

RECEPȚIONAT

Ministerul Educației și Cercetării

_____ 2025

AVIZAT

Secția AȘM _____

_____ 2025

IMSP Institutul de Pneumologie „Chiril Draganiuc”

(denumirea organizației de drept public din domeniile cercetării și inovării)

IMSP Institutul de Pneumologie „Chiril Draganiuc” (12)

(denumirea unității de cercetare)

RAPORT ȘTIINȚIFIC ANUAL

pentru etapa 2024

**privind realizarea subprogramului de cercetare în cadrul
programului instituțional de cercetare al organizației (2024-2027)**

Titlul subprogramului **Evoluția, transmisia și controlul tuberculozei rezistente la
medicamente**

Prioritatea strategică I. Sănătate

Codul subprogramului 120103

Directorul instituției

Doina RUSU

Coordonatorul subprogramului
de cercetare

Valeriu CRUDU

Chișinău, 2025

CUPRINS:

1.	Scopul și obiectivele etapei 2024	3
2.	Acțiunile planificate pentru etapa 2024	3
3.	Acțiunile realizate în 2024	3
4.	Rezultatele obținute	3
5.	Impactul științific, social și/sau economic al rezultatelor științifice obținute	5
6.	Diseminarea rezultatelor obținute în subprogram în formă de publicații	5
7.	Colaborare la nivel național și internațional	5
8.	Dificultăți în realizarea subprogramului	5
9.	Concluzii	6

1. Scopul și obiectivele etapei 2024

Scopul: Compararea evoluției și expansiunii *M. tuberculosis* rezistente, lineage Beijing și Ural, în ultimul deceniu în Republica Moldova.

Obiective

1. Evaluarea rezultatelor secvențierii genomului *m.tuberculosis* la nivel național
2. Distribuirea geografică a genotipurilor *M.tuberculosis*
3. Studiarea discrepanțelor dintre rezultatele testării sensibilității *M. tuberculosis* către medicamente prin metode fenotipice și genotipice.

2. Acțiunile planificate pentru etapa 2024

1. Colectarea și analiza datelor demografice, clinice și microbiologice a pacienților cu rezultate de secvențiere a genomului Mtb.
2. Studiarea distribuției geografice a genotipurilor *M. tuberculosis* la nivel național
3. De a efectua testări a sensibilității *M. tuberculosis* către medicamente prin metode fenotipice și genotipice și de a analiza comparativ rezultatele.

3. Acțiunile realizate în 2024

Au fost analizate datele obținute în rezultatul secvențierii genomului *M.tuberculosis* la nivel național la cazurile de tuberculoză cu cultură pozitivă diagnosticate pe parcursul a 10 ani (2010-2019) în Republica Moldova pentru a determina predominarea tipurilor de genotipuri a *M. tuberculosis* în țară. S-a studiat tulpinile de *M. tuberculosis* izolate de la pacienții cu tuberculoză din diferite teritorii a republicii în Banca Națională a *M.tuberculosis* (BNM) din Laboratorul Național de Referință în microbiologia tuberculozei (LNR) a Institutului de Ftiziopneumologie "Chiril Draganiuc". În total s-a studiat 6473 de tulpini de *M. tuberculosis*, inclusiv 3665 tulpini sensibile și 2808 tulpini rezistente. Din totalul de tulpini, 4174 tulpini *M.tuberculosis*, au fost colectate în perioada 2010-2017, dintre care 2191 tulpini au fost sensibile și 1985 rezistență la preparatele antituberculoase. Pentru perioada 2018-2019 au fost colectate și incluse în studiu toate culturile pozitive prin cultură de la pacienții cu tuberculoză din toate teritoriile republicii, care constituit 2299 pacienți dintre care 64,1% (n=1474) au fost pacienți cu tulpini sensibile și 35,9% (n=825) cu *M. tuberculosis* rezistentă minim la Rifampicină. Testarea rezistenței fenotipice a *M. tuberculosis* s-a efectuat prin metode microbiologice clasice pe medii solide (Lowenstein-Jensen) și pe medii lichide (Middlebrook 7H9) în sistemul BACTEC MGIT-960 în combinație cu soft-ul EpiCenter echipat cu modulul TBeXiST. Pentru evaluarea rezistenței genotipice și spectrul de mutații responsabile de rezistența la diferite preparate au fost utilizate metode molecular genetice GenoType MTBDR*plus* & *sl.*, de asemenea, și rolul diferitor mutații responsabile de rezistență. A fost extras ADN-ul *M. tuberculosis* și, ulterior, secvențiat întregului genom (WGS) la Universitatea Yale (SUA). După obținerea tipurilor de tulpini a fost studiată distribuția geografică a genotipurilor *M. tuberculosis* la nivel de țară.

