



Záverečná karta projektu

Názov projektu

Evidenčné číslo projektu

APVV-18-0084

Rezistencia na antituberkulotiká – nové možnosti jej detekcie a terapeutického manažmentu

Zodpovedný riešiteľ **prof. MUDr. Juraj Mokrá, PhD.**

Príjemca

Univerzita Komenského v Bratislave - Jesseniova lekárska fakulta v Martine

Názov pracoviska, na ktorom bol projekt riešený

Ústav farmakológie, Jesseniova lekárska fakulta v Martine, Univerzita Komenského v Bratislave
(v spolupráci s Národným ústavom tuberkulózy, pľúcnych chorôb a hrudníkovej chirurgie, Vyšné Hágy)

Názov a štát zahraničného pracoviska, ktoré spolupracovalo pri riešení

1. NRL pro mykobakterie, Státní zdravotní ústav, Praha, Česká republika
2. National reference laboratory for mycobacteria, Statens Serum Institute, Kodaň, Dánsko
3. Emerging Bacterial Pathogens, TB Supranational Reference Laboratory, IRCCS San Raffaele Scientific Institute, Miláno, Taliansko

Udelené patenty/podané patentové prihlášky, vynálezy alebo úžitkové vzory, ktoré sú výsledkami projektu

-

Najvýznamnejšie publikácie (knihy, články, prednášky, správy a pod.) zhrňujúce výsledky projektu – uveďte aj publikácie prijaté do tlače

K najvýznamnejším publikáciám patria nasledovné články publikované v časopisoch registrovaných v Current Contents/Scopus databázach:

1. Dohál, Matúš; Porvazník, Igor; Krivošová, Michaela; Solovič, Ivan; Mokrá, Juraj: Epidemiology of non-tuberculous mycobacterial diseases in Slovakia during the years 2016–2021. Respiratory Physiology and Neurobiology Vol. 314 August 2023 Article number 104090. ISSN 15699048 DOI 10.1016/j.resp.2023.104090 Online: <https://doi.org/10.1016/j.resp.2023.104090>
2. Pršo, Kristián; Žideková, Nela; Porvazník, Igor; Solovič, Ivan; Mokrá, Juraj; Kertys, Martin: A high-throughput LC-MS/MS method for simultaneous determination of isoniazid, ethambutol and pyrazinamide in human plasma Rapid Communications in Mass Spectrometry [elektronický dokument]. - Roč. 37, č. 2 (2023), s. [1-8], art. no. e9425 [print] Online: <https://analyticalsciencejournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1002/rcm.9425>
3. Dohál, Matúš, Dvořáková, Věra, Šperková, Miluše, Pinková, Martina, Spitaleri, Andrea, Norman, Anders, Cabibbe, Andrea Maurizio, Rasmussen, Erik Michael, Porvazník, Igor, Škereňová, Mária, Solovič, Ivan, Cirillo, Daniela Maria, Mokrá, Juraj: Whole genome sequencing of multidrug-resistant Mycobacterium tuberculosis isolates collected in the

Czech Republic, 2005-2020

Scientific Reports - Roč. 12, č. 1 (2022), s. [1-10] [online] Online:

<https://www.nature.com/articles/s41598-022-11287-5.pdf>

4. Dohál, Matúš , Dvořáková, Věra , Šperková, Miluše , Porvazník, Igor , Cabibbe, Andrea Maurizio , Trovato Alberto , Spitaleri, Andrea , Rasmussen, Erik Michael , Pršo Kristián , Škereňová, Mária , Solovič, Ivan , Mokřý, Juraj: Anti-tuberculosis drug resistance in Slovakia, 2018-2019: The first whole-genome epidemiological study.

Journal of Clinical Tuberculosis and Other Mycobacterial Diseases - č. 26 (2022), s. [1-7], art. no. 100292 [online] Online: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35005254/>

5. Dohál, Matúš , Porvazník, Igor , Solovič, Ivan , Mokřý, Juraj: Whole Genome Sequencing in the Management of Non-Tuberculous Mycobacterial Infections. In: Microorganisms [elektronický dokument]. - Roč. 9, č. 11 (2021), s. [1-15], art. no. 2237 Online: <https://www.mdpi.com/2076-2607/9/11/2237>

6. Dohal Matus, Igor Porvazník, Kristian Prso, Erik Michael Rasmussen, Ivan Solovic Juraj Mokřý. Whole-genome sequencing and Mycobacterium tuberculosis: Challenges in sample preparation and sequencing data analysis. Tuberculosis. Roč. 123 (2020), s. [1-7], art. no. 101946 [print] DOI: 10.1016/j.tube.2020.101946 Online: <https://doi.org/10.1016/j.tube.2020.101946>

7. Mokřý J, Porvazník I, Kušnir P, Dohál M, Solovič I. Detection of resistance to anti-tuberculosis drugs in the clinical isolates of Mycobacterium tuberculosis from Slovakia through comparison between phenotypic and genetic methods and evaluation of resistance levels with clinical parameters. Journal of Physiology and Pharmacology [elektronický dokument]. - Roč. 70, č. 1 (2019), s. 105-114. Online:

https://www.jpp.krakow.pl/journal/archive/02_19/pdf/10.26402/jpp.2019.1.10.pdf

Výsledky riešenia projektu sú kľúčovou súčasťou dvoch dizertačných prác:

Mgr. Matúš Dohál: Prínos celogenómového sekvenovania k detekcii rezistencie Mycobacterium tuberculosis na antituberkulotiká, školiteľ: prof. MUDr. Juraj Mokřý, PhD. (2018-2022) – úspešne obhájené v máji 2022.

