country. In: *Eur Respir J*. 2021, no. 57, pp. 2002544. ISSN 0903-1936 (IF 16,67).

2.1.5. CHESOV, D., et al. C. Impact of lung function on treatment outcome in patients with TB. In: *Int J Tuberc Lung Dis*. 2021; no. 25, pp. 277–284. ISSN 1027-3719. (IF 3,4)

2.1.6. MIGLIORI, G.B. et al. Clinical standards for the assessment, management and rehabilitation of post-TB lung disease. In: *Int J Tuberc Lung Dis*. 2021, no. 25, pp. 797–813. ISSN 1027-3719. (IF 3,4)

2.1.7. GÜNTHER, G. et al. Defining Outcomes of Tuberculosis (Treatment): From the Past to the Future. In: *Respiration*. 2021, no. 100, pp. 843–852. ISSN 0025-7931 (IF 3,96)

2.1.8. LANGE, C. et al. Perspective for Precision Medicine for Tuberculosis. In: *Front Immunol*. 2020, no.11, pp. 566608. DOI: 10.3389/fimmu.2020.566608. (IF 8,78)

2.1.9. WOLLENBERG, K. et al. 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 Infect Dis*. 2020, no. 20, pp 17. DOI: 10.1186/s12879-019-4739-z. (IF 3,09)

- 2.1.10. CHESOV, D. et al. High-dose isoniazid in the shorter-course multidrug-resistant tuberculosis regimen in the Republic of Moldova. In: *Eur Respir J*. 2017, no. 50(4), pp. 1701340. DOI: 10.1183/13993003.01340-2017 (IF 12,24)
- 2.1.11. CHESOV, D. et al. Lack of evidence of isoniazid efficacy for the treatment of MDR/XDR-TB in the presence of the katG 315T mutation. In: *Eur Respir J*. 50, no. 50(4), pp. 1701752. (IF 12,24)
- 2.1.12. DHEDA, K. et al. Clinical management of adults and children with multidrug-resistant and extensively drug-resistant tuberculosis. In: *Clin Microbiol Infect*. 2017, no. 23, pp. 131–140. (IF 4,18) ISSN 2327-5073.
- 2.1.13. CHESOV, D. Automated high-throughput digital fluorescence microscopy for TB diagnosis. In: *Int J Tuberc Lung Dis*. 2020, no. 24(10), pp. 1103-1105. (IF 1,92) DOI: 10.5588/ijtld.19.0811.
- 2.1.14. BUTOV, D. et al. Multidrug-resistant tuberculosis in the Kharkiv Region, Ukraine. In: *Int J Tuberc Lung Dis*. 2020, no. 24, pp. 485–491. ISSN 1027-3719. (IF 1,92)
- 2.1.15. LANGE, C. et al. Management of patients with multidrug-resistant tuberculosis. In: *Int J Tuberc Lung Dis*. 2019, no. 23(6), pp. 645-662. (1,60)
- 2.1.16. CHESOV, D. et al. Failing treatment of multidrug-resistant tuberculosis: A matter of definition. In: *Int J Tuberc Lung Dis*. 2019, no. 23(4), pp. 522-524. (IF 1,60)
- 2.1.17. LANGE, C. et al. Management of drug-resistant tuberculosis. In: *Lancet*. 2019, no. 394, pp. 953–966. ISSN 0140-6736 (IF 60,39)
- 2.1.18. LANGE, C. et al. Drug-resistant tuberculosis: An update on disease burden, diagnosis and treatment. In: *Respirology*. 2018, no.23(7), pp. 656-673. DOI: 10.1111/resp.13304. (IF 4,60).
- 2.1.19. BUTOV, D., et al. National survey on the impact of the war in Ukraine on TB diagnostics and treatment services in 2022. In: *Int J Tuberc Lung Dis*. 2023, no. 1, pp. 86-88. ISSN 1027-3719. (IF 2,01) .
- 2.1.20. CHESOV, D. et al. Combined antigen-specific interferon- γ and interleukin-2 release assay (FluoroSpot) for the diagnosis of Mycobacterium tuberculosis infection. In: *PLoS One*. 2015, no. 10(3), pp. e0120006. (IF 3,05).
- 2.1.21. CRUDU, V. et al. Nosocomial transmission of multidrug-resistant tuberculosis. In: *Int J Tuberc Lung Dis*. 2015, no. 19, pp. 1520–1523. ISSN 1027-3719. (IF 2,01).