4. Rezultatele obținute

Conform datelor obținute, cel mai frecvent printre tulpinile studiate au fost depistate tulpinile *M.tuberculosis* genotipul Beijing (Lineage 2.2.1) – 38.2% (n=1596) și Ural (Lineage 4.2.1) – 30,6 (n=1278). Totodată se constată o distribuire diferită a tulpinilor studiate în

dependență de sensibilitatea față de medicamentele antituberculoase. Printre tulpinile sensibile la medicamentele antituberculoase tulpinile genotipul Beijing și Ural sau constatat corespunzător în – 31,4 (n=687) și 14.6% (n=320). Dintre alte genotipuri printre tulpinile sensibile sau depistat genotipurile X (Lineage 4.1.1)- 0.6% (n=13), T1, H1 (Lineage 4.1.2)-11,4% (n=249), LAM (Lineage 4.2.2, (Lineage 4.2.2, 4.3.1, 4.3.3, 4.3.4) 514)4.3.1, 4.3.3, 4.3.4)- 18,6 (n=408) și genotipul T (Lineage 4.7, 4.9, 4.9) -23,5% (n=514).

Printre tulpinile rezistente la medicamentele tulpinile genotipul Beijing și Ural sau constatat corespunzător în – 45,8% (n=909) și 48.3% (n=958). Datele obținute sunt în concordanță cu datele obținute în alte studii din alte regiuni, în special din Europa de Est.

Pentru analiza genomică și reconstrucția filogeniei au fost analizate izolatele colectate în perioada 2018-2019. Au fost incluse pentru analiza genomică și reconstrucția filogeniei 2220 de participanți, care aveau minimum o tulpină pozitivă cu secvențierea genomului bacterian. Dintre aceștia la 17,4% (n=386) au fost identificate tulpini mixte și eliminate, rezultând un set de date final de 1834 participanți cu o singură tulpină *M.tuberculosis* izolată. Dintre aceștia, 55,3% (n=1014) izolate au constituit genotipului Ural (Lineage 4.2.1) și 43,8% (n=804) au constituit genotipului Beijing (Lineage 2/sublineage 2.2.1). Cartografierea a dezvăluit modele geografice distincte pentru cele trei clade majore MDR-TB: clada 1 cuprinzând 243 izolate Ural/lineajul 4.2.1 care au fost distribuite pe scară largă, în timp ce clada 2 și clada 3 care conțineau 102 și 121 tulpini Beijing/linie 2.2.1 au fost concentrate în Transnistria (UATSN). Majoritatea pacienților cu tulpini din aceste trei clade pacienți cu re-tratamente cu MDR-TB.