Mgr. Kristián Pršo: Význam monitorovania plazmatických koncentrácií prvolíniových antituberkulotík v liečbe tuberkulózy, školiteľ: prof. MUDr. Juraj Mokřý, PhD. (2019-2023) – práca odovzdaná a obhajoba plánovaná na 23. augusta 2023

Uplatnenie výsledkov projektu

Výsledky projektu preukázali obrovský potenciál celogenómového sekvenovania v manažmente liečby a prenosu tuberkulózy. Využitie tejto metódy spolu so zaradením vyvinutej metódy merania plazmatických koncentrácií antituberkulotík môže významne prispieť k individualizácii a personalizácii liečby pacientov s tuberkulózou. Výsledky celogenómového sekvenovania majú obrovský význam v získavaní epidemiologických dát, najmä s ohľadom na šírenie rezistentných foriem tuberkulózy, ako aj v diagnostike, ktorá sa touto metódou významne skracuje a spresňuje.

Súhrn výsledkov riešenia projektu a naplnenia cieľov projektu v slovenskom jazyku (max. 20 riadkov)

Po piatich rokoch riešenia projektu sme naplnili všetky vopred vytýčené ciele. Analyzovali sme epidemiologickú situáciu tuberkulózných a netuberkulózných mykobaktérií počas trvania riešenia projektu, spolu s prevalenciou špecifických kmeňov Mycobacterium tuberculosis rezistentných na všetky dostupné antituberkulotiká. V našom laboratóriu sme aplikovali súbor metodík, od izolácie DNA až po prípravu sekvenačných knižnič. Osekvenovali sme viac ako 300 izolátov a na základe získaných výsledkov sme rozšírili spektrum doposiaľ opísaných mutácií kódujúcich rezistenciu. O relevantnosti týchto výsledkov svedčí fakt, že tieto mutácie budú zahrnuté v katalógu mutácií publikovanom WHO, ktorý slúži klinickým pracovníkom pri posudzovaní správnosti nastavenej liečby. Sekvenačné dáta boli spracované aj za účelom molekulárnej epidemiológie tuberkulózy na Slovensku a v Českej republike. Táto analýza nám umožnila lokalizovať ohniská nákazy multi-rezistentnej tuberkulózy a prijať vhodné opatrenia v záujme zabránenia jej ďalšieho šírenia. Okrem toho sme potvrdili, že príčinou rozvinutej mono- a polyrezistentnej tuberkulózy je nesprávne nastavený liečebný režim, resp. nedostatočná adherencia pacientov. Vyvinuli sme a zvalidovali novú analytickú metódu na simultánnu analýzu plazmatických koncentrácií troch kľúčových prvolíniových antituberkulotík. O dôležitosti tejto

analytickej metódy svedčí fakt, že v mnohých vzorkách boli namerané nedostatočné koncentrácie, čo vedie k nutnosti zvýšiť podávané dávky k dosiahnutiu želaného terapeutického efektu. V rámci vyšetrovania biologických markerov indikujúcich priebeh ochorenia sme stanovili hladiny 48 vybraných cytokínov/chemokínov a viac ako 180 metabolitov. Výsledky imunocytochemickej a metabolomickej analýzy preukázali potenciál niektorých markerov v určovaní závažnosti ochorenia a účinnosti liečby.

Súhrn výsledkov riešenia projektu a naplnenia cieľov projektu v anglickom jazyku (max. 20 riadkov)

After five years of solving the project, we have fulfilled all the previously set goals. We analyzed the epidemiological situation of tuberculous and non-tuberculous mycobacteria during the duration of the project and the prevalence of specific drug-resistant strains of *Mycobacterium tuberculosis*. In our laboratory, we applied a set of methodologies, from DNA extraction to the preparation of sequencing libraries. We sequenced more than 300 isolates, and the obtained results expanded the spectrum of already described mutations encoding for resistance. The relevance of these results is confirmed by the fact that these mutations will be included in the mutation catalogue published by the WHO, which serves clinical workers in evaluating the accuracy of the prescribed treatment. We analysed the sequencing data and conducted molecular epidemiology investigations of tuberculosis in Slovakia and the Czech Republic. This analysis enabled us to identify multi-resistant tuberculosis outbreaks and implement necessary measures to curb its ongoing dissemination. Furthermore, we have verified that the emergence of mono- and polyresistant tuberculosis is attributed to either an improperly prescribed treatment regimen or inadequate patient adherence. We developed and validated a new analytical method for the simultaneous analysis of plasma concentrations of three first-line antituberculosis drugs. The significance of this analytical approach is underscored by the detection of suboptimal concentrations in numerous samples, necessitating an increase in administered doses to attain the desired therapeutic outcome. As part of investigating biological markers indicative of the disease's progression, we analyzed the levels of 48 selected cytokines/chemokines and more than 180 metabolites. The results from both immunocytochemical and metabolomic analyses demonstrated the potential of certain markers in gauging disease severity and treatment efficacy.