**Rezumat**

**la Proiectul de cercetare științifică aplicativ instituțional “Optimizarea diagnosticului rapid al cazurilor de tuberculoză rezistentă prin perfecționarea metodelor de testare a sensibilității”** **pentru anii 2015 - 2018**

Cifrul Proiectului 15.817.04.27A. Direcția Strategică **,,Sănătate şi Biomedicină'' 80.07.**

Director proiect: Valeriu Crudu, dr. în șt med., conf. cercetător

Strategiile actuale in controlul tuberculozei (TB), solicită diagnosticarea precoce și tratamentul prompt al tuturor persoanelor cu orice formă de TB sensibilă sau rezistente la medicamente. Gestionarea eficientă a pacienților cu tuberculoză multirezistentă și cu rezistență extinsa la medicamente (MDR/XDR-TB) se bazează pe diagnosticul rapid și tratamentul corect al cazurilor de infecții rezistente. Metodele fenotipice de testare a sensibilității *M.tuberculosis* la medicamente (TSM) sunt în prezent standardul de aur pentru detectarea rezistenței, deși aceste metode consumă mult timp; necesită infrastructură de laborator sofisticată, personal calificat și mecanisme stricte de asigurare a calității. Necesitatea determinării sensibilității *M.tuberculosis complex* către preparatele antituberculoase este indiscutabilă. La etapa actuală în lume nu există o singură metodă, care ar corespunde majorității cerințelor la zi în depistarea și monitorizarea rezistenței antituberculoase.

Perfecționarea metodelor existente de testare a sensibilității la medicamente (TSM) a agentului patogen cu scopul obținerii unor informații adăugătoare, care să ofere posibilitatea unui diagnostic rapid și corect al cazurilor cu diferite nivele de rezistență, este de o importanță majoră. Pentru cazurile cu discrepanțe ale rezultatelor TSM fenotipice și moleculare, ar trebui să fie disponibile în plus informații despre nivelul de rezistență și / sau genele și tipurile de mutații. Utilizarea a mai multor concentrații la testarea sensibilității către preparatele specifice, oferă informații adăugătoare, care vor face posibil ajustarea schemelor de tratament, fiind posibilă utilizarea unor preparate strategice pentru unii pacienți la care M.tb reprezintă cu o rezistență joasă.

In studiul dat sa demonstrat că, tulpinile M.tuberculosis rezistente către Izoniazidă (CMI 0,2 µg/ml) au fost sensibile la concentrațiile mai mari (5.0 și 10.0 µg/ml) în 24% si 30.6% cazuri. Tulpinile M.tuberculosis rezistente către Rifampicină la CMI 40,0 mg/l de asemenea au fost sensibile la concentrațiile mari (80și 120µg/ml) în 15% si 16.3% cazuri.

Testele moleculare pot arăta rezultate discordante în raport cu rezultatele TSM fenotipice bazate pe metoda concentrațiilor absolute. Mai mult de 95% din tulpinile rezistente la Rifampicina (RMP) au mutații în segmentul 81-pb al genei rpoB. Mutațiile *rpoB, codonul* S531L și H526Y/D conferă rezistență de nivel înalt la toate rifamycinele, cu dovezi puternice, directe și indirecte, de asociere cu rezistența clinică.

In studiul prezent, mutația rpoB, codonul S531L și H526Y/D, care conferă rezistență de nivel înalt la Rifampicină, sa depistat la 85.7% din tulpinile M.tb cercetate, și numai în 2.4% cazuri sa depistat mutația rpoB, codonul D516, care conferă rezistență joasă. Tot odată, mai mult de 1/3 din tulpinile cu mutația D516, sau dovedit a fi sensibile la concentrații înalte a RIF la testarea fenotipică.

Deși 90% din tulpinile rezistente la RMP sunt rezistente și la INH, testarea moleculară pentru INH rezistentă la medicamente este importantă. În primul rând, oferă posibilitatea de a adaugă INH la un tratament cu medicamente din linia a doua, în cazurile când este absentă mutația katG315. În al doilea rând, implicările rezistenței la RMP sunt diferite, dacă sunt însoțite de rezistență la INH. Care rezultate ale testărilor moleculare ale rezistenței la Izoniazidă ar trebui să influențeze deciziile legate de tratament? Sistemele de hibridizare pe bandă (Line Probe Assay-LPA) disponibile în prezent detectează mutațiile în gena inhA pozițiile 16, 15 și 8, și katG codonul 315. Mutația katGS315T conferă o rezistență înaltă la INH (MIC 1mg/l), dar nu afectează sensibilitatea la Etionamidă (ETH.). Dovezi indirecte sugerează că rezistența la nivel înalt afectează rezultatele clinice. Datele limitate privind asocierea directă între mutația katGS315T și rezultatele clinice sugerează un risc sporit de eșec al tratamentului, decese și recidive după tratamentul unor astfel de pacienți cu preparate de linia 1. În cazul mutației katGS315T, INH ar trebuiexclusă din schema de tratament. Comparativ cu katGS315T, promotorul mutației inhA conferă un nivel scăzut de rezistență la INH (MIC 1mg/l), însă afectează semnificativ sensibilitatea la ETH. Date limitate, directe și indirecte, nu sugerează nici un efect asupra ratelor de vindecare pentru tratamentul standard cu preparate de linia 1. În cazul promotorului mutației inhA, ar putea fi administrată INH - de preferința în doze mari (15–20 mg/kg greutate corporală)—în combinație cu alte medicamente. În cazul promotorului mutației inhA, nivelul de rezistență ar trebui să fie confirmat prin metode fenotipice.

Rezultatele obținute în lucrarea dată au demonstrat, că mutațiile katG315 care conferă rezistență de nivel înalt la Izoniazidă, sau depistat la 88.2% din tulpinile M.tb cercetate, și numai în 2.9% cazuri sa depistat mutația inhA, care conferă rezistență joasă. Tot odată, mai mul de 1/3 din tulpinile cu mutația inhA, sau dovedit a fi sensibile la concentrații înalte a INH la testarea fenotipică.

Astfel, rezultatele studiului indică, că la toți pacienții etiologic confirmați cu *M.tuberculosis*, cu o mutație rpoB, codonul *S531L și H526Y/D,*  într-un specimen direct sau în cazul în care TSM fenotipic indică TB-MDR, trebuie utilizată o metodă moleculară pentru testarea rezistenței la medicamentele de linia a doua pentru a ghida tratamentul și a reduce timpul de diagnosticare a TB-XDR. Ori de câte ori testarea moleculară permite, rezultatele ar trebui să fie raportate cu mutațiile specifice detectate și cu descrierea implicațiilor clinice ale prezentei mutației.