Cele trei clade mari au fost compuse aproape în întregime din izolate MDR (96%, 449 din 466). Mutațiile care conferă rezistență pentru Isoniazidă și Rifampicină au fost similare și au fost găsite în codonul katG 315 și în regiunea de determinare a rezistenței la Rifampicină de 81 bp (RRDR). Cu toate acestea, fiecare dintre aceste trei clade a avut mutații distinctive suplimentare de rezistență la medicamente: izolatele din clada 1 din tulpina Ural/linia 4 a găzduit o mutație a promotorului eis (-12 C>T) care conferea rezistență la kanamicină, o cladă din tulpina/linia 2 din Beijing a avut o ethA (110-110 del), asociat cu rezistența la etionamidă, în timp ce celălalt avea mutații thyX (-16 C>T) și thyA (Arg222Gly), asociate cu rezistența la acidul p-aminosalicilic. Am identificat, de asemenea, grupuri de izolate care adăpostesc mutații suplimentare rezistente la medicamente asociate cu medicamentele în schemele de tratament MDR recent recomandate, inclusiv lineozid (n=14), bedaquilina (n=1) și delamanid (n=9). Dintre cele 1834 izolate de *M. tuberculosis*, 1551 (85,6%) au format grupuri cu dimensiuni variind de la 2 la 105, iar 1000 (54,5%) au aparținut la 35 de grupuri mari cu cel puțin 10 participanți la pragul de grupare de 0,001 substituții/sit. Distanța mediană SNP în toate clusterurile de transmisie a fost de 14 SNP (IQR 10-18 SNP), cu distanța mediană SNP în cadrul clusterului variind între 0-26 SNP. Din 672 de izolate MDR-TB incluse în analiza finală, 619 (92,1%) făceau parte dintr-un cluster și 454 (67,6%) aparțineau unuia dintre cele 35 de grupuri mari de transmisie. Indivizii cu MDR-TB au avut mai multe șanse să se afle în grupuri mari decât indivizii cu boală pan-sensibilă. Opt dintre cele 14 izolate MDR plus rezistente la linezolid au fost membri ai grupurilor mari. Dintre cele nouă izolate MDR cu rezistență la delamanide, șapte au avut aceeași mutație de rezistență asociată delamanidelor, formând un singur sub-cluster cu o distanță medie SNP pe perechi de < 5 SNP, ceea ce sugerează transmiterea recentă a acestei tulpini de *M. tuberculosis* foarte rezistentă în Moldova. O examinare detaliată a celor 35 de grupuri mari de transmisie presupusă a relevat diferențe demografice și epidemiologice distincte între grupuri. Cel mai mare grup de transmisie (Cluster 1) a inclus 105 de participanți cu colorația sub-lineajul 4.2.1/Ural Clade 1 care se afla în întreaga țară. În schimb, următorul cel mai mare grup (Cluster 2) a inclus 102 participanți cu sub-

lineajul 2.2.1/Beijing Clade 2 care au fost depistați predominant în partea stângă a Nistrului. Șaisprezece dintre cele 35 de grupuri mari au fost compuse aproape în întregime din MDR-TB. În special, au existat diferențe demografice specifice grupurilor observate între grupurile de transmisie, cele mai mari două grupuri cuprinzând o proporție mare de deținuți anteriori și raportând condiții de viață nesatisfăcătoare.

În rezultatul evaluării a 1679 de rezultate paralele obținute prin metoda culturală convențională BACTEC MGIT 960 și metoda molecular genetică GenoType MTBDRplus sau înregistrat 1.3% discrepanțe la rezultatele sensibile pentru Rifampicină (12 rezultate din 941 tulpini sensibile) și 1.1% la rezultatele rezistente pentru Rifampicină (8 din 738 tulpini rezistente).

Cele mai elocvente rezultate au fost depistate la evaluarea rezultatelor paralele obținute prin metoda culturală convențională BACTEC MGIT 960 și metoda molecular genetică GenoType MTBDRs/. Au fost evaluate 1097 de rezultate paralele obținute prin aceste metode. Sau înregistrat 3.1% discrepanțe la rezultatele sensibile pentru Florochinolone (25 rezultate din 795 tulpini sensibile) și 8.3% la rezultatele rezistente pentru fluorochinolone (25 rezultate din 302 tulpini rezistente).

5. Impactul științific, social și/sau economic al rezultatelor științifice obținute

Cunoașterea genotipurilor asociate cu tuberculoza multidrogrezistență și distribuția geografică a acestora contribuie la înțelegerea mai profundă a epidemiologiei tuberculozei, în special a tuberculozei drogrezistente, la elaborarea și implementarea intervențiilor efective în controlul tuberculozei în regiunile cu povară înaltă, astfel ameliorând situația epidemiologică a tuberculozei. Evidențierea discrepanțelor dintre metodele fenotipice și genotipice de diagnosticare a M. tuberculosis și testarea rezistenței către preparatele antituberculoase vor contribui la optimizarea metodelor de diagnostic și testare.