2.2. în reviste din alte baze de date acceptate de către ANACEC

2.2.1. MUNTEANU, O. et al. Long-term follow-up: tuberculosis, bronchiectasis and chronic pulmonary aspergillosis. In: *Pneumologia*. 2019, no. 68, pp. 138–143. ISSN 2247-059.

2.3. în reviste din Registrul Național al revistelor de profil

2.3.1. BERNAZ, O. et al. Dificultăți în diagnosticarea atingerilor pulmonare la bolnavii imunocompromiși din infecța HIV. În: *Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științe Medicale*. 2021, nr. 69, pp. 223–229. ISSN 1857-0011

2.3.2. CHESOV, E. et al. Rezistența Mycobacterium tuberculosis la linezolid - mutații asociate și factori de risc: studiu transversal, retrospectiv, analitic. În: *Revista Științe ale Sănătății din Moldova*. 2021, nr. 26, pp. 43-56. ISSN 2345-1467.

2.3.3. CHESOV, D., MUNTEANU, O., ONEA, L. BOTNARU, V. Diagnosticul imagistic al tuberculozei respiratorii în era multidrogezistenței. În: *Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științe Medicale*. 2016, nr. 1(50), pp. 299-305. ISSN 1857-0011

2.3.4. BOTNARU, V., CHESOV, D., MUNTEANU, O. Verum aut Falsum Cavitas. În: *Moldovan Journal of Health Sciences* 2016, nr. 1, pp. 113-115. ISSN 2345-1467.

2.3.5. BOTNARU, V., MUNTEANU, O., CHESOV, D. Copacul înmugurit vestește nu doar primăvara. În: *Moldovan Journal of Health Sciences* 2015, nr. 3(1), pp. 82-85. ISSN 2345-1467.

3. Articole în lucrările conferințelor și altor manifestări științifice

3.1. în lucrările manifestărilor științifice incluse în bazele de date Web of Science și SCOPUS

3.1.1. CRUDU, V. et al. Diagnostic accuracy of molecular assays for drug susceptibility testing of M. tuberculosis using a raw sputum and isolates strains. In: *Eur Respir J*. 2022, no. 60, p. 2618.

3.1.2. CHESOV, E. et al. Genotypic diversity and drug resistance of Mycobacterium tuberculosis strains in the Republic of Moldova, 53rd Union World Conference on Lung Health. In: *Int J Tuberc Lung Dis*. 2022, no. 26 (11 S2), p. 24-838.

3.1.3. HILLERY, N. et al. Rapid detection of extensively drug-resistant tuberculosis in clinical samples using a novel tabletop platform: Protocol for a prospective clinical study. In: *JMIR Res Protoc*. 2021, no. 10, p. e26748.