6. Diseminarea rezultatelor obținute în subprogram în formă de publicații

Rezultatele obținute în cadrul subprogramului au fost diseminate în 2 publicații:

1. În reviste din bazele de date Web of Science și SCOPUS (IF-14.7) – 1.
2. În reviste din Registrul National al revistelor de profil - *Categoria B* – 1.

7. Diseminarea rezultatelor obținute în subprogram în formă de prezentări la foruri științifice.

8. Promovarea rezultatelor cercetărilor obținute în subprogram în mass-media: (opțional)

9. Colaborare la nivel național și internațional

1. Rutgers, The State University, New Jersey, SUA
2. Centrul de Cercetare Borstel, Germania
3. Institutul Aurum, Johannesburg, Africa de Sud
4. IP USMF “Nicolae Testemițanu”

10. Teze de doctorat / postdoctorat susținute și confirmate în anul 2024 de membrii echipei subprogramului

11. Dificultăți în realizarea subprogramului (financiare, organizatorice, legate de resursele umane etc.)

Dificultățile în realizarea subprogramului sunt legate de finanțarea insuficientă, inclusiv, salarizarea și număr de resurse umane foarte mic, care activează pe 0,25 salariu.

12. Concluzii

1. Genotipurile Beijing și Ural a *M. tuberculosis* predomină printre tulpinile rezistente la medicamentele antituberculoase, 45,8% (n=909) și 48.3% (n=958), respectiv. Printre tulpinile sensibile la medicamentele antituberculoase tulpinile genotipul Beijing și Ural sau constatat corespunzător în – 31,4 (n=687) și 14.6% (n=320).
2. Cartografierea genotipurilor a dezvăluit modele geografice distincte pentru cele trei clade majore ale tuberculozei drogrezistente (TB-MDR): clada 1 cu 243 izolate Ural/lineajul 4.2.1 care au fost distribuite pe scară largă, în timp ce clada 2 și clada 3 cu 102 și 121 tulpini Beijing/linie 2.2, care au fost concentrate în partea stângă a Nistrului.
3. Majoritatea pacienților cu genotipurile Beijing și Ural a *M. tuberculosis* sunt cu re-tratamente a TB-MDR.
4. Cele mai frecvente discrepanțe dintre metode fenotipice și genotipice s-a determinat la testarea rezistenței către fluoroquinolone (3,1% printre cazurile sensibile și 8,3% printre cazurile rezistente).

Coordonatorul subprogramului
de cercetare

Valeriu CRUDU
(numele, prenumele)

(semnătura)

Data: _____

Rezumatul activității și a rezultatelor obținute în subprogram în anul 2024**Evoluția, transmisia și controlul tuberculozei rezistente la medicamente****Codul subprogramului 120103**

Tuberculoza multidrogrezistentă și cu rezistență extinsă reprezintă o amenințare majoră la adresa sănătății publice, precum și o mare provocare pentru prevenția și controlul tuberculozei. În rezultatul evaluării secvențierii genomului *M.tuberculosis* la nivel național s-a determinat că genotipurile Beijing și Ural a *M. tuberculosis* predomină printre tulpinile rezistente la medicamentele antituberculoase.

Cartografierea genotipurilor a dezvăluit modele geografice distincte pentru cele trei clade majore ale tuberculozei drogrezistente (TB-MDR): clada 1, genotirpul Ural/lineajul 4.2.1, care au fost distribuite pe scară largă, în timp ce clada 2 și clada 3, genotipul Beijing/linie 2.2, au fost concentrate în partea stângă a Nistrului. Majoritatea pacienților cu genotipurile Beijing și Ural a *M. tuberculosis* sunt cu re-tratamente a TB-MDR. Datele obținute cu privire la studierea discrepanțelor dintre rezultatele testării sensibilității *M. tuberculosis* către medicamente prin metode fenotipice și genotipice au relatat, că cele mai frecvente discrepanțe dintre metode fenotipice și genotipice s-a determinat la testarea rezistenței către fluorochinolone (3,1% printre cazurile sensibile și 8,3% printre cazurile rezistente).

Cunoașterea genotipurilor asociate cu tuberculoza multidrogrezistentă și distribuția geografică a acestora contribuie la înțelegerea mai profundă a epidemiologiei tuberculozei, în special a tuberculozei drogrezistente, la elaborarea și implementarea intervențiilor efective în controlul tuberculozei în regiunile cu povară înaltă, astfel ameliorând situația epidemiologică a tuberculozei. Evidențierea discrepanțelor dintre metodele fenotipice și genotipice de diagnosticare a *M. tuberculosis* și testarea rezistenței către preparatele antituberculoase vor contribui la optimizarea metodelor de diagnostic și testare.

Summary of activity and results obtained in the subprogram in 2024

Evolution, transmission, and control of drug-resistant tuberculosis

Subprogram code 120103

Multidrug-resistant and extended tuberculosis is a major threat to public health, as well as a great challenge for prevention and control of tuberculosis. As a result of the assessment of the *M. tuberculosis* genome sequence at national level, it has been determined that the Beijing and Ural genotype of *M. Tuberculosis* predominates among the anti-tuberculosis drugs. Genotype mapping revealed distinct geographic patterns for the three major clades of drug-resistant tuberculosis (MDR-TB): clade 1, Ural genotype/lineage 4.2.1, was widely distributed, while clade 2 and clade 3, Beijing genotype/lineage 2.2, were concentrated on the left bank of the Dniester River. The majority of patients with the Beijing and Ural genotypes of *M. tuberculosis* are re-treated for MDR-TB. The data obtained from the study of discrepancies between the results of *M. tuberculosis* drug susceptibility testing by phenotypic and genotypic methods reported that the most frequent discrepancies between phenotypic and genotypic methods were determined in the testing of resistance to fluoroquinolones (3.1% among susceptible cases and 8.3% among resistant cases). Knowledge of the genotypes associated with multidrug-resistant tuberculosis and their geographical distribution contributes to a deeper understanding of the epidemiology of tuberculosis, especially drug-resistant tuberculosis, to the development and implementation of effective interventions in tuberculosis control in high-burden regions, thus improving the epidemiological situation of tuberculosis. Highlighting the discrepancies between phenotypic and genotypic methods of diagnosing *M. tuberculosis* and testing for resistance to antituberculosis drugs will contribute to the optimization of diagnostic and testing methods.

Coordonatorul subprogramului
de cercetare

Valeriu CRUDU

(semnătura)

Data: _____

**Lista lucrărilor științifice, științifico-metodice și didactice
publicate în anul 2024 în cadrul subprogramului de cercetare**

Evoluția, transmisia și controlul tuberculozei rezistente la medicamente

(denumirea subprogramului)

Codul subprogramului 120103

4. Articole în reviste științifice

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

1. Chitwood MH, Colijn C, Yang C, Crudu V, Ciobanu N, Codreanu A, Kim J, Rancu I, Rhee K, Cohen T, Sobkowiak B. The recent rapid expansion of multidrug resistant Ural lineage Mycobacterium tuberculosis in Moldova. Nat Commun. 2024 Apr 5;15(1):2962. doi: 10.1038/s41467-024-47282-9 (IF-14.7).

4.3. în reviste din Registrul National al revistelor de profil

Categoria B

1. Nelly Ciobanu. Discrepanțe dintre rezultatele testării sensibilității *M.tuberculosis* prin metode fenotipice și genotipice. Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științe Medicale. Chișinău, 2024, 2(79), p. 37-41.

**Lista lucrărilor științifice, științifico-metodice și didactice
publicate în anul 2024 de către cercetătorii din cadrul subprogramului de cercetare**

Evoluția, transmisia și controlul tuberculozei rezistente la medicamente

(denumirea subprogramului)

Codul subprogramului 120103

1. Articole în reviste științifice

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

1. James LP, Klaassen F, Sweeney S, Furin J, Franke MF, Yaesoubi R, Chesov D, Ciobanu N, Codreanu A, Crudu V, Cohen T, Menzies NA. Impact and cost-effectiveness of the 6-month BPALM regimen for rifampicin-resistant tuberculosis in Moldova: A mathematical modeling analysis. PLoS Med. 2024 May 3;21(5):e1004401. doi: 10.1371/journal.pmed.1004401 (IF-10.5).
2. Dahl VN, Butova T, Rosenthal A, Grinev A, Gabrielian A, Vashakidze S, Shubladze N, Toxanbayeva B, Chingissova L, Crudu V, Chesov D, Kalmambetova G, Saparova G, Wejse CM, Butov D; Ukraine TB-Portal Study Group. Drug-Resistant Tuberculosis, Georgia, Kazakhstan, Kyrgyzstan, Moldova, and Ukraine, 2017-2022. Emerg Infect Dis. 2024 Apr;30(4):831-833. doi: 10.3201/eid3004.231732 (IF-7.2).
3. de Vos M, David A, Duraisamy K, Nadarajan D, Noroc E, Penn-Nicholson A, Crudu V, Giri S, Maurer FP, Pati S, Stevens W, Scott L, Turuk J, Schumacher SG, Ruhwald M; Study Group. Accuracy of cobas MTB and MTB-RIF/INH for Detection of Mycobacterium tuberculosis and

- Drug Resistance. *J Mol Diagn.* 2024 Aug;26(8):708-718. doi: 10.1016/j.jmoldx.2024.05.004 **(IF-3.4)**.
4. Panda S, Morgan J, Cheng C, Saito M, Gilman RH, Ciobanu N, Crudu V, Catanzaro DG, Catanzaro A, Rodwell T, Perera JSB, Chathuranga T, Gunasena B, DeSilva AD, Peters B, Sette A, Lindestam Arlehamn CS. Identification of differentially recognized T cell epitopes in the spectrum of tuberculosis infection. *Nat Commun.* 2024 Jan 26;15(1):765. doi: 10.1038/s41467-024-45058-9 **(IF-14.7)**.
 5. Lan Y, Crudu V, Ciobanu N, Codreanu A, Chitwood MH, Sobkowiak B, Warren JL, Cohen T. Identifying local foci of tuberculosis transmission in Moldova using a spatial multinomial logistic regression model. *EBioMedicine.* 2024 Apr;102:105085. doi: 10.1016/j.ebiom.2024.105085 **(IF-9.7)**.

4.2. Pre-print

1. Benjamin Sobkowiak, Patrick Cudahy, Melanie H. Chitwood, Taane G. Clark, Caroline Colijn, Louis Grandjean, Katharine S. Walter, Valeriu Crudu, Ted Cohen. A new method for detecting mixed *Mycobacterium tuberculosis* infection and reconstructing constituent strains provides insights into transmission. bioRxiv doi: <https://doi.org/10.1101/2024.04.26.591283>

Coordonatorul subprogramului
de cercetare

Valeriu CRUDU

(semnătura)

Data: _____

Componența echipei de cercetare

Codul subprogramului 120103

Echipa subprogramului pentru 2024							
Nr	Nume, prenume	Anul nașterii	Titlul științific	Funcția	Norma de muncă	Data angajării	Data eliberării*
1.	Crudu Valeriu	1957	dr.st.med. conf. cercetător	șef laborator	0,25	15.04.1997	
2.	Codreanu Alexandru	1984		cercetător științific stagiar	0,25	10.05.2017	
3.	Țurcan Nadejda	1986		cercetător științific stagiar	0,25	11.07.2011	
4.	Ciobanu Nelly	1988		cercetător științific stagiar	0,25	01.08.2016	

Pondere tinerilor (%) din numărul total al executorilor	75%
---	-----

Directorul instituției

Doina RUSU

(semnătura)Coordonatorul subprogramului
de cercetare

Valeriu CRUDU

(semnătura)

Data: _____