3.1.4. CHESOV, D. et al. Role of bronchial aspirate samples for the

- diagnosis of pulmonary tuberculosis in patients with negative smear and negative Xpert MTB/Rif in sputum. In: *Eur Respir J.* 2020, no. 56, p. 530.
- 3.1.5. CHESOV, D. et al. Treatment outcome in patients with MDR-TB treated with bedaquiline containing regimens, Republic of Moldova. In: *Eur Respir J.* 2020, no. 56, p. 474.
- 3.1.6. CRUDU, V. et al. Discrepancy across phenotypic and genotypic results of drug susceptibility testing of mycobacterium tuberculosis. In: *Eur Respir J.* 2018, no. 52, PA3675. DOI: 10.1183/13993003.congress-2018.
- 3.1.7. CIOBANU, N. et al. The correlation between levels of phenotypic resistance and genotypic mutations of *M. tuberculosis*. In: *Инфекция и иммунитет.* 2018, no. 8, p. 655.
- 3.1.8. CRUDU, V. et al. The correlation of phenotypic and genotypic resistance of *Mycobacterium tuberculosis* on different levels of drug concentration In: *38th ESM Abstract Book 2017*, p.34
- 3.1.9. CRUDU, V. et al. Transmission of mycobacterium tuberculosis Ural 163-15 lineage causing multidrug-resistant tuberculosis among hospitalized patients. In: *Eur Respir J.* 2015, no. 46(S59), p. 2739.
- 3.1.10. CHESOV, D., LANGE, C., DADUNA, F., CRUDU, V., PREYER, R., ERNST, M., KALSDORF, B. Additional analysis of antigen-specific Interleukin-2 release does not improve the performance of IGRAs for the differentiation of different states of mycobacterium tuberculosis infection. In: *Eur Respir J.* 2014, no. 44, p. 3253.
- 3.1.11. CRUDU, V. et al. Trend in TB control in Republic of Moldova: High MDRTB burden country In: *Eur Respir J.* 2014, nr. 44 (S58), p. 1431. ISSN 0903-1936.
- 3.2. în lucrările manifestărilor științifice incluse în Registrul materialelor publicate în baza manifestărilor științifice organizate din Republica Moldova**
- 3.2.1. MUNTEANU, O. et al. Non-cystic fibrosis bronchiectasis and calcifications: are IGRAs of any use? În: *Congresul consacrat aniversării a 75-a de la fondarea Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu” din Republica Moldova.* Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie" Nicolae Testemițanu", 2020, p. 186.
- 3.2.2. CHESOV, D. et al. Role of the bronchial aspirate samples for the diagnosis of pulmonary tuberculosis. În: *Congresul consacrat*

aniversării a 75-a de la fondarea Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”. 2020, p. 279.

4. Alte lucrări și realizări specifice diferitor domenii științifice

4.1. Editoriale și comentarii

- 4.1.1. LANGE, C. et al. Sorry for the delay. *Clin Microbiol Infect* 2021; 27: 941–943.
- 4.1.2. CHESOV, D., MAKHANDA, G., FURIN, J. Tackling the many layers of stigma is essential for the “End TB Strategy”. *Int J Tuberc Lung Dis* 2021; 25: 683–684.
- 4.1.3. LANGE, C. et al. Challenging the management of drug-resistant tuberculosis. *Lancet* 2020; 395: 783–784.
- 4.1.4. CHESOV, D., LANGE C., HEYCKENDORF J. Molecular-based tuberculosis drug susceptibility testing: one size fits all? *Int J Tuberc Lung Dis* 2019; 23: 879–880.
- 4.1.5. LANGE, C., CHESOV, D., HEYCKENDORF, J. Clofazimine for the treatment of multidrug-resistant tuberculosis. *Clin Microbiol Infect*; 25. Epub ahead of print 2019. DOI: 10.1016/j.cmi.2018.11.010.
- 4.1.6. LANGE, C. et al. Revising the definition of extensively drug-resistant tuberculosis. *Lancet Respir Med* 2018; 6: 893–895.
- 4.1.7. DUDNYK, A., CHESOV, D., LANGE C. Mission impossible: The end TB strategy. *Int J Tuberc Lung Dis*; 22. Epub ahead of print 2018. DOI: 10.5588/ijtld.17.0842.
- 4.1.8. DUDNYK, A., et al. MDR-TB in Eastern Europe in the era of the TB elimination action framework. *Int J Tuberc Lung Dis*; 21. Epub ahead of print 2017. DOI: 10.5588/ijtld.16.0732.

ADNOTARE
Chesov Dumitru

”Optimizarea diagnosticului și eficientizarea tratamentului tuberculozei”
Teză de doctor habilitat în medicină, Chișinău, 2023

Structura tezei: introducere, șase capitole, concluzii, bibliografia din 307 surse, 29 de figuri, 17 de tabele, Rezultatele studiului au fost publicate în 51 de lucrări științifice.

Cuvinte cheie: TB, MDR, diagnostic de laborator, *M. tuberculosis*, tratament antituberculos.

Domeniul de studiu: Medicină generală. Pneumoftiziologie.

Scopul cercetării: Evaluarea intervențiilor clinice și de laborator cu potențial de optimizare a diagnosticului și de eficientizare a tratamentului bolnavilor de tuberculoză.

Obiectivele cercetării: Aprecierea eficacității determinării răspunsului celular periferic specific prin interferon- γ și interleukina-2 în diferențierea statutelor clinice ale infecției prin *M. tuberculosis*; Evaluarea acurateței diagnostice a citirii automatizate a frotiurilor de microscopie în colorație fluorescentă prin platforma Fluorobot în diagnosticul tuberculozei pulmonare la adulți; Determinarea impactului implementării tehnicii GeneXpert MTB/Rif asupra managementului terapeutic la bolnavii cu tuberculoză pulmonară multidrog rezistentă în Republica Moldova; Determinarea rolului evaluării specimenelor de aspirat bronșic în diagnosticul tuberculozei pulmonare la pacienții cu specimene paucibacilare ale sputei liber expectorate; Aprecierea eficacității includerii bedaquilinei în schemele de tratament al tuberculozei multidrog rezistente în condițiile managementului programatic al bolnavilor de tuberculoză; Evaluarea raționalității includerii izoniazidei în doze mari în schemele terapeutice utilizate la bolnavii cu tuberculoza multidrog rezistentă; Aprecierea impactului funcției respiratorii la momentul diagnosticului asupra rezultatelor tratamentului la bolnavii cu tuberculoză pulmonară; Evaluarea opțiunilor de apreciere a rezultatelor tratamentului la bolnavii de tuberculoză.

Noutatea și originalitatea științifică. Noutatea cercetării este dată de evaluarea eficacității aplicării de noi biomarkeri (profilul citokinic IL-2/INF- γ al limfocitelor din sângele periferic), specimene alternative (aspirat bronșic) și soluții tehnologice originale (FluoroSpot, Fluorobot, Xpert MTB/Rif) în scopul diagnosticării infecției tuberculoase în practica clinică. La fel, noutatea studiului este asigurată de aprecierea eficacității și/sau raționalității aplicării în condițiile clinice de rutină din cadrul sistemului de sănătate din Republica Moldova a unor medicamente noi precum bedaquilina sau dozelor mari de izoniazidă, de rând cu identificarea de noi factori predictivi ai eficacității tratamentului antituberculos și aplicării unor abordări mai obiective, din punct de vedere clinic, în aprecierea rezultatelor tratamentului antituberculos.

Rezultatele noi pentru știință și practică: Fluorospot - ul reprezintă o metodă alternativă pentru diagnosticul infecției tuberculoase latente cu acuratețe

diagnostică similară cu cea a tehnicilor EliSpot-IGRA; Aplicarea tehnologiilor pe bază de deep learning algorithm precum Fluorobotul permite citirea automatizată a frotiurilor microscopice în colorație fluorescentă cu o acuratețea comparabilă cu cea obținută la citirea manuală; Aplicarea la scară națională a tehnicii Xpert MTB/Rif în diagnosticul tuberculozei a permis reducerea întârzierii terapeutice de 6 ori la bolnavii cu tuberculoză pulmonară MDR; Utilizarea specimenelor de aspirat bronșic testate prin teste molecular-genetice (Xpert MTB/Rif) la bolnavii cu tuberculoză pulmonară cu paucibacilaritate înaltă (microscopie și Xpert MTB/Rif negative în probele de spută liber expectorată) permite confirmarea microbiologică adițională la o pătrime dintre acești bolnavi.; Bedaquilina utilizată în schemele de tratament la bolnavii cu tuberculoză MDR, inclusiv la cei cu eșec a tratamentelor anterioare, în condițiile oferirii îngrijirilor medicale în mod programatic asigură o rată înaltă de vindecare și reducerea mortalității; Rezistența față de izoniazidă la bolnavii cu tuberculoză MDR în Republica Moldova este în majoritatea covârșitoare a cazurilor determinată de mutații în gena katG (asociate cu niveluri înalte ale concentrațiilor minime inhibitorii față de acest medicament), fapt care exclude administrarea empirică a dozelor mari de izoniazidă (15-20 mg/kg) în schemele de tratament la acești bolnavi; Pattern-ul restrictiv al funcției pulmonare la bolnavii cu tuberculoză pulmonară, apreciat la inițierea tratamentului antituberculos, este un factor predictiv negativ, potențial modificabil, al rezultatelor tratamentului la bolnavii de tuberculoză; Aprecierea rezultatelor tratamentului antituberculos după o perioadă de supraveghere post terapie reprezintă o abordare mai rațională din punct de vedere clinic de evaluare a tratamentului antituberculos, fezabilă în condițiile de îngrijire programatică a bolnavilor de tuberculoză.

Semnificația teoretică. Cercetarea oferă argumentarea teoretică necesară luării deciziilor de optimizare a algoritmilor diagnostice curente de confirmare a infecției tuberculoase prin includerea potențială în acestea a testelor serologice de apreciere a INF- γ și IL-2 secretate de limfocitele T, citirii automatizate a frotiurilor de microscopie în colorație fluorescentă și testării prin teste molecular-genetice a specimenelor de aspirat bronșic la bolnavii cu spută paucibacilară. Argumentarea intervențiilor menționate poate fi efectuată din perspectiva sensibilității, specificității, raportului de probabilitate pozitivă și cel de probabilitate negativă demonstrate în prezenta lucrare. La fel, a fost argumentat impactul implementării la nivel național a tehnicii Xpert MTB/Rif prin aprecierea efectului global asupra reducerii întârzierii terapeutice la bolnavii cu tuberculoză pulmonară MDR. În cardul evaluării intervențiilor de eficientizare a tratamentului antituberculos a fost argumentată eficacitatea includerii în schemele de tratament în condiții programatice la bolnavii cu tuberculoză MDR a bedaquilinei prin demonstrarea unei rate de vindecarea mai mare și a mortalității mai reduse la utilizarea acestui medicament precum și ineficacitatea includerii empirice (fără aprecierea determinatei genetice) a izoniazidei în doze mari în schemele de tratament la bolnavii cu tuberculoză MDR.

În același context, a fost argumentată raționalitatea și fezabilitatea supravegherii postterapeutice în evaluarea rezultatelor tratamentului antituberculos.

Valoarea aplicativă. Aplicarea intervențiilor evaluate în cadrul lucrării permite reducerea întârzierii diagnostice la bolnavii cu tuberculoză pulmonară MDR, creșterea semnificativă a confirmării microbiologice a tuberculozei pulmonare la bolnavii cu spută paucibacilară, precum și optimizarea citirii frotiurilor de microscopie în colorație fluorescență. La fel, utilizarea soluțiilor terapeutice evaluate sunt eficiente în creșterea vindecării și reducerea ratei de mortalitate la bolnavii cu tuberculoză MDR, precum și evitarea tratamentelor neargumentate cu doze mari de izoniazidă cu potențial efect hepatotoxic la acești bolnavi. Utilizarea aprecierii eficacității tratamentului după supravegherea post-tratament oferă o evaluare mai obiectivă din punct de vedere clinic al eficacității terapeutice.

Implementarea rezultatelor științifice. Recomandările studiului sunt utilizate în procesul didactic de pregătire a cadrelor medicale la Disciplina de Pneumologie și Alergologie, precum și în secțiile de fiziopneumologie a IMSP IFP “Chiril Draganiuc”. Au fost înregistrate 3 certificate de inovator și 3 acte de implementare a rezultatelor.

АННОТАЦИЯ

Кесов Думитру

"Оптимизация диагностики и повышение эффективности лечения туберкулеза"

Диссертация доктора наук в области медицины, Кишинев, 2023 г.

Структура диссертации: введение, шесть глав, выводы, библиография из 307 источников, 29 рисунков, 17 таблиц, результаты исследования опубликованы в 51 научной работе.

Ключевые слова: ТБ, МЛУ, лабораторная диагностика, *M. tuberculosis*, противотуберкулезное лечение.

Область исследования: Общая медицина. Фтизиопульмонология.

Цель исследования: Оценка клинических и лабораторных вмешательств, способных оптимизировать диагностику и улучшить лечение больных туберкулезом.

Задачи исследования: Оценить эффективность определения специфического ответа интерферона- γ и интерлейкина-2 периферических клеток в дифференциации клинического статуса *M. tuberculosis*; Оценить диагностическую точность автоматизированного чтения мазков в флуоресцентном окрашивании с помощью платформы Fluorobot в диагностике туберкулеза легких у взрослых; Определить влияние внедрения методики GeneXpert MTB/Rif на ведение пациентов с множественно лекарственно устойчивым туберкулезом легких в Республике Молдова; Определить роль оценки образцов бронхиального аспирата в диагностике туберкулеза легких у пациентов с малобацилярной мокротой; Оценка эффективности включения бедакиллина в схемы лечения туберкулеза с множественной лекарственной

устойчивостью в контексте программного ведения больных туберкулезом; Оценка рациональности включения высоких доз изониазида в схемы лечения пациентов с туберкулезом с множественной лекарственной устойчивостью; Оценка влияния параметров респираторной функции на результаты лечения пациентов с туберкулезом легких; Оценка разных подходов определения результатов лечения у пациентов с туберкулезом.

Научная новизна и оригинальность. Новизна исследования заключается в оценке эффективности применения новых биомаркеров (IL-2/INF- γ цитокиновый профиль лимфоцитов периферической крови), альтернативных образцов (бронхиальный аспират) и оригинальных технологических решений (FluoroSpot, Fluorobot, Xpert MTB/Rif) для диагностики туберкулезной инфекции в клинической практике. Также новизна исследования заключается в оценке эффективности и/или рациональности применения в повседневных клинических условиях в рамках системы здравоохранения Республики Молдова новых препаратов, таких как бедакилин или изониазида в высоких дозах. В том числе новизна обусловлена выявлением новых предикторов эффективности противотуберкулезного лечения и применением более объективных, с клинической точки зрения, подходов в оценке результатов противотуберкулезного лечения.

Новые результаты для науки и практики: Fluorospot представляет собой альтернативный метод диагностики латентной туберкулезной инфекции с диагностической точностью, сходной с точностью методов EliSpot-IGRA; Применение технологий на основе алгоритмов глубокого обучения, таких как Fluorobot, позволяет автоматизированное чтение микроскопических мазков в флуоресцентном окрашивании с точностью, сравнимой с точностью, получаемой при «ручном» чтении; Общенациональное внедрение метода Xpert MTB/Rif в диагностике туберкулеза позволило в 6 раз сократить задержку терапии у пациентов с МЛУ туберкулезом легких; Использование образцов бронхиального аспирата, протестированных молекулярно-генетическими тестами (Xpert MTB/Rif) у пациентов с туберкулезом легких малобацилярной мокротой (микроскопия и Xpert MTB/Rif отрицательны) позволяет получить дополнительное микробиологическое подтверждение заболевания у четверти этих пациентов; Использование бедакилина в схемах лечения пациентов с МЛУ ТБ, включая тех, кто ранее не получал лечения, при программном оказании помощи обеспечивает высокий процент излечения и снижение смертности; Резистентность к изониазиду у больных МЛУ ТБ в Республике Молдова в подавляющем большинстве случаев обусловлена мутациями в гене katG (ассоциированными с высокими уровнями минимальных ингибирующими концентрациями этого препарата), что исключает эмпирическое назначение высоких доз изониазида (15-20 мг/кг) в схемах лечения этих пациентов; Рестриктивный паттерн функции легких у пациентов с туберкулезом легких, оцененный в начале противотуберкулезного лечения,

является потенциально модифицируемым негативным предиктором результатов лечения пациентов с туберкулезом; Оценка результатов противотуберкулезного лечения после периода постлечебного наблюдения является более клинически рациональным подходом в оценке противотуберкулезного лечения, осуществимым в условиях программного ведения пациентов с туберкулезом.

Теоретическая значимость. Исследование дает теоретическое обоснование для принятия решений по оптимизации текущих диагностических алгоритмов подтверждения туберкулезной инфекции путем потенциального включения серологических анализов для оценки INF- γ и IL-2, секретируемых Т-лимфоцитами, автоматизированного чтения микроскопии мазков в флуоресцентной окраски, и молекулярно-генетического тестирования образцов бронхиального аспирата у пациентов с малобациллярной мокротой. В представленной работе аргументация указанных вмешательств проведена с точки зрения чувствительности, специфичности, отношении правдоподобия положительного и отрицательного результатов. Также, в диссертации было доказанно положительный эффект общенационального внедрения метода Xpert MTB/Rif на ведение больных с туберкулезом путем оценки общего влияния на снижение задержки терапии у пациентов с МЛУ туберкулезом. При оценке мероприятий по повышению эффективности лечения туберкулёза эффективность таких как включения бедакилина в схемы лечения в программных условиях у больных с МЛУ туберкулезом были доказанны более высокая частота излечения и более низкая смертность при использовании этого препарата, а также неэффективность, эмпирического включения (без оценки генетических детерминант), высоких доз изониазида в схемы лечения больных МЛУ туберкулёзом. В этом же контексте была аргументирована рациональность и целесообразность постлечебного наблюдения при оценке результатов лечения туберкулёза.

Практическое значение. Внедрение интервенций, исследованных в данной работе, позволяет сократить диагностическую задержку у пациентов с МЛУ туберкулезом легких, значительно увеличить микробиологическое подтверждение туберкулеза легких у пациентов с малобациллярной мокротой и оптимизировать чтение микроскопии мазков в флуоресцентной окраске. Также, использование исследованных терапевтических вмешательств эффективно для увеличения излечения и снижения смертности у пациентов с МЛУ туберкулёзом, а также позволяет избежать неоправданного лечения высокими дозами изониазида с потенциальным гепатотоксическим эффектом у больных туберкулёзом. Использование оценки эффективности лечения после постлечебного наблюдения обеспечивает более объективную, с клинической точки зрения, оценку эффективности лечения.

Внедрение результатов. Научно-практические результаты исследования используются в учебном процессе на Кафедре Пульмонологии и

Аллергологии ГУМФ «Николае Тестемицану», а также в отделениях Института фтизиопульмонологии "Кирилл Драганюк". По результатам работы зарегистрировано 3 сертификата рационализации и 3 акта внедрения результатов.

SUMMARY

Chesov Dumitru

"Optimisation of the diagnosis and improvement of the treatment of tuberculosis"

Thesis of doctor habilitatus in medicine, Chisinau, 2023

Thesis structure: introduction, six chapters, conclusions, bibliography containing 307 sources, 29 figures, 17 tables, results of the study were published in 51 scientific papers.

Keywords: TB, MDR, laboratory diagnosis, *M. tuberculosis*, antituberculosis treatment.

Field of study: General medicine. Pulmonology.

Research aim: Evaluation of clinical and laboratory interventions with the potential to optimise diagnosis and to improve treatment of tuberculosis patients.

Research objectives: To assess efficacy of assessment of the interferon- γ and interleukin-2 peripheral cell response in differentiating the clinical statuses of *M. tuberculosis* infection; To assess the diagnostic accuracy of automated reading by Fluorobot platform of the fluorescent stained smears in the diagnosis of pulmonary tuberculosis in adults; To determine the impact of the implementation of GeneXpert MTB/Rif technique on the therapeutic management of patients with multidrug-resistant pulmonary tuberculosis in the Republic of Moldova; To determine the role of bronchial aspirate specimen evaluation in the diagnosis of pulmonary tuberculosis in patients with paucibacillary free expectorated sputum specimens; To assess the effectiveness of including bedaquiline in multidrug-resistant tuberculosis treatment regimens in the conditions of programmatic management of tuberculosis patients; To assess the rationality of including high-dose isoniazid in treatment regimens used in patients with multidrug-resistant tuberculosis in the Republic of Moldova; To determine the impact of respiratory function assessed at diagnosis on treatment outcomes in patients with pulmonary tuberculosis; To evaluate alternative approaches in assessment of treatment outcomes in tuberculosis patients.

Scientific novelty and originality. The novelty of the research is given by the evaluation of the efficacy of applying new biomarkers (IL-2/INF- γ cytokine profile of peripheral blood lymphocytes), alternative specimens (bronchial aspirate) and original technological solutions (FluoroSpot, Fluorobot, Xpert MTB/Rif) for the diagnosis of tuberculosis infection in clinical practice. Similarly, the novelty of the study is provided by the assessment of the effectiveness and/or rationality of the application in routine clinical conditions in the health system of the Republic of Moldova of new drugs such as bedaquiline or high-dose isoniazid, together with the

identification of new predictors of the effectiveness of antituberculosis treatment and the application of more objective approaches, from a clinical point of view, in the assessment of antituberculosis treatment outcomes.

New results for science and practice: Fluorospot represents an alternative method for the diagnosis of latent tuberculosis infection with diagnostic accuracy similar to that of EliSpot-IGRA techniques; Application of deep learning algorithm-based technologies such as Fluorobot allows automated reading of microscopic smears in fluorescent staining with an accuracy comparable to that obtained at manual reading; Nationwide application of the Xpert MTB/Rif technique in the diagnosis of tuberculosis has allowed a 6-fold reduction in therapeutic delay in patients with MDR pulmonary tuberculosis; The use of bronchial aspirate specimens tested by molecular-genetic tests (Xpert MTB/Rif) in patients with pulmonary tuberculosis with highly paucibacillary sputum (microscopy and Xpert MTB/Rif negative) allows additional microbiological confirmation in a quarter of these patients; Bedaquiline used in treatment regimens in patients with MDR tuberculosis, including those with previous treatment failure, under programmatic care delivery ensures a high cure rate and reduced mortality; Resistance to isoniazid in MDR tuberculosis patients in the Republic of Moldova is overwhelmingly due to mutations in the *katG* gene (associated with high levels of minimum inhibitory concentrations against this drug), which precludes empirical administration of high doses of isoniazid (15-20 mg/kg) in treatment regimens for these patients; Restrictive pattern of pulmonary function in patients with pulmonary tuberculosis, assessed at initiation of antituberculosis treatment, is a potentially modifiable negative predictor of treatment outcome in patients with tuberculosis; Assessment of antituberculosis treatment outcome after a period of post-therapy surveillance is a more rational approach to antituberculosis treatment evaluation, feasible in conditions of programmatic care of tuberculosis patients.

Theoretical significance. The research provides the rationale for decisions on optimisation of current diagnostic algorithms on diagnosis of *M. tuberculosis* infection by potentially including serological assays to assess INF- γ and IL-2 secreted by T lymphocytes, automated reading of microscopy of fluorescent stained smears and molecular-genetic testing of bronchial aspirate specimens in patients with paucibacillary sputum. Argumentation of the mentioned interventions is done considering sensitivity, specificity, positive and negative likelihood ratios. Similarly, the impact of the nationwide implementation of the Xpert MTB/Rif technique has been argued by assessing the overall effect on reducing therapeutic delay in patients with MDR pulmonary tuberculosis. In the evaluation of interventions for the improvement of tuberculosis treatment, was argued the effectiveness of including bedaquiline in treatment regimens under programmatic conditions in MDR tuberculosis patients by demonstrating a higher cure rate and lower mortality when using this drug, and the ineffectiveness of empirical inclusion (without assessment of genetic determinants) of high-dose isoniazid in treatment regimens in MDR

tuberculosis patients. In the same context, the rationality and feasibility of post-therapy surveillance in assessing TB treatment outcomes was argued.

Applicative value. The application of the interventions evaluated in this work allows to reduce the diagnostic delay in patients with MDR pulmonary tuberculosis, to significantly increase the microbiological confirmation of pulmonary tuberculosis in patients with paucibacillary sputum, and to optimize the reading of fluorescent stained smears. Likewise, the use of the evaluated therapeutic solutions has been shown to be effective in increasing cure rate and reducing mortality rate in MDR tuberculosis patients, as well as avoiding empirical use of high-dose isoniazid treatments with potential hepatotoxic effect in these patients. The use of treatment assessment after post-treatment surveillance provides have been shown to be more , from clinical point of view, for the assessment of therapeutic efficacy.

Implementation of scientific results. The theoretical and practical results of the study are used in training of medical students at the Department of Pulmonology and Allergology, as well as in the departments of "Chiril Draganiuc" Phtisiopneumology Institute. There were registered 3 certificates of innovator and 3 acts of implementation of results.

DUMITRU CHESOV

**OPTIMIZAREA DIAGNOSTICULUI ȘI EFICIENTIZAREA
TRATAMENTULUI TUBERCULOZEI**

321.07 - FTIZIOPNEUMOLOGIE

Rezumatul tezei de doctor habilitat în științe medicale

Aprobat spre tipar:2023

Formatul hârtiei

Hârtie ofset. Tipar digital

Tiraj

Coli de tipar:

Comanda nr.

Tipografia

mun. , str.

tel